

FERNANDA CALVO FORTES

**BIOMARCADORES IMUNOLÓGICOS DO ENVELHECIMENTO
SAUDÁVEL EM IDOSOS DE BELO HORIZONTE**

Universidade Federal de Minas Gerais

Belo Horizonte – Minas Gerais

2020

FERNANDA CALVO FORTES

**BIOMARCADORES IMUNOLÓGICOS DO ENVELHECIMENTO
SAUDÁVEL EM IDOSOS DE BELO HORIZONTE**

Dissertação apresentada ao Curso Pós-graduação em Nutrição e Saúde da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito à obtenção do título de Mestre em Nutrição e Saúde.

Linha de Pesquisa: Nutrição Clínica e Experimental

Orientadora: Prof. Dra. Ana Maria Caetano de Faria

Coorientadora: Dra. Marina Andrade Batista

Universidade Federal de Minas Gerais

Belo Horizonte – Minas Gerais

2020

F738b Fortes, Fernanda Calvo.
Biomarcadores Imunológicos do envelhecimento saudável em idosos de Belo Horizonte [manuscrito]. / Fernanda Calvo Fortes. - - Belo Horizonte: 2020.
105f.: il.
Orientador (a): Ana Maria Caetano de Faria.
Coorientador (a): Marina Andrade Batista.
Área de concentração: Nutrição e Saúde.
Dissertação (mestrado): Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Enfermagem.

1. Envelhecimento Saudável. 2. Senilidade Prematura. 3. Citocinas. 4. Biomarcadores. 5. Dissertação Acadêmica. I. Faria, Ana Maria Caetano de. II. Batista, Marina Andrade. III. Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Enfermagem. IV. Título.

NLM: WT 104

ATA DE NÚMERO 62 (SESSENTA E DOIS) DA SESSÃO DE ARGUIÇÃO E DEFESA DA DISSERTAÇÃO APRESENTADA PELA CANDIDATA FERNANDA CALVO FORTES PARA OBTENÇÃO DO TÍTULO DE MESTRE EM NUTRIÇÃO E SAÚDE.

Aos 17 (dezesete) dias do mês de dezembro de dois mil e vinte, às 14:00 horas, realizou-se por meio de videoconferência, a sessão pública para apresentação e defesa da dissertação **"BIOMARCADORES IMUNOLÓGICOS DO ENVELHECIMENTO SAUDÁVEL EM IDOSOS DE BELO HORIZONTE"**, da aluna **Fernanda Calvo Fortes**, candidata ao título de "Mestre em Nutrição e Saúde", linha de pesquisa "Nutrição Clínica e Experimental". A Comissão Examinadora foi constituída pelos professores doutores Ana Maria Caetano de Faria, Moisés Evandro Bauer e Rodrigo Ribeiro dos Santos, sob a presidência da primeira. Abrindo a sessão, a Senhora Presidente da Comissão, após dar conhecimento aos presentes do teor das Normas Regulamentares do Trabalho Final, passou a palavra à candidata para apresentação de seu trabalho. Seguiu-se a arguição pelos examinadores com a respectiva defesa da candidata. Logo após, a Comissão se reuniu sem a presença da candidata, para julgamento e expedição do seguinte resultado final:

(X) APROVADO;

() APROVADO COM AS MODIFICAÇÕES CONTIDAS NA FOLHA EM ANEXO;

() REPROVADO.

O resultado final foi comunicado à candidata pela Senhora Presidente da Comissão. Nada mais havendo a tratar, eu, Ana Maria Caetano de Faria, Presidente da Comissão Examinadora, lavrei a presente Ata, que depois de lida e aprovada será assinada por mim e pelos membros da Comissão Examinadora. Belo Horizonte, 17 de dezembro de 2020.

Prof^ª. Dr^ª. Ana Maria Caetano de Faria
Presidente (UFMG)



Prof. Dr. Moisés Evandro Bauer
(PUC-RS)



Prof. Dr. Rodrigo Ribeiro dos Santos
(UFMG)



Este trabalho é vinculado ao grupo de pesquisa
Imunobiologia do Envelhecimento da
Universidade Federal de Minas Gerais.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus, pela saúde e coragem de enfrentar todos os desafios que me foram impostos e por colocar as pessoas certas no meu caminho, pelas quais sou eternamente grata.

À minha orientadora Dra. Ana Maria Caetano de Faria, a quem admiro muito e tenho um grande carinho. Obrigada Ana, por me mostrar que tudo é possível. Sou muito grata a você, por todos os ensinamentos, oportunidades e confiança. É um privilégio te ter por perto, me ensinando a cada dia.

Ao Dr. Rodrigo Santos, por todo auxílio neste período. Obrigada por me estender a mão e por todos os ensinamentos.

À minha mãe, Claudia, que vivenciou todos os meus medos e ansiedades. Obrigada mãe, por compreender a minha falta de tempo neste período. Te dedico essa conquista e todo carinho e amor.

Ao meu pai, Marco Antônio, que mesmo mais distante está sempre presente e aos meus queridos avós, por me incentivarem sempre a estudar. Obrigada por entenderem as minhas ausências neste período. Por vocês tenho todo o meu coração.

Ao meu namorado Rafael, a quem tem todo o meu amor. Sem seu apoio e companheirismo nada disso teria acontecido. Te dedico toda essa conquista, Rafa. Você me ensina a cada dia. Muito obrigada pela paciência e por ser a minha luz nos meus momentos mais obscuros. Sem dúvida, você deixa meus dias mais leves e felizes.

Aos meus queridos amigos e irmãos, que sem a compreensão de vocês, tudo teria sido mais difícil.

Ao meu professor, amigo e primo Alexandre. Obrigada Xandi, por entender minhas angústias e por ser meu ombro amigo.

À minha grande amiga Flávia Horta, obrigada por sempre estar disponível para meus desabafos, e por toda força nos meus momentos de medo e fraqueza.

Aos meus queridos amigos e parceiros de equipe Lucas Haniel e Giovanna Caliman. Obrigada pela força, pela dedicação nas coletas e por me escutarem nos meus momentos mais difíceis. Vocês foram muito importantes nesta trajetória. Dedico a vocês toda essa conquista.

À Gabriela Silveira Nunes, por todo auxílio em estatística e por me guiar nesta jornada. Sou muito grata a você, Gabi.

Aos meus colegas do LIB, em especial, aqueles que contribuíram diretamente para este trabalho, Marcos Oliveira, Ana Carolina Ballonas, Felipe Caixeta e Juliana Lima. Muito obrigada por todas as ideias e ensinamentos.

À equipe do centro de Pesquisas René Rachou/ Fiocruz, em especial, Elaine Speziali, Andrea Teixeira e Ismael. Obrigada por me ensinarem tanto a prática como pesquisadora. A vocês tenho todo o meu carinho, respeito e uma imensa gratidão.

À minha co-orientadora Marina, obrigada pelo apoio e por acreditar em mim.

Aos meus professores do Departamento de Pós-Graduação em Nutrição e Saúde, por contribuírem no meu crescimento pessoal e profissional.

Por fim, e não menos importante, a todos aqueles que não mencionei os nomes, mas que foram extremamente importantes para a minha trajetória e, carinhosamente, agradeço aos idosos voluntários desse projeto, no qual contribuíram imensamente para este estudo.

*“Agradeço todas as dificuldades que enfrentei;
não fosse por elas, eu não teria saído do lugar.
As facilidades nos impedem de caminhar”.*

Chico Xavier

RESUMO

CALVO-FORTES, F. **Biomarcadores imunológicos do envelhecimento saudável em idosos de Belo Horizonte**. 2020. 105 p. Dissertação [Mestrado em Nutrição e Saúde] - Escola de Enfermagem, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2020.

O número de indivíduos com mais de 80 anos está crescendo em todo mundo. O processo de envelhecimento em geral é acompanhado de redução da capacidade física e de comprometimento cognitivo. A imunossenescência descreve um fenômeno que acompanha o envelhecimento e é marcado por grandes mudanças no sistema imune que resultam em respostas imunes e vacinais deficientes. Esse processo também é marcado por um estado de inflamação crônica e estéril de baixa intensidade denominado *inflammaging*, caracterizado por níveis aumentados de citocinas pró-inflamatórias, que geralmente está associado a um maior risco de fragilidade e morbidade nos idosos, prejudicando sua autonomia e qualidade de vida. Contudo, mesmo com a presença crônica de mediadores inflamatórios, alguns idosos escapam da fragilidade, como descrito em centenários e idosos saudáveis, sugerindo que várias funções imunológicas podem ser remodeladas e compensadas por outros fatores reguladores. Considerando a importância dos estudos sobre o envelhecimento saudável na população brasileira, neste trabalho, estudamos o perfil de citocinas e quimiocinas no plasma como biomarcadores imunológicos do envelhecimento saudável de idosos ≥ 80 anos residentes em Belo Horizonte, bem como os parâmetros cognitivos e funcionais, que se relacionam com o grau de dependência do idoso. Nossos dados sugerem que há mudanças mensuráveis nos níveis de biomarcadores imunológicos relacionados ao processo de remodelamento do sistema imune, como por exemplo G-CSF, MIP-1 α , IFN- γ , IL-10, MCP-1, IL-15, dentre outros. Foi também avaliado correlação positiva e negativa entre as citocinas e quimiocinas presentes (Gráfico de correlação de Spearman), bem como uma avaliação geral do perfil global das citocinas (Gráfico em radar). Nessas três análises sugerimos que a longevidade e o envelhecimento saudável se relacionam a um equilíbrio entre a produção sistêmica de citocinas inflamatórias e reguladoras. Essas características foram particularmente relevantes no grupo dos centenários. Nessa perspectiva, identificar precocemente o risco de fragilidade, pela combinação de biomarcadores imunológicos e clínicos, pode auxiliar em medidas preventivas de redução da fragilidade nas suas fases iniciais, promovendo a saúde (funções físicas, cognitivas e mentais mais preservadas) e um envelhecimento mais ativo e autônomo. Ainda é fundamental estabelecer um critério padronizado na identificação da fragilidade e mais estudos são necessários para confirmar os resultados deste trabalho, bem

como estabelecer de forma mais consistente, os biomarcadores imunológicos do envelhecimento saudável e da fragilidade na população brasileira.

Palavras chave: envelhecimento saudável, *inflammaging*, citocinas, remodelamento

ABSTRACT

CALVO-FORTES, F. **Immunological biomarkers of healthy ageing in the elderly population of Belo Horizonte**. 2020. 105 p. Dissertação [Mestrado em Nutrição e Saúde] - Escola de Enfermagem, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2020.

The number of individuals over 80 years of age is growing worldwide. The process of aging is usually associated with an increase in physical incapacity and cognitive impairment. Immunosenescence describes a phenomenon of several immunological changes associated with aging that result in deficiencies in immune responses. It is also accompanied by a state of low-grade chronic sterile inflammation named inflammaging that is characterized by augmented levels of pro-inflammatory cytokines in aged people and is usually associated to increased risk of fragility and morbidity in the elderly with reduction of their quality of life. However, even with the presence of pro-inflammatory mediators, some aged individuals escape fragility and become healthy centenarians suggesting that several immunological functions can be remodeled and compensated by regulatory factors and mediators. Considering the importance of studies on healthy aging in Brazilian populations, we analyzed the plasma cytokine/chemokine profile as immune biomarkers of healthy aging in individuals over 80 years of age who live in Belo Horizonte as well as cognitive and functional parameters related to the degree of dependency in the elderly. Our data suggests that there are measurable changes in the levels of immune biomarkers related to the immune remodeling process such as G-CSF, MIP-1 α , IFN- γ , IL-10, MCP-1, IL-15, among others. A positive and negative correlation between the cytokines and chemokines present (Spearman's correlation) was also evaluated, as well as a general assessment of the global cytokine profile (Radar Chart). In these three analyzes we suggest that longevity and aging are related to a balance between the systemic production of inflammatory and regulatory cytokines. These features were particularly relevant in the group of centenarians. The detection of early the risk of fragility through a combination of clinical features and immune biomarkers would help in the design of preventive measures to reduce fragility in its early stages promoting health (physical, cognitive and mental functions) and autonomy. It is still essential to establish a standardized criterion in the identification of fragility and further studies will be necessary to strengthen these results, as well as to fully establish immune biomarkers of healthy aging and fragility in the Brazilian population.

Key words: healthy aging, *inflammaging*, cytokines, remodeling

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AVDs	Atividades de vida diárias
°C	Grau Celsius
CC	Circunferência da cintura
CCL	do inglês, Ligante de quimiocina CC
CIF	Classificação Internacional de Funcionalidade
CMV	Citomegalovírus
CPqRR	Centro de Pesquisas René Rachou
DAMPs	do inglês, padrões moleculares associados a danos
DANTs	Doenças e agravos não transmissíveis
DEXA	Densitometria por dupla emissão de raios X
DNA	do inglês, Ácido desoxirribonucleico
DP	Desvio padrão
DSM-5	Manual de Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais. 5
FGF-b	do inglês, Fator de crescimento de fibroblasto básico
G-CSF	do inglês, Fator estimulador de colônia de granulócitos
GM-CSF	do inglês, Fator estimulador de colônias de macrófagos e
HIV	do inglês, Vírus da imunodeficiência humana
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IMC	Índice de massa corporal
IL	Interleucina
IFN	Interferon
MCP-1	do inglês, Proteína quimioatraente de monócitos 1
MIP	do inglês, Proteína inflamatória de macrófagos
mL	Mililitro
µL	Microlitro
MMII	Membros inferiores
MMSE	do inglês, mini exame do estado mental
NK	Natural Killers
kg/m ²	Quilograma por metro quadrado

OMS	Organização Mundial de Saúde
pg/mL	Picogramas (10^{-9} grama) por mililitro
PDGF	do inglês, Fator de crescimento derivado de plaquetas
PRRs	do inglês, Receptores de reconhecimento de padrões
RPM	Rotação por minuto
TCLE	Termo de Consetimento Livre e Esclarecido
TCR	do inglês, Receptor de células T
TEMRA	do inglês, células T de memória efetora que reexpressam
Th	do inglês, Células T auxiliares
TNF	do inglês, Fator de Necrose Tumoral
Treg	Células T regulatórias
SASP	do inglês, fenótipo secretor associado à senescência
SENIEUR	do inglês, Seniur European
SPPB	do inglês, Bateria de desempenho físico curto
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
x g	Aceleração da gravidade (giros por minuto)

LISTA DE FIGURAS

Figura 1:	Distribuição da população global por faixas etárias (em percentual) entre os anos 1950 e 2050	18
Figura 2:	Perspectiva da população brasileira por faixa etária entre os anos de 1950 e 2050.....	19
Figura 3:	Escala visual de fragilidade, baseado em categorias de saúde e do processo de fragilização do idoso de acordo com a sua capacidade funcional - graus de dependência e perda da autonomia.....	39
Figura 4:	Comparação da idade em diferentes faixas etárias em relação ao fenótipo de fragilidade e classificação clínico-funcional.....	48
Figura 5:	Níveis de citocinas plasmáticas (em pg/mL) comparados com cada faixa etária (em anos).....	51
Figura 6:	Comparação do níveis plasmáticos de IL-5 (pg/mL) segundo classificação clínico-funcional.....	51
Figura 7:	Comparação dos níveis plasmáticos de citocinas/quimiocinas (pg/mL) em indivíduos com diferentes fenótipos de fragilidade	53
Figura 8:	Gráfico de correlação de Spearman por faixa etária.....	56
Figura 9:	Gráfico de correlação de Spearman segundo fenótipo de fragilidade.....	57
Figura 10:	Gráfico de correlação de Spearman segundo classificação clínico-funcional.....	58
Figura 11:	Perfil global de citocinas/quimiocinas nos idosos acima de 80 anos de Belo Horizonte, segundo fenótipo de fragilidade	60
Figura 12:	Perfil global de citocinas/quimiocinas nos idosos acima de 80 anos de Belo Horizonte, segundo a classificação clínico-funcional.....	61
Figura 13:	Comparação dos níveis de citocinas/quimiocinas (pg/mL) em relação aos idosos classificados como robustos sem sarcopenia e com sarcopenia provável.....	62

LISTA DE TABELAS

Tabela 1:	Fenótipo de fragilidade de acordo com Fried e colaboradores (2001)	38
Tabela 2:	Classificação clínico funcional do idoso, segundo Moraes e colaboradores (2016).....	40
Tabela 3:	Caracterização demográfica, socioeconômica e de saúde idosos acima de 80 anos atendidos no ambulatório de envelhecimento saudável do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais (HC/UFGM) nos anos de 2018 e 2019.....	46
Tabela 4:	Estratificação dos idosos acima de 80 anos atendidos no ambulatório de envelhecimento saudável do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais (HC/UFGM) nos anos de 2018 e 2019, segundo critérios do fenótipo de fragilidade e da classificação clínico-funcional....	47
Tabela 5:	Parâmetros hematológicos na amostra de idosos categorizados segundo Fenótipo de Fragilidade nos anos de 2018 e 2019 em Belo Horizonte/MG	49
Tabela 6:	Parâmetros hematológicos na amostra de idosos categorizados segundo classificação clínico-funcional, nos anos de 2018 e 2019 em Belo Horizonte/MG	50

SUMÁRIO

1. Introdução	17
2. Revisão de literatura	18
2.1 Envelhecimento populacional no Brasil e no mundo: aspectos epidemiológicos.....	18
2.2 Envelhecimento e sistema imune	21
2.2.1 Senescência celular e fenótipo SASP	24
2.2.2 <i>Inflammaging</i> e remodelamento	25
2.3 Envelhecimento saudável	27
3. Justificativa	32
4. Objetivos	33
4.1 Objetivo geral.....	33
4.2 Objetivos específicos.....	33
5. Metodologia	34
5.1 Participantes e desenho do estudo	34
5.2 Coleta das amostras	35
5.3 Medidas do estado de saúde e funcionalidade	35
5.3.1 Avaliação geriátrica	35
5.3.2 Critérios de funcionalidade utilizados	37
5.4 Dosagem de biomarcadores circulantes no plasma (citocinas e quimiocinas)	42
6. Análise estatística e análise de dados	43
6.1 Análise estatística	43
6.2 Gráfico em radar	44
6.3 Análise de correlação por bioinformática	44
7. Resultados.....	45
7.1 Característica da amostra	45
7.2 Medidas de funcionalidade descritas por Fried e Moraes	47
7.3 Relação entre os critérios de funcionalidade, biomarcadores plasmáticos e hemograma	48
8. Discussão.....	63
9. Conclusão	73
10. Financiamento	73
11. Referências.....	74
12. Anexos.....	96

1. Introdução

O grande aumento do número de idosos ocorre mundialmente^{1,2}. A rápida transição demográfica acontece principalmente em países menos desenvolvidos, como no caso do Brasil, que vivencia um dos maiores envelhecimentos demográficos do mundo e com grandes desigualdades sociais^{3,4}. Essa mudança está fortemente ligada ao crescimento das doenças crônicas não transmissíveis (DNTs) e a fragilidade, contribuindo para o aumento da dependência e um envelhecimento menos ativo, com grande custo para saúde individual e para os sistemas de saúde pública⁵⁻⁷.

A imunosenescência descreve um fenômeno de grandes mudanças no sistema imunológico associadas à idade, que implicam em deficiências das respostas imunológicas. Este evento também é marcado por um processo denominado *inflammaging* (isto é, um estado de inflamação crônica e estéril de baixo grau), que reflete um nível aumentado de citocinas pró-inflamatórias em idosos e geralmente está associado a um maior risco de fragilidade e morbidade, no qual a perda da autonomia, prejudica a qualidade de vida dos idosos^{2,8}. A inflamação, portanto, participa do processo de envelhecimento e a desregulação de citocinas foi proposta como um potente impulsionador do envelhecimento malsucedido^{9,10}. Entretanto, mesmo com a presença crônica de marcadores inflamatórios, alguns idosos escapam da fragilidade, como descrito em centenários e idosos saudáveis, sugerindo que várias funções imunológicas estão bem preservadas nestes indivíduos, e até mesmo remodeladas e, portanto, o *inflammaging* pode ser crucial para a sobrevivência e longevidade saudável^{11,12}.

Os fatores sociodemográficos, genéticos, ambientais, estilo de vida, dentre outros, desempenham um importante papel nos biomarcadores imunológicos do envelhecimento saudável, devido a sua associação com o conceito de imunobiografia¹³. As diferentes respostas imunes aos estímulos antigênicos internos e externos enfrentados ao longo da vida, estão envolvidas com a heterogeneidade no estado de saúde. Logo, essa diferença aumenta com a idade, e nem todos os indivíduos envelhecem da mesma maneira^{14,15}. Diante disso, o *inflammaging* deve ser contextualizado em diferentes populações¹⁶⁻¹⁷. Nessa perspectiva, identificar precocemente o risco de fragilidade, tal como através da combinação de biomarcadores imunológicos e clínicos, pode auxiliar nas intervenções preventivas ou na redução da fragilidade nas suas fases iniciais, com o intuito de promover a manutenção da saúde (funções físicas, cognitivas e mentais mais preservadas) e um envelhecimento mais ativo e autônomo^{18,19}.

2. Revisão de literatura

2.1 Envelhecimento populacional no Brasil e no mundo: aspectos epidemiológicos

A transição demográfica consiste nas mudanças do padrão etário e é caracterizada pelo envelhecimento da população (**Figura 1**). Tais mudanças ocorrem tanto em países desenvolvidos quanto em países em desenvolvimento, devido a fatores como o declínio da taxa de fertilidade, bem como da mortalidade infantil e adulta, em decorrência, especialmente, dos avanços médicos, sanitários e tecnológicos²⁰⁻²². Como resultado, há um aumento da expectativa de vida dos indivíduos e um novo perfil de doenças da população, as quais constituem a transição epidemiológica. Nesta, observa-se uma maior prevalência das doenças e agravos não transmissíveis (DANTs), tais como obesidade, doenças cardiovasculares, hipertensão, diabetes, câncer, dentre outros e redução concomitante das doenças infectocontagiosas, considerada como a principal causa de morte no início do século XX²³⁻²⁶.

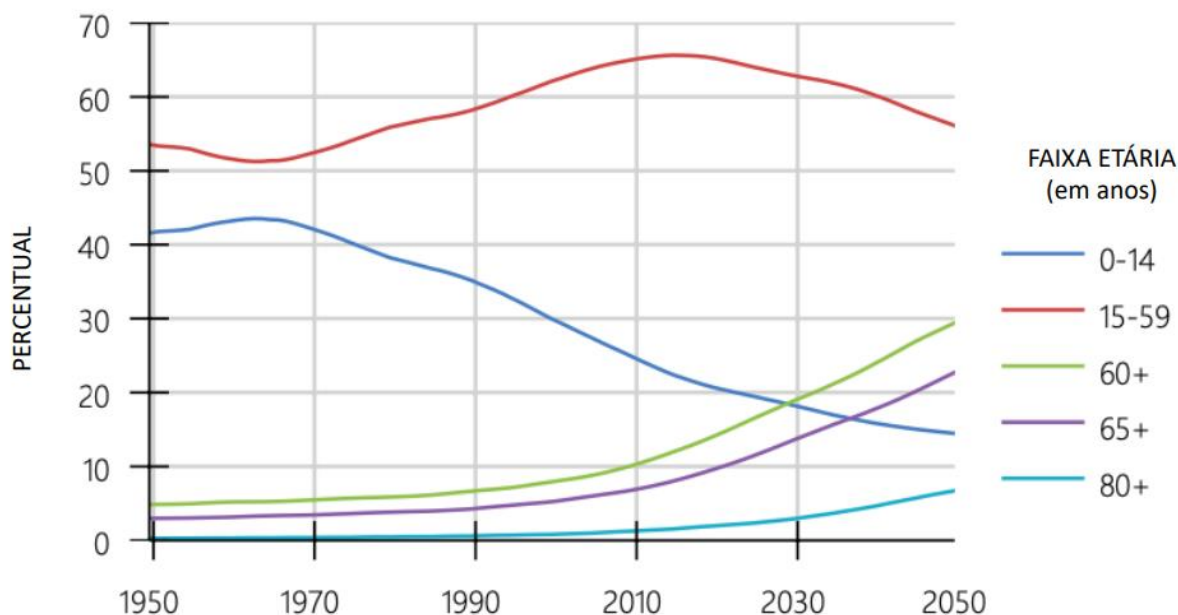


Figura 1 – Distribuição da população global por faixas etárias (em percentual) entre os anos 1950 e 2050. (Adaptada United Nations, 2019)²⁷.

Globalmente, segundo as projeções das Nações Unidas de 2019²⁷, a população acima de 65 anos aumentou de 6% em 1990 para 9% em 2019, representando, em número absoluto,

703 milhões de idosos. A estimativa mundial é de que, em 2050, este número aumente para 16%, atingindo 1,5 bilhão. Desse modo, as projeções mostram que, até 2050, uma em cada seis pessoas no mundo terão mais de 65 anos contra uma em onze em 2019. Vale ressaltar que, em decorrência da pandemia COVID-19, a projeção de idosos será revista de 2020 para 2021, porém, mesmo com a possível mudança, esse crescimento no número de idosos possui um ritmo muito acelerado²⁸.

De acordo com a Organização Panamericana de Saúde (OPAS)²⁹, apesar do envelhecimento populacional ocorrer em todo o mundo, tal envelhecimento é ainda mais intenso e acelerado em alguns países em desenvolvimento, como o Brasil. A projeção do envelhecimento populacional brasileiro do ano de 1950 para 2050 é demonstrada na **Figura 2** de acordo com a faixa etária das Nações Unidas de 2019.

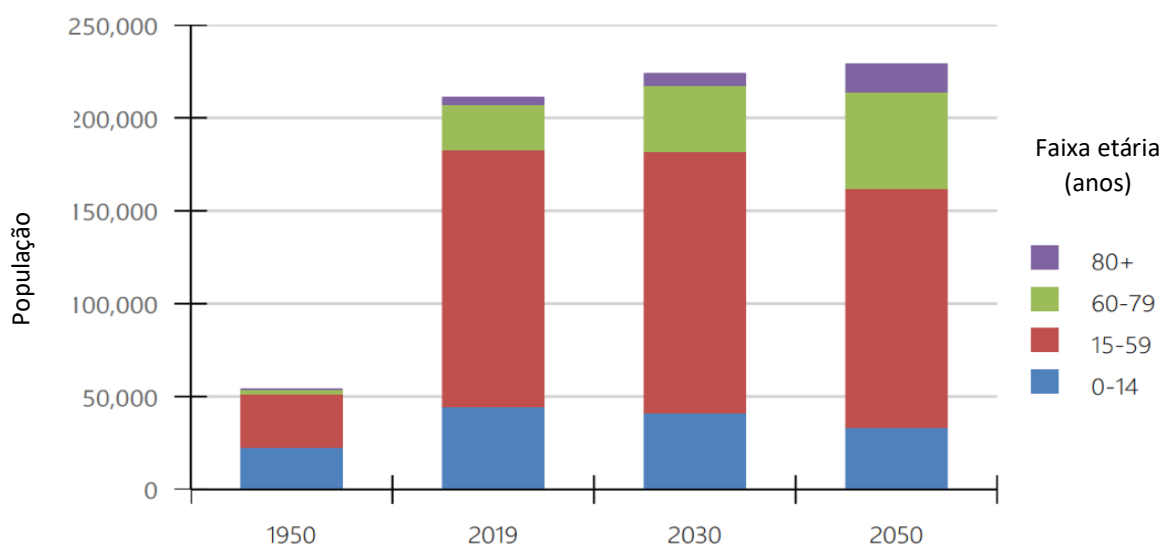


Figura 2 – Distribuição da população brasileira por faixas etárias (milhares) entre os anos de 1950 e 2050 (Adaptado de United Nations, 2019)²⁷.

Os dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE)³⁰, demonstraram que a população brasileira ganhou 4,8 milhões de idosos desde 2012, atingindo 30,2 milhões em 2017^{31,32}. Destaca-se, ainda no caso do Brasil, um dos maiores envelhecimentos demográficos do mundo e um perfil epidemiológico mais complexo, pois além de vivenciar um aumento na expectativa de vida (75,5 anos em 2016), bem como o crescimento das doenças crônicas e seus agravos, inclui-se também as incapacidades por acidentes de trânsito e as doenças infecto-parasitárias, como a Dengue, Zika, febre amarela, Chikungunya,

Influenza, esquistossomose, hanseníase, malária, tuberculose, HIV dentre outras. Conforme a Organização Mundial de Saúde (OMS), o Brasil já tem mais de 23 milhões de idosos, que representa 13% da população do país. Deste modo, as políticas públicas de saúde precisam ser cada vez mais direcionadas a essa faixa etária e à prevenção das DANTs^{3,33,34}.

Além do aumento de idosos segundo a classificação atual (igual ou superior a 65 anos), verifica-se também um crescimento de indivíduos acima de 80 anos, definidos como idosos mais velhos³⁵⁻³⁶. Quanto à população mais velha e centenária no Brasil, não se sabe ao certo o tamanho exato dessa população. Devido aos registros incorretos de idade ao longo dos anos, a enumeração mais realista dos centenários é um grande desafio. A escassez de informações sobre o número preciso desses indivíduos torna a projeção correta do envelhecimento populacional brasileiro mais desafiadora, uma vez que esse grupo é importante para o estudo da longevidade humana²⁸.

Outro processo que afeta o padrão de envelhecimento de uma população é a transição nutricional. Assim, no que diz respeito à alimentação e nutrição, as sociedades modernas e a industrialização facilitaram o acesso a alimentos em geral, incluindo os mais processados. Essa globalização de hábitos não saudáveis associada a outras mudanças no estilo de vida, como o sedentarismo, culminou na mudança do perfil nutricional mundial, expondo as pessoas a um risco cada vez maior de doenças crônicas³⁷. A própria fisiologia do envelhecimento está associada a uma redistribuição do tecido adiposo, independente das alterações no peso corporal³⁸. Em estudo longitudinal (acompanhamento de 5,5 anos), realizado na Itália, foi demonstrado um aumento significativo da circunferência da cintura (CC) em uma amostra de 159 homens e mulheres idosos, saudáveis e com peso estável, indicando uma redistribuição da gordura corporal com a idade. Como consequência, a obesidade, juntamente com o envelhecimento, potencializa o aumento da inflamação crônica de baixo grau (*inflammaging*), tornando-se um elo importante nas doenças relacionadas à idade³⁹⁻⁴⁰. Por outro lado, algumas alterações relacionadas ao envelhecimento, sejam elas fisiológicas (como disfagia, diminuição da absorção de nutrientes) ou patológicas, podem influenciar o apetite dos idosos, tornando-os propensos ao desenvolvimento de carências nutricionais⁴¹. Dessa forma, observa-se que a população idosa pode apresentar modificações do estado nutricional nos dois extremos, com presença de perda de peso não intencional, redução da massa muscular e força, com mobilidade limitada ou de sobrepeso e obesidade, desempenhando um papel fundamental na patogênese de doenças crônicas, fragilidade e sarcopenia^{39,40,42}.

De fato, envelhecer eleva encargos e benefícios sociais, tal como aposentadorias e agravos na saúde como fragilidade e incapacidades, o que afeta imensamente o sistema de saúde^{43,44}. Assim, a identificação precoce do risco de fragilidade, poderia representar uma das importantes ferramentas para um envelhecimento mais saudável da população, uma vez que a preservação das funções física e cognitiva tem sido o foco principal de pesquisas^{33,45}. Neste contexto, visto que a idade cronológica não é um marcador suficiente da fragilidade⁴⁶, torna-se fundamental o conhecimento aprofundado sobre os efeitos do envelhecimento, e suas consequências para a saúde e qualidade de vida, isto é, a manutenção da capacidade física e mental necessária para uma vida independente e autônoma^{28,47,48}.

2.2 Envelhecimento e Sistema imune

De acordo com os dados epidemiológicos apresentados, há um número crescente de idosos na população mundial, assim, entender quando o processo de envelhecimento está associado a incapacidade e fragilidade, tornou-se uma prioridade em saúde pública⁴⁹.

Envelhecer, considerado como um declínio inexorável das funções celulares, é um processo natural e multifatorial que implica em uma série de mudanças fisiológicas (senescência), acompanhado de danos acumulados gradualmente durante a vida (senilidade)³¹. Dentre as principais alterações desse processo, destaca-se a diminuição no funcionamento do sistema imune⁵⁰. A imunosenescência, descrita como uma característica do envelhecimento, ocasiona perda gradual da competência imune associada à idade, diminuição da eficácia imunológica e a sua desregulação^{51,52}, o que contribui para a vulnerabilidade dos idosos à fragilidade, e ao desenvolvimento de doenças infecciosas e crônicas tais como diabetes, doenças autoimunes, neoplasias, dentre outras⁵³⁻⁵⁵.

Ao que tudo indica, as alterações celulares e moleculares que ocorrem com a idade, desencadeiam uma redução progressiva na capacidade de resposta a estímulos externos, que podem ocasionar perda da autonomia e da qualidade de vida^{36,56,57}. Em contrapartida, é interessante notar que o envelhecimento ocorre de forma heterogênea entre os indivíduos. Além das influências genéticas, os fatores relacionados ao meio ambiente (localização geográfica, nutrição, estilo de vida), impactam a forma e o ritmo como cada indivíduo envelhece que são também modulados pela própria história imunológica, conhecido como imunobiografia^{58,59}. Assim, diferentes respostas imunes aos estímulos antigênicos internos e externos enfrentados ao longo da vida, influencia a velocidade da imunosenescência e do

envelhecimento^{17,48,60,61}. Observa-se que células e tecidos envelhecem em taxas diferentes para cada indivíduo, mesmo com idade cronológica semelhante. Portanto, nem todos os indivíduos envelhecem com o mesmo padrão, mesmo em população bastante homogênea^{60,62,63}.

As citocinas influenciam diretamente a comunicação e resposta do sistema imune inato e adaptativo. Essas substâncias produzidas pelas respostas inatas podem controlar as funções das células T⁶⁴. Do mesmo modo, há uma interação bidirecional entre os linfócitos T e B. A disfunção e a comunicação intracelular alterada dessas células, podem influenciar o *cross-talk* dos compartimentos imunológicos. É bem descrito que o bom funcionamento das células T é necessário para a correta ativação das células B, proliferação e secreção de anticorpo. Além disso, os linfócitos B podem participar como células apresentadoras de antígenos para os linfócitos T (resposta T-dependente)⁶⁵. Assim, com a idade, as mudanças que afetam tanto o compartimento inato quanto o adaptativo do sistema imune, podem modificar negativamente a sua interação⁶⁶. Como consequência, o mal funcionamento do sistema imune, contribui para uma maior susceptibilidade a infecções, doenças autoimunes e a pior resposta a vacinas^{67,68}.

A principal alteração responsável pela imunosenescência ocorre no funcionamento das células T e está relacionada com o declínio da função imunológica^{55,69,70}. A involução ou atrofia tímica é considerada uma das marcas do processo de envelhecimento e as alterações histológicas que ocorrem no microambiente tímico ao longo da vida são caracterizadas por uma redução do espaço epitelial associado ao aumento do espaço perivascular e à substituição do estroma do córtex por tecido adiposo, o que promove a desorganização estrutural do tecido⁷¹⁻⁷⁵. Como consequência, há uma menor produção e exportação de células T *naive* (CD45RA+) para o sangue e tecidos linfoides, que ocasiona uma redução da diversidade do TCR (*T Cell receptor*) e, portanto, comprometimento das respostas imunes^{70,76,77}. Essa capacidade prejudicada de produção de novas células T nos idosos limita o reconhecimento de novos antígenos, desencadeando respostas imunes ineficazes, bem como uma menor proteção gerada pela vacinação⁷⁸⁻⁸².

Como resultado da involução tímica e da exposição persistente a antígenos ambientais ao longo da vida, observa-se uma predominância de células T CD4 + e CD8 + de memória (CD45RO+) em comparação com células T *naive*^{70,83,84}. O acúmulo de células efetoras e de memória, ocupam o espaço imunológico e levam a profundas consequências para a função imunológica, tornando os idosos ainda mais vulneráveis a novas infecções^{51,85,86}.

Paralelamente, as infecções crônicas, como CMV (citomegalovírus) induzem o acúmulo de células T efectoras CD8⁺ terminalmente diferenciadas (TEMRA) que re-expressam CD45RA, mas são consideradas células senescentes que aumentam com a idade⁶⁷.

Apesar das mudanças mais intensas associadas ao envelhecimento acontecerem no compartimento das células T, o papel do sistema imune inato na saúde e longevidade tem sido cada vez mais reconhecido⁸⁷. A imunidade inata é mediada por um grupo diverso de células (incluindo monócitos/macrófagos, células Natural killer (NK), células dendríticas, neutrófilos, eosinófilos e basófilos) e a produção de citocinas inflamatórias e anti-inflamatórias por essas células têm um impacto grande na imunosenescência pela sua contribuição para o *inflammaging*^{88,89}.

O termo *inflammaging* foi proposto por Claudio Franceschi e colaboradores⁹⁰, para descrever o estado crônico de inflamação estéril de baixo grau que acompanha o envelhecimento como resultado do atrito contínuo causado por infecções clínicas e subclínicas, bem como da exposição persistente a outros tipos de antígenos não infecciosos (alimentos, alérgenos, microbiota) ao longo da vida⁹¹. Esse aumento constante da resposta inflamatória basal está presente nos idosos e super idosos (centenários), mesmo na ausência de doenças clinicamente ativas de forma independente do grau de fragilidade^{49,66,85,92,93}. Uma das causas do *inflammaging* é a desregulação na produção das citocinas caracterizada pelo aumento do nível de interleucinas circulantes, como IL-6, IL-1, fator de necrose tumoral (TNF- α) e proteínas de fase aguda, como PCR⁹⁴. Além desses biomarcadores circulantes mais relevantes, outros como IL-2, IL-8, IL-12, IL-15, IL-18, IFN- γ , IL-1Ra, IL-4, MCP-1 também são descritos na literatura^{91,95-97}. Paralelamente, vários estudos sugerem um desequilíbrio durante o envelhecimento nas respostas Th1 (IL-2, IFN- γ) e Th2 (IL-4, IL-5, IL-10), como um aumento na frequência de linfócitos Th2⁹⁸⁻¹⁰¹.

Nessas circunstâncias, embora muitas respostas do sistema imune inato estejam prejudicadas com o envelhecimento em decorrência da imunosenescência, observa-se uma ativação constante de receptores de reconhecimento de padrões (PRRs), mesmo na ausência de infecção^{26,102,103}. Os padrões moleculares associados a danos (DAMPs) respondem a vários estímulos celulares tais como mitocôndrias danificadas, restos celulares, cristais de colesterol, espécies reativas de oxigênio, proteínas agregadas, dentre outros, que são produzidos endogenamente pelo organismo, acumulados ao longo do envelhecimento e caracterizados como “lixo”^{91,104,105}. Como resultado da ligação de DAMPs, as células do sistema imune inato se mantêm cronicamente ativada a via do inflamassoma NLRP3 com a produção constante de

citocinas pró-inflamatórias tais como IL-1 β e IL-18, pode ser desencadeada principalmente por DAMPs¹⁰⁶⁻¹⁰⁸. Assim, embora não esteja claro os motivos que levam ao aumento crônico e basal de citocinas inflamatórias, observa-se que esses estímulos endógenos acima citados promovem uma hiperativação da imunidade inata mesmo na ausência de uma doença específica e, portanto, pode ser considerada como um dos principais desencadeadores do *inflammaging*¹⁰⁹.

Em resumo, para descrever o processo de envelhecimento e sua complexidade, uma variedade de estímulos que sustentam o *inflammaging* já foram relatados¹¹⁰, dentre eles incluem a predisposição genética, senescência celular e seu fenótipo secretor associado à senescência (SASP), exaustão celular, microbiota intestinal alterada, obesidade, sedentarismo, depressão, estresse mental, estresse oxidativo, mitocôndrias disfuncionais, desregulação das células imunes (imunosenescência), autofagia prejudicada, perda da proteostase, infecções virais e bacterianas persistentes, dentre outros^{16,49,111}.

2.2.1 Senescência celular e fenótipo SASP

O acúmulo de células senescentes relacionado à idade é um outro fator importante que contribui para o *inflammaging*. A senescência celular é uma parada irreversível do ciclo celular e foi descrita pela primeira vez por Hayflick e Moorhead¹¹² na década de 1960 ao mostrarem que o encurtamento de telômeros e o consequente danos ao DNA era o principal mecanismo que levava à senescência replicativa em fibroblastos. Hoje sabemos que esse fenômeno ocorre em várias células do corpo em resposta a uma variedade de sinais extrínsecos (como infecções crônicas) e intrínsecos (como estresse oxidativo, agregação de proteínas) que podem estar ou não associados à erosão dos telômeros e à presença de danos permanentes ao DNA^{113,114}.

Como mecanismo protetor, acredita-se que o estado de senescência seja uma defesa contra a proliferação celular ilimitada (neoplasias), além de auxiliar no reparo de tecidos¹¹⁵. Por outro lado, no cenário do envelhecimento, as células senescentes se acumulam com a idade, pois além da sua menor eliminação pelo sistema imune inato em decorrência da imunosenescência, também são resistentes à apoptose, persistindo nos tecidos¹¹⁶⁻¹¹⁸. Assim, essas células podem sofrer alterações morfológicas e adquirir novas funções, que caracterizam o fenótipo pró-inflamatório associado a senescência (senescence associated phenotype ou SASP)^{119,120}.

As células com fenótipo SASP, embora não proliferativas, são metabolicamente ativas e secretam citocinas pró-inflamatórias como IL-6, TNF α , IL-1 β , IL-8 e proteínas como MMPs (metaloproteinases), proteína quimioatraente 1 de monócitos (MCP-1), quimiocinas como CCL-2, CCL-5, fatores de crescimento como fator estimulador de colônias de macrófagos e granulócitos (GM-CSF), dentre outras^{67,121-123}. Em relação à sobrevivência dessas células, a produção de TNF α sinaliza de forma autócrina a ativação do NF- κ B por indução da transcrição gênica de proteínas antiapoptóticas da família Bcl-2^{124,125}.

Evolutivamente, considera-se o SASP uma forma de comunicação com o sistema imune que facilitaria a sua própria eliminação, além de um sinal extracelular para promover a regeneração tecidual e cicatrização de feridas^{120,126,127}. Em contrapartida, de maneira parácrina, o SASP também pode modificar o microambiente tecidual por induzir danos ao DNA em células vizinhas, contribuir para a indução ou agravamento da disfunção tecidual, acelerando o envelhecimento e predispondo ao desenvolvimento e progressão de várias doenças ao envelhecimento^{8,60,107,111,128}. Portanto, a própria senescência celular pode impulsionar tanto o envelhecimento quanto patologias relacionadas a ele¹¹³.

Em vista disso, se por um lado a senescência celular é considerada um processo biologicamente necessário, por outro, pode conduzir a processos característicos do envelhecimento como a inflamação crônica. Logo, a própria senescência celular e seu fenótipo SASP pode ser um importante fator adicional que contribui para o *inflammaging* e envelhecimento^{108,110}. Mais pesquisas são necessárias para investigar o impacto do secretoma das células senescentes também nas funções imunes durante o envelhecimento^{123,127}.

2.2.2 *Inflammaging e remodelamento*

Diante da relação entre sistema imune e envelhecimento, sugere-se que a atividade inflamatória crônica e subclínica, quando exacerbada e desbalanceada, pode induzir danos teciduais, desencadeando a senilidade e as doenças associadas à senescência^{51,86}. Entretanto, embora existem idosos que se tornam frágeis e sofrem precocemente de doenças crônicas, outros se tornam saudáveis mesmo na presença crônica de mediadores inflamatórios constantes¹²⁹. Os estudos na década de 90 demonstraram que, apesar da atenuação de algumas respostas imunes inatas durante o envelhecimento, ocorre paralelamente um aumento paradoxal na produção citocinas pró-inflamatórias nos idosos e centenários saudáveis, sugerindo que esse aumento é compatível com a longevidade. Portanto, a senescência não é

necessariamente associada à deterioração da função imune como se pensava anteriormente^{99,130-132}.

Nesse sentido, a imunosenescência não representa apenas um declínio em todas as funções do sistema imune. Ocorrem perdas em mecanismos importantes no seu funcionamento, mas, ao mesmo tempo, os mecanismos imunológicos inatos geralmente se tornam mais ativos¹³³⁻¹³⁵. Nessa perspectiva, podemos perceber que várias das alterações que ocorrem ao longo da vida podem ser continuamente reestruturadas e balanceadas por um processo denominado remodelamento^{13,136,137}. O complexo remodelamento que acompanha o envelhecimento pode ser considerado uma forma de adaptação e proteção na tentativa de manter respostas imunes eficientes desencadeando mudanças na rede de citocinas produzidas^{138,139}. Assim, a desregulação do sistema imune é acompanhada desse processo de reorganização imunológica ao longo da idade^{100,108}, ou seja, a presença da inflamação persistente ativa os mecanismos imunoregulatórios do *inflammaging*, um processo denominado *anti-inflammaging*^{13,59,60,140}.

Alguns estudos sugerem que, durante o envelhecimento, a frequência de células Treg (T reguladoras) na circulação, bem como as células supressoras de mielóide (MDSCs) circulantes aumentam paralelamente ao *inflammaging*^{141,142}. Assim, embora a maior frequência de células Treg também contribua para uma redução na resposta imune adaptativa, especialmente nas infecções agudas e crônicas (vírus, bactérias, parasitos e fungos), esse aumento concomitante de mediadores anti-inflamatórios, em especial a IL-10, pode neutralizar e equilibrar a atividade pró-inflamatória crônica do sistema imune inato evitando respostas inflamatórias excessivas e reduzindo a vulnerabilidade do idoso a doenças e fragilidade^{141,143,144}. Em decorrência da imunosenescência, as células imunológicas também são capazes de se tornar células senescentes e podem ser consideradas uma subpopulação de células T efetoras que não sofrem apoptose. Durante o envelhecimento e nas infecções virais persistentes, como citomegalovírus, essas células se acumulam durante o envelhecimento e passam a ter um perfil mais citotóxico¹⁴⁵. Além disso as células Treg CD8+CD28- possuem funções que regulam diretamente as células T, diminuindo a produção de citocinas pró-inflamatórias e, por isso, também tem sido descrita pelo seu papel na imunomodulação¹⁴⁶. Embora esses fatores tenham funções positivas durante o envelhecimento, o acúmulo dessas células ao longo da idade, pode promover uma redução na capacidade de proteção contra antígenos em idosos¹⁴⁷.

Outros estudos também demonstraram que há um aumento na porcentagem das células natural killer (NK) em idosos quando comparados aos indivíduos jovens^{58,76,89,106,148,149}. Além do aumento no número, a capacidade citotóxica dessas células está bem preservada ou até mesmo aumentada em idosos e centenários saudáveis, indicando uma correlação positiva com a longevidade e envelhecimento saudável^{88,150-153}. Porém, outros autores descrevem que embora haja aumento ou manutenção do número de células NK, a citotoxicidade dessas células está diminuída. A redução da atividade devido a imunosenescência, está correlacionada ao aumento de infecções virais, doenças infecciosas e cânceres^{154,155}. Contudo, apesar das discrepâncias nas porcentagens e funções, devido aos critérios de seleção da população e ao desenho do protocolo, vários estudos sugerem um exemplo do processo de remodelamento das células NK em decorrência da imunosenescência e sua correlação com a longevidade e envelhecimento saudável^{148,156}.

De fato, podemos observar que esses dados demonstraram que os centenários são o melhor exemplo do processo de remodelamento e a inflamação crônica de baixo grau é também uma característica dos idosos com extrema longevidade¹³. Mesmo que sejam mais frágeis e tenham um nível aumentado de mediadores inflamatórios em comparação a idosos abaixo dessa idade, eles também apresentam uma maior produção de citocinas anti-inflamatórias associados a genótipos protetores^{84,124,157-159}. Em vista disso, presume-se que o *inflammaging* poderia desempenhar um papel positivo na longevidade, e ele não deve ser considerado apenas fator de risco para doenças crônicas relacionadas ao envelhecimento^{159,160}. Assim, as alterações imunológicas que ocorrem ao longo da vida não são exclusivamente prejudiciais¹⁴⁰, e o envelhecer não está necessariamente associado a presença de doenças, fragilidade e baixa qualidade de vida^{130,132}.

2.3 Envelhecimento saudável

O processo de seleção da população em estudo determina diretamente as conclusões e a aplicabilidade do resultado da pesquisa. Realizar pesquisas imunológicas dentro do cenário de envelhecimento saudável traz inúmeros desafios e reflexões sobre a população a ser utilizada.

Devido a conflitos em muitos resultados em estudos anteriores sobre o envelhecimento e as patologias relacionadas a ele, bem como a utilização de métodos não padronizados em pesquisas imunogerontológicas, em 1984, foi elaborado o protocolo *Senior European*

(SENIEUR) desenvolvido por Ligthart e colaboradores¹⁶¹. Os idosos classificados como saudáveis através dos critérios de exclusão extremamente rígidos do protocolo SENIEUR (que inclui avaliações clínicas e exames laboratoriais, envolvendo bom estado nutricional, ausência de doença, nenhum sinal de inflamação ou infecção e sem uso de medicamento), permitiram uma nova abordagem para o estudo do envelhecimento saudável^{58,130,162,163}. Entretanto, o uso de um rigoroso protocolo restritivo, pode transmitir a ideia de que saúde é ausência de doença e, por conseguinte, para atingir a longevidade extrema (centenários) não se pode desenvolver doenças crônicas e incapacidades. O envelhecimento e as doenças crônicas, não podem ser tratados como fatores dependentes, mas o envelhecer está associado a uma maior vulnerabilidade em adoecer¹⁶⁴⁻¹⁶⁵.

O protocolo SENIEUR tem seu mérito ao padronizar o recrutamento dos voluntários, algo muito benéfico em pesquisas imunológicas, e ao separar as mudanças que ocorrem como consequência do envelhecimento das doenças relacionadas a ele^{150,160,166}. Entretanto, o uso desse protocolo deu origem a várias críticas^{131,164}. A sua utilização em cenários não imunológicos, como na prática clínica, torna-o restrito e de difícil aplicabilidade, pois seleciona idosos que não representam a grande maioria da população, reduzindo seus benefícios no contexto clínico e preventivo^{131,168}. Portanto, como veremos mais adiante, outros critérios de recrutamento foram sugeridos para estudar um número mais abrangente de idosos, permitindo, assim, maior relevância geral nas pesquisas.

A presença de comorbidades e polifarmácia (cinco ou mais medicamentos) são muito comuns em pessoas idosas e envelhecer sem qualquer doença crônica é consideravelmente raro¹⁶⁹, principalmente no cenário atual no qual algumas doenças crônico-degenerativas (Alzheimer por exemplo) já podem ser diagnosticadas nos centros de pesquisas em sua fase sub-clínica (antes do aparecimento dos sintomas). Dado ao avanço nos métodos diagnósticos, questiona-se a real possibilidade de conseguir excluir a presença de todas as doenças crônico-degenerativas. Apesar de multimorbidades e polifarmácia predispor o organismo a um envelhecimento mais acelerado, esses indivíduos não necessariamente são considerados frágeis, uma vez que podem viver de forma ativa e independente². A independência se traduz na ausência de condições debilitantes, isto é, a presença ou manutenção da função cognitiva e física. Portanto, na prática, os idosos independentes podem ser considerados saudáveis, mesmo que apresentem algumas doenças crônicas leves, como hipertensão, diabetes, osteoporose, resistência à insulina, dentre outras¹⁷⁰.

Em concordância com essa visão, a OMS define saúde como “*um estado de completo bem-estar físico, mental e social e não apenas a ausência de doenças ou enfermidades*”. Entretanto, esse estado não esclarece o que significa bem-estar em termos claros e, baseado nesse conceito, saúde é um estado idealizado e inatingível para a grande maioria da população. Em vista disso, o termo envelhecimento saudável foi reformulado e segundo a OMS, é atualmente definido como “*Um processo de desenvolvimento e manutenção da capacidade funcional que possibilita o bem-estar na idade avançada*”. Portanto, ser saudável, em termos práticos, significa ter capacidade para as atividades de vida diária (AVDs), autonomia (capacidade de realizar as ações por meios próprios) e independência (capacidade de tomar suas próprias decisões)^{169,171,172}. Os centenários são tradicionalmente considerados como representantes do grupo envelhecimento saudável independentemente de sua funcionalidade após os 100 anos, pois a literatura demonstra que neles houve a compressão da morbidade e eles passaram a maior parte de suas vidas como indivíduos robustos.

Similarmente, na tentativa de estabelecer um melhor entendimento a respeito do processo de envelhecimento, a Política Nacional de Saúde da Pessoa Idosa aprovada pelo Ministério da Saúde em 2006¹⁷³ considera que envelhecer com saúde, envolve envelhecer de uma forma ativa, livre de qualquer tipo de dependência funcional. Nesse sentido, o novo conceito de saúde para o indivíduo idoso se traduz mais pela sua condição de autonomia e independência do que pela presença ou não de doença¹⁷⁴. Da mesma forma, no ponto de vista imunológico, um idoso é considerado saudável quando livre das consequências inflamatórias da senescência, o que possibilita a manutenção da sua capacidade funcional¹⁷. Desta maneira, a heterogeneidade de diferentes respostas imunológicas pode levar a diferentes graus de funcionalidade¹⁷⁵⁻¹⁷⁷.

Nessa perspectiva, o envelhecimento saudável pode ser entendido a partir de seus três componentes: menor probabilidade de doença e deficiência; alta capacidade funcional e envolvimento social ativo com a vida. A presença ou ausência de doenças não representa a complexidade do estado de saúde nos idosos^{28,164,169} e, por envelhecimento saudável, foco principal deste estudo, entende-se a preservação da funcionalidade global do idoso, a autonomia (cognição, humor e comportamento) e a sua independência (mobilidade e comunicação)^{172,178}.

Embora a fragilidade não seja uma doença, a sua etiologia pode vir em decorrência da acumulação de danos e da perda da capacidade adaptativa ao longo da vida, desencadeando a desregulação fisiológica, perda da homeostase e maior vulnerabilidade a desfechos adversos,

como hospitalização e incapacidades^{2,165}. Considerando a importância da funcionalidade e mesmo com muitos estudos sobre o envelhecimento, faz-se ainda necessário definir a fragilidade. A forma de operacionalizar essa definição, na prática, não é um consenso na literatura mundial^{35,179}. Dentre os critérios de definição mais utilizados e sua possível aplicação para os estudos gerontológicos, citam-se o fenótipo de fragilidade desenvolvido por Fried e colaboradores (2001)¹⁸⁰, validado pelo Estudo de Saúde Cardiovascular. De acordo com Fried, o fenótipo de fragilidade é definido quando 3 ou mais dos seguintes critérios estão presentes: perda de peso não intencional, exaustão auto relatada, fraqueza (força de preensão), velocidade de marcha lenta e baixa atividade física¹⁸⁰.

A utilização do modelo acima citado, apesar da avaliação exclusivamente física, permite detectar-se um maior número de idosos frágeis. Porém, os idosos que apresentam apenas declínios físicos podem ser classificados dubitavelmente como frágeis³⁵. Alternativamente, a visão mais atual de fragilidade engloba o modelo Rockwood, de caráter multidimensional, que considera a fragilidade como um acúmulo de déficits, que incluindo presença e gravidade das doenças atuais, habilidades nas atividades de vida diária, bem como exames físicos e neurológicos, e não apenas físicos como proposto por Fried^{181,182}. Uma visão ainda mais abrangente de fragilidade, considera-a como redução da reserva homeostática, ou seja, a redução da capacidade individual de satisfazer as necessidades biopsicossociais (fatores biológicos, cognitivos, psicológicos e socioeconômicos), independentemente da idade ou da presença de doenças. Sob esse ponto de vista, envelhecer não é sinônimo de deficiência e dependência^{172,178}. A independência pode ser considerada uma combinação do funcionamento físico e cognitivo^{173,183}. O comprometimento cognitivo é uma condição associada ao declínio funcional e à incapacidade que não foi incluído como um componente do fenótipo de fragilidade de Fried¹⁷⁹.

Em concordância com a evolução do conceito de fragilidade e dos instrumentos tradicionais para sua identificação, o grupo de Moraes e colaboradores¹⁷², reproduziu uma classificação mais realista e aplicável dos graus de vulnerabilidade do idoso a desfechos adversos, como declínio funcional, aumento do risco de dependência e óbito. Nesse novo método de avaliação, Moraes inclui tanto o modelo Rockwood quanto o fenótipo de fragilidade de Fried e a sua utilização está em concordância com a Classificação Internacional de Funcionalidade (CIF) da Organização Mundial de Saúde, cuja a ênfase é na funcionalidade. Portanto, para este estudo, os idosos saudáveis são aqueles independentes funcionais, que apresentam ou não doenças e, dentro dessa categoria mais ampla de

envelhecimento saudável, os idosos são estratificados de acordo com a Classificação Clínico-Funcional, cuja representação gráfica é a Escala Visual de Fragilidade¹⁷².

3. Justificativa

Em decorrência da transição demográfica acelerada que o país vivencia, acreditamos que há um grande interesse mundial no estudo dos fatores imunológicos que diferenciam, na sua população, os idosos robustos daqueles em risco de fragilidade ou com fragilidade estabelecida. As alterações no sistema imune ao longo da idade são consideradas fatores que contribuem de forma significativa para muitas doenças relacionadas ao envelhecimento, à fragilidade e ao surgimento de diversas incapacidades^{47,142,179}.

Contudo, em outros estudos, foi observado, em idosos e mesmo em centenários saudáveis, que os fatores inflamatórios (*inflammaging*) são balanceados por outros elementos reguladores e tal equilíbrio parece ser responsável pelo “envelhecimento saudável” desses indivíduos. Os estudos em “envelhecimento saudável” foram conduzidos até o momento principalmente em populações caucasianas da Europa e dos Estados Unidos⁴⁵ e, embora haja estudos na população brasileira, são poucos que exploram o conhecimento aprofundado sobre os efeitos do envelhecimento e suas consequências para a saúde^{28,48}. Nesses estudos brasileiros, os idosos e demais voluntários foram recrutados de acordo com os critérios de saúde do protocolo SENIEUR, no qual foram investigados o envelhecimento e sua interação entre fatores psiconeuroendócrinos e a imunosenescência¹⁸⁴⁻¹⁸⁶.

Neste trabalho, estudamos o perfil de citocinas e quimiocinas no plasma como biomarcadores do envelhecimento saudável em indivíduos da região metropolitana de Belo Horizonte. Para a seleção dos indivíduos saudáveis foram avaliados critérios cognitivos e funcionais que se relacionam com o grau de dependência do idoso (Classificação clínico-funcional e Fenótipo de fragilidade). A relevância deste estudo reside na possibilidade que ele pode gerar para o estabelecimento de critérios que facilitem a definição e a promoção do envelhecimento saudável do ponto de vista imunológico, físico e cognitivo, bem como a prevenção da dependência nos indivíduos em idade avançada.

4. Objetivos

4.1 Objetivo Geral

Estabelecer quais os biomarcadores biológicos inflamatórios (citocinas e quimiocinas) são determinantes no envelhecimento saudável em indivíduos brasileiros acima de 80 anos residente em Belo Horizonte, Minas Gerais, permitindo prever a fragilidade nessa população.

4.2 Objetivos específicos

- Determinar o perfil sociodemográfico e de saúde dos indivíduos participantes;
- Caracterizar os indivíduos conforme dois critérios de funcionalidade (descrito por FRIED et al.¹⁸⁰ e por MORAES et al.¹⁷²);
- Analisar o perfil inflamatório no plasma dos indivíduos pela medida de citocinas (TNF- α , IFN- γ , IL-1 β , IL-1ra; IL-2, IL-4, IL-6, IL-5, IL-7, IL-9, IL-10, IL-12, IL-13, IL-15, IL-17) e quimiocinas (IL-8, Eotaxina, FGF-b, G-CSF, GM-CSF, MCP-1, MIP-1 α , MIP-1 β , PDGF-BB; RANTES, VEGF);
- Correlacionar os dados (perfil inflamatório) por grupos, como faixa etária, Classificação clínico-funcional¹⁷² e o fenótipo de fragilidade¹⁸⁰;
- Analisar dados do hemograma dentro de cada critério;
- Elaborar um banco de dados com os resultados obtidos a partir do questionário, exame clínico e análises biológicas;

5. Metodologia

5.1 Participantes e desenho do estudo (população de estudo)

Foi realizado um estudo transversal em idosos acima de 80 anos residentes em áreas urbanas de Belo Horizonte. Os participantes foram recrutados e acompanhados no Ambulatório de Envelhecimento Saudável do Instituto Jenny de Andrade Faria localizado no Hospital das Clínicas da UFMG. Efetivamente, todos os participantes foram submetidos a uma avaliação de saúde multidimensional completa pelo médico Geriatra da Unidade, incluindo histórico clínico detalhado, informações nutricionais complementares alimentares (obtidas pela nutricionista do local) e antropométricas (índice de massa corporal). Os dados sobre doenças preexistentes e medicações prescritas foram obtidos dos prontuários médicos do ambulatório. A idade foi verificada por identidade ou certidão de nascimento. Todos os idosos (ou seus responsáveis legais) foram esclarecidos quanto aos objetivos do estudo e os que concordaram em participar voluntariamente do projeto, foram convidados a assinar o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE, **Anexo 1**), aprovado pelo Comitê de Ética da UFMG (CEP-UFMG) e pelo Comitê Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP) sob o número CAAE 03820518.9.0000.5149. Para respeitar a privacidade, todos foram identificados com um código alfanumérico. Um banco de dados foi criado para consolidar os dados referentes à população de estudo colhidos através de um questionário que contemplou perguntas sobre características demográficas e socioeconômicas (**Anexo 2**), tais como idade, sexo, local de moradia e nível educacional. Todos os participantes foram selecionados com base em seu estado de saúde, de acordo com os critérios gerais da Classificação clínico-funcional¹⁷² (**Tabela 2, Figura 3**) e pelo Fenótipo de fragilidade¹⁸⁰ (**Tabela 1**) e, portanto, foram incluídos na amostra somente aqueles que eram capazes de realizar todas as atividades de vida diária (AVDs) (estratos 1 a 5). Em relação aos centenários, este grupo foi encaminhado ao ambulatório de envelhecimento saudável independentemente do seu estrato funcional. Portanto, para o presente estudo, os centenários foram exclusivamente incluídos, mesmo classificados como frágeis segundo critérios gerais de classificação utilizados. O motivo para tal recrutamento é devido a sua representatividade de um modelo humano de envelhecimento saudável. Portanto, podemos considerar que este grupo, em particular, tem a trajetória de vida marcada por uma vitalidade superior à fragilidade.

De acordo com os critérios gerais da escala, são considerados robustos todos os indivíduos capazes de realizar as atividades de vida diária (AVDs) que são divididas em 3

níveis: básicas (alimentação, transferência, continência, vestir-se e banhar-se), instrumentais (sair de casa sozinho, cuidar dos remédios, cozinhar, lembrar de recados, ficar em casa sozinho) e avançadas (hobbies, atividades profissionais), de forma independente e autônoma, mesmo na presença de doenças. Os idosos robustos (estrato 1 ao 3), em risco de fragilidade (estrato 4 e 5) e todos os centenários foram incluídos na amostra.

Como critério de exclusão, nenhum dos indivíduos recrutados para o estudo apresentou doenças graves relacionadas ao envelhecimento ou comprometimento cognitivo grave (demência, insuficiência cardíaca, doenças neurológicas, doenças crônicas do fígado, doença neoplásica recente ou infecciosa) ou uso de medicamentos que influenciariam as funções imunológicas durante o período. As doenças prevalentes foram Diabetes Melitus II, Hipertensão arterial, Disfunção da tireóide (Hipotireoidismo), depressão representadas na **Tabela 3**.

5.2 Coleta das amostras

Foram coletadas amostras de, aproximadamente, 8ml de sangue periférico de indivíduos em jejum no período da manhã (para evitar variações circadianas) por um profissional treinado utilizando jaleco, luvas e material descartável, em tubos de heparina da marca BD Biosciences® identificados com o código alfanumérico do participante e acondicionadas em caixa térmica, com transporte imediato para o Centro de Pesquisas René Rachou (CPqRR). O processamento do sangue ocorreu no mesmo dia da coleta ou, no máximo, até o dia seguinte para a realização do hemograma e separação do plasma. O sangue foi processado por centrifugação a 2000 rpm a 20°C por 10 minutos. O plasma obtido após centrifugação foi transferido com auxílio de uma pipeta para tubos Eppendorf de 2mL (contendo aproximadamente 0,5ml de plasma em cada alíquota) previamente identificados e armazenados a -20°C para a análise de biomarcadores (citocinas/quimiocinas) em imunoensaio Luminex da Bio-rad Laboratories (Bio-Plex® Pro Human Cytokine Standard).

5.3 Medidas do estado de saúde e funcionalidade

5.3.1 Avaliação Geriátrica

Para estratificar os idosos, foram avaliados a funcionalidade geral do idoso, através da classificação clínico-funcional desenvolvida por Moraes e colaboradores¹⁷² e o fenótipo de fragilidade proposto por Fried e colaboradores¹⁸⁰ no qual verificou-se a capacidade física e

mental (relacionado ao estado físico e cognitivo). Dentre as avaliações aplicadas, utilizou-se os seguintes testes: Escala de Karts, Mini exame do estado mental (MMSE), Questionário de atividades funcionais de Pfeffer, força de preensão manual, teste Short Physical Performance Battery (SPPB), velocidade de marcha, entrevista sobre transtorno depressivo, índice de massa corporal e Índice de Charlson. Essas medidas foram importantes para a estratificação funcional e, posteriormente, foram correlacionados com os níveis de biomarcadores imunológicos no plasma.

Desempenho Cognitivo: Para avaliar o estado mental e como um teste para sinais de comprometimento cognitivo (mais especificamente os domínios cognitivos), foi administrado o teste de Mini Exame do Estado Mental (MMSE) ou “Mini-Mental State” (MMS)¹⁸⁷. Esse exame testa várias funções cognitivas, incluindo atenção, memória, linguagem, habilidade visoespacial e orientação temporal e espacial. Os escores variam de 0 a 30 e uma pontuação abaixo de um ponto de corte de 24 é frequentemente usada para indicar um possível déficit cognitivo¹⁸⁸.

Funcionalidade: Utilizou-se a Escala de Katz para atividades da vida diária básicas (AVDs) (tomar banho, vestir-se, comer, independência dentro e fora da cama) e o Questionário de atividades funcionais de Pfeffer para avaliar as AVDs instrumentais (sair de casa sozinho, cuidar dos remédios, cozinhar, lembrar de recados, ficar em casa sozinho)^{189,190}. O questionário de Atividades Funcionais de Pfeffer é um teste que não é influenciado pela escolaridade, e pontuações superiores a 5 pontos são indicativas de comprometimento funcional significativo.

Desempenho físico: A força de preensão manual foi medida usando um dinamômetro portátil e o resultado desse teste tem sido utilizado como avaliação da força muscular, uma ferramenta útil para prever declínio funcional⁵⁷. A perda de força pode ser um parâmetro mais importante do que alterações da própria massa muscular¹⁷⁹. O teste foi administrado através da mão mais forte (repetido três vezes) e o valor máximo foi considerado. O Teste Short Physical Performance Battery (Bateria curta para avaliação do desempenho físico) (SPPB) é um instrumento utilizado para complementar o diagnóstico de uma sarcopenia provável (considerado como uma suspeita clínica). É composto pela combinação de três testes: avalia o equilíbrio estático em pé, força de membros inferiores (MMII) através da tarefa de sentar-se e levantar-se da cadeira cinco vezes, e a velocidade de marcha. Ele tem sido utilizado para prever desfechos desfavoráveis em idosos como incapacidades, hospitalização, institucionalização e morte. A avaliação da capacidade física do idoso, permite inferir o risco

de quedas e confirmar possíveis dificuldades nas atividades de vida diária básicas (AVDs) e quantificar o desempenho físico¹⁹¹. A Velocidade de marcha também faz parte da avaliação de desempenho físico e é determinada pelo tempo médio em segundos para percorrer uma distância plana de quatro metros em seu ritmo mais rápido que o usual, porém sem correr¹⁹².

Transtorno depressivo maior: Foi realizada uma entrevista não estruturada seguindo critérios para diagnóstico de transtorno depressivo maior, segundo DSM-5 - Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais¹⁹³.

Índice de massa corporal (IMC): Os dados antropométricos foram medidos no momento do recrutamento por uma nutricionista do Ambulatório do Instituto Jenny Faria. O índice de massa corporal (IMC) foi usado para avaliar a adiposidade geral (definida com o IMC maior ou igual a 30kg/m^2 , de acordo com a definição da OMS^{194,195}. O baixo peso foi definido como o IMC abaixo de 22kg/m^2 e a redução de 4,5 kg nos últimos 6 meses foi considerada como uma perda de peso não intencional.

Índice de Charlson: Como teste complementar, foi aplicado o Índice de Charlson para uma avaliação mais geral do status de comorbidade. Essa avaliação é uma das mais antigas e mais utilizadas e se baseia em pontuação de comorbidades¹⁹⁶.

5.3.2 Critérios de funcionalidade utilizados

De acordo com Fried e colaboradores¹⁸⁰, o fenótipo de fragilidade é definido quando três ou mais dos seguintes critérios estão presentes: perda de peso não intencional, exaustão auto reportada, fraqueza (força de preensão), velocidade de marcha lenta (caminhada cronometrada de 4,5m) e baixa atividade física (**Tabela 1**). A presença de três ou mais desses critérios define o indivíduo como “frágil”, enquanto a presença de um ou dois os define como “pré-frágeis” e os indivíduos que não apresentam nenhum desses critérios são considerados robustos ou não frágeis.

Tabela 1: Fenótipo de fragilidade de acordo com Fried e colaboradores¹⁸⁰.

Fenótipo de fragilidade*		
Critérios	Características de fragilidade	Observações sobre mensuração
1	Perda de peso (não intencional) Sarcopenia	< 4,5kg perdidos ocasionalmente no ano anterior (relato)
2	Fraqueza muscular	Força de preensão manual
3	Exaustão/ Baixa resistência	Exaustão auto relatada
4	Velocidade de marcha lenta	Velocidade de caminhada para desempenho físico
5	Baixa atividade física	

Nota: Um indivíduo é considerado frágil quando três dos cinco critérios estão presentes. Idosos com um ou dois dos critérios são considerados pré-frágeis, enquanto aqueles sem nenhum critério são consideradas robustos ou não frágeis (adaptado de Fried et al.)¹⁸⁰. *Informações complementares estão no tópico 5.3 Medidas do estado de saúde e funcionalidade (pg. 35)

A classificação clínico-funcional proposta por Moraes e colaboradores¹⁷² (**Tabela 2**) é baseada na funcionalidade geral e na complexidade clínica dos idosos, considerando a importância da independência nas Atividades Básicas diárias (alimentação, transferência, continência, vestir-se e banhar-se), Instrumentais (sair de casa sozinho, cuidar dos remédios, cozinhar, lembrar de recados, ficar em casa sozinho) e avançadas (hobbies, atividades profissionais). Ela permite, assim, uma visualização mais prática e simples do estado funcional do idoso, bem como a estratificação da relação vitalidade x fragilidade. Nessa avaliação, associam-se também as principais causas do declínio funcional dos idosos, como sarcopenia, comprometimento cognitivo leve e múltiplas comorbidades. Assim, a classificação clínico-funcional abrange os dois extremos, desde o grau mínimo e máximo de vitalidade (reserva homeostática) e fragilidade (vulnerabilidade) e estão ligados por uma linha reta, contínua e em declínio, sobre a qual pode ser marcada a saúde do idoso (**Figura 3**). Além disso, a escala é subdividida em 10 categorias considerando a redução progressiva da vitalidade associada ao aumento progressivo da fragilidade, variando de completamente independente a totalmente dependente¹⁷².

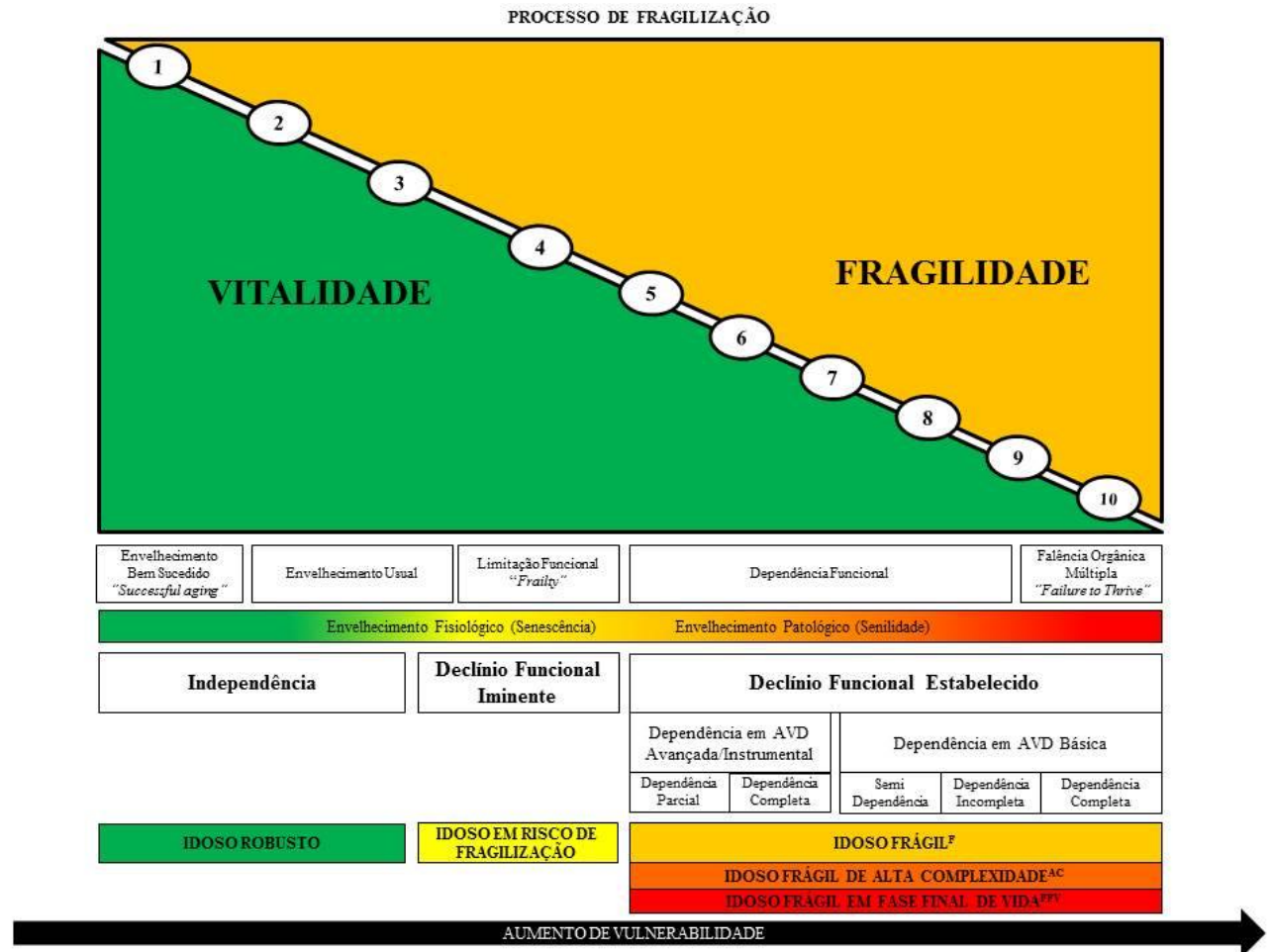


Figura 3. Escala visual de fragilidade, baseado em categorias de saúde e do processo de fragilização do idoso de acordo com a sua capacidade funcional (graus de dependência e perda da autonomia)¹⁷².

O idoso robusto apresenta boa reserva homeostática, logo, é capaz de gerenciar sua vida de maneira independente e autônoma, agrupando-se nas categorias 1, 2 e 3 (**Tabela 2**). A categoria 1 representa o grau máximo de vitalidade, no qual o idoso mantém a independência em todas as Atividades de vida diária (AVDs) básicas, instrumentais e avançadas, além de não apresentar doenças. Já os indivíduos na categoria 2 apresentam condições crônicas de saúde mais simples, como hipertensão arterial sem lesão de órgãos alvo, tabagismo, dislipidemia, dentre outros e, na categoria 3, estão incluídos os idosos que apresentam um ou dois critérios do fenótipo de fragilidade descrito por Fried¹⁸⁰. No geral, os idosos são considerados robustos quando totalmente independentes e autônomos, podendo apresentar comprometimento cognitivo leve sem multimorbidade complexa. Aqueles que se encontram em risco de fragilidade (categorias 4 e 5), são capazes de gerenciar sua vida de maneira independente e autônoma, entretanto estão entre um estado dinâmico de senescência (envelhecimento normal) e senilidade (risco de problemas de saúde), resultando na presença

de certas limitações funcionais, mas sem dependência funcional (**Tabela 2**). No estrato 4 estão incluídos uma ou mais condições crônicas de saúde preditoras de desfechos adversos, como comorbidades múltiplas (polipatologia, polifarmácia ou internação recente), evidências de sarcopenia e/ou alta vulnerabilidade sócio familiar. No estrato 5 estão os idosos relativamente independentes para realizar AVDs básicas e instrumentais. O declínio funcional é percebido somente nas AVDs avançadas (atividades relacionadas à integração social, atividades produtivas, recreativas e sociais. A partir da categoria 6 (**Tabela 2**), o idoso é categorizado como frágil e essa classificação baseia-se essencialmente na presença de declínio funcional estabelecido¹⁷⁸. É importante mencionar que todos os idosos (com exceção dos centenários) que se encontram acima do estrato 5 (6 em diante) estão excluídos do projeto. Embora não sejam os sujeitos mais robustos de acordo com a sua idade cronológica, os centenários são um exemplo de um envelhecimento bem-sucedido e, como já mencionado, se adaptaram bem às alterações no organismo que ocorrem ao longo do tempo^{197,198}. Por isso estão incluídos no projeto independentemente do seu estrato funcional.

Tabela 2: Classificação clínico funcional do idoso segundo Moraes e colaboradores¹⁷²

CLASSIFICAÇÃO CLÍNICO FUNCIONAL		
IDOSO ROBUSTO Ausência de declínio funcional	Estrato 1	Idosos que se encontram no grau máximo de vitalidade. Apresentam independência para todas as AVD avançadas, instrumentais e básicas e ausência de doenças ou fatores de risco, exceto a própria idade. Envelheceram livres de doenças e não apresentam nenhuma outra condição de saúde preditora de desfechos adversos.
	Estrato 2	Idosos independentes para todas as AVD básicas e instrumentais. Apresentam condições de saúde de menor complexidade clínica, como a hipertensão arterial controlada e sem lesão de órgão alvo, diabetes mellitus controlada e sem lesão de órgão alvo ou fatores de risco gerais, como tabagismo, dislipidemia, osteopenia, depressão leve, dentre outros.
	Estrato 3	Idosos independentes para todas as AVD básicas e instrumentais. Apresentam doenças crônico-degenerativas bem estabelecidas e de maior complexidade clínica, como hipertensão arterial descontrolada ou com lesão de órgão alvo, diabetes mellitus descontrolado ou com lesão de órgão-alvo, depressão moderada/grave, ataque isquêmico transitório, acidente vascular cerebral, doença renal crônica, insuficiência cardíaca, doença pulmonar obstrutiva crônica/asma, osteoartrite, doença arterial coronariana, história de IAM, doença arterial periférica, câncer não cutâneo, osteoporose densitométrica, fibrilação atrial ou doença de Parkinson. Neste grupo, não são incluídos fatores de risco.
		Idosos independentes para todas as AAVD, AIVD e ABVD. Apresentam algumas das seguintes condições de saúde: • Presença de evidências de redução da capacidade aeróbia/muscular: perda

IDOSO EM RISCO DE FRAGILIZAÇÃO Declínio funcional iminente	Estrato 4	de peso significativa, fadigabilidade, baixo nível de atividade física associado à redução objetiva da força muscular ou CP 31cm. • Presença de Comprometimento Cognitivo Leve (CCL) ou Transtorno Neurocognitivo Leve • Presença de comorbidades múltiplas: ○ Duas ou mais doenças crônico-degenerativas bem estabelecidas. ○ Cinco ou mais condições crônicas de saúde, incluindo as doenças bem estabelecidas, enfermidades ("illness"), fatores de risco ou sintomas que necessitam de intervenção médica. ○ Polifarmácia: uso diário de 5 ou medicamentos de classes diferentes. ○ Internação recente, nos últimos 6 meses
	Estrato 5	Idosos independentes para AIVD e ABVD, mas com as seguintes condições: • Limitações nas AAVD (Atividades Avançadas de Vida Diária), definida como aquelas atividades relacionadas à integração social, atividades produtivas, recreativas e/ou sociais) • Evidências clínicas de redução significativa da capacidade aeróbia/muscular (sarcopenia grave): VM-4m $\leq$ 0,8 m/s ou TUG $\geq$ 20s.
IDOSO FRÁGIL Declínio funcional estabelecido	Estrato 6	Idosos que apresentam: • Independência para ABVD e • Declínio funcional parcial nas AIVD (dependência parcial)
	Estrato 7	Idosos que apresentam: • Independência para ABVD e • Declínio funcional em todas as AIVD (dependência completa)
	Estrato 8	Idosos que apresentam: • Dependência completa nas AIVD e • Semidependência nas ABVD: comprometimento de uma das funções influenciadas pela cultura e aprendizado, como banhar-se e/ou vestir-se e/ou uso do banheiro.
	Estrato 9	Idosos que apresentam: • Dependência completa nas AIVD e • Dependência incompleta para ABVD: banhar-se, vestir-se, uso do banheiro, continência e transferência. A única AVDB preservada é a capacidade de alimentar-se sozinho
	Estrato 10	Idosos que apresentam: • Dependência completa para ABVD Encontram-se no grau máximo de fragilidade e, consequentemente, apresentam o máximo de dependência funcional, necessitando de ajuda, inclusive, para alimentar-se sozinho

5.4 Dosagem de biomarcadores no plasma (citocinas e quimiocinas)

Para a detecção e quantificação de citocinas e quimiocinas no plasma, utilizou-se o Kit da Bio-Rad Laboratories (Bio-Plex® Pro Human Cytokine Standard) que permite medir várias citocinas e quimiocinas simultaneamente através de um imunoenensaio magnético à base de esferas realizado em equipamento Luminex (BioPlex 200, Bio-Rad) seguindo o protocolo padronizado pela Dra. Andrea Teixeira Carvalho do Laboratório de Biomarcadores do Instituto de Pesquisas René Rachou, FIOCRUZ, Minas Gerais. Os dados foram analisados usando o software Bioplex™ (Bio-Rad). O painel de citocinas/quimiocinas do kit consistiu de: IL1- β , agonista do receptor de IL1 (IL1-ra), IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-12, IL-13, IL-15, IL-17, fator de crescimento básico de fibroblastos (FGF-b), fator estimulador de colônias de granulócitos (G-CSF), fator estimulador de colônias de granulócitos e macrófagos (GM-CSF), IFN- γ , proteína quimioatraente 1 de monócitos (MCP-1), proteína inflamatória de macrófago-1 α (MIP-1 α e MIP-1 β), proteína induzida por IFN- γ (IP) 10, fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF) BB, fator de necrose tumoral α (TNF- α), RANTES.

Foram descongeladas 47 amostras de plasma em banho-maria a 37°C e depois homogeneizadas em vórtex por 5 segundos. Devido a presença de debris na amostra após o descongelamento, foi necessário, utilizando um pipetador de 200 μ L, a sua retirada para evitar que estas substâncias influenciem a detecção e quantificação de citocinas no plasma. Depois, as amostras foram novamente homogeneizadas em vórtex por 5 segundos e centrifugadas a 14.000xg, por 5 minutos em temperatura ambiente. Foram adicionados 50 μ L das amostras em placas para ensaio Luminex contendo 50 μ L do *pool* de *beads*, lavadas duas vezes com 100 μ L de tampão de lavagem e incubadas *overnight* a 4°C sob agitação. No dia seguinte, foram adicionados 25 μ L do anticorpo de detecção em cada poço e as amostras foram incubadas por 30 minutos sob agitação, temperatura ambiente e ao abrigo da luz. As amostras foram lavadas com 100 μ L de tampão de lavagem. Foi adicionado 50 μ L do conjugado em cada poço e as amostras foram incubadas por 30 minutos sob agitação em temperatura ambiente e ao abrigo da luz. Foram novamente lavadas com 100 μ L de tampão de lavagem, ressuspensas com 125 μ L de tampão do ensaio e homogeneizadas por 10 minutos. Por fim, as amostras foram adquiridas no equipamento Bio-Plex 200 (Bio-Rad) utilizando-se o software Luminex xPONENT versão 3.1.

6. Análise estatística e análise de dados

6.1 Análise estatística

Os pacientes foram agrupados de acordo com a classificação de fragilidade conforme definido acima. Os dados descritivos, como os dados sociodemográficos, foram apresentados com frequência e/ou média $\pm$ DP.

O teste de Shapiro-Wilk foi aplicado para verificar a distribuição normal das variáveis. Como os dados de citocinas/quimiocinas não revelaram distribuição normal, foram analisados pelo teste não paramétrico de Kruskal-Wallis com post-hoc Dunns para comparar três grupos, segundo a funcionalidade por Fried e Moraes e pelo teste U-Mann-Whitney para comparar dois grupos. Já para análise estatística da categorização das idades versus as classificações de fragilidade em ambos os critérios, foi utilizado ANOVA (distribuição normal das idades) com post-hoc de Tukey. A análise estatística foi realizada com a utilização do programa Prisma versão 9.

Para os parâmetros hematológicos, foi feito o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis com post-hoc Dunns para comparar três grupos segundo a categorização dos idosos em ambos os critérios. Para os parâmetros estatístico descritivos do hemograma, utilizou-se a mediana e o intervalo interquartil, para avaliar o grau de dispersão dos dados em torno da mediana, sendo o primeiro quartil (inferior = 25%), o quartil intermediário (mediana) e o terceiro quartil (superior = 75%). A diferença entre o quartil superior e o quartil inferior determinou o intervalo interquartil.

Para análise da correlação entre citocinas (gráficos de correlação), foi feito a correlação de Sperman para dados anormalmente distribuídos (não paramétricos), utilizando o software R (R Core Team). O coeficiente de Spearman foi usado para medir a intensidade da associação entre as citocinas/quimiocinas, com variáveis contínuas e relativamente robusto contra *outliers*.

O nível de significância para as análises foi estabelecido em $p < 0,05$.

Os asteriscos nas figuras estão representados em*: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$; ***: $p < 0,001$ **** $p < 0,0001$.

6.2 Gráfico em radar

Para identificar as frequências baixas ($<$ mediana global) e altas ($\geq$ mediana global) dos níveis de citocinas, foi feito o Gráfico em Radar utilizando a mediana global de cada citocina como ponto de corte. Posteriormente, foi calculada a frequência dos indivíduos alto produtores de cada citocina para cada estrato de funcionalidade em ambos os critérios (Escala de Fried e Moraes)^{172,180}. O gráfico em radar foi separado entre citocinas pró-inflamatórias versus anti-inflamatórias ou regulatórias no envelhecimento, conforme a literatura. Cada eixo representa a frequência (%) de idosos que apresentaram alta produção de cada citocina. Os valores de cada eixo podem ser conectados para formar uma área poligonal central que representa o equilíbrio global pró-inflamatório versus regulatório, com um círculo central representando 50% da frequência. O aumento ou diminuição da área poligonal central reflete uma contribuição maior ou menor do perfil pró-inflamatório versus anti-inflamatório.

6.3 Análise de correlação por bioinformática

O gráfico de correlação de Spearman foi utilizado para avaliar a associação entre as citocinas e estimar a força dessa relação^{199,200}. Em dados correlacionados, a mudança na magnitude de uma citocina está associada a uma mudança na magnitude da outra, seja na mesma direção (correlação positiva) ou na direção oposta (correlação negativa). Os coeficientes de correlação variam de -1 a +1, no qual 0 indica que não há associação, enquanto a correlação fica mais positiva conforme se aproxima de +1 e mais negativa conforme se aproxima de -1. Não foi feito um intervalo de confiança para conclusão definitiva sobre a força da relação entre as citocinas. Por isso, avaliou-se para o presente estudo, apenas uma correlação relevante sobre a intensidade das cores.

7. Resultados

7.1 Características da amostra

Foram recrutados, para o presente estudo, 47 idosos de ambos os sexos (15 homens e 32 mulheres) com idade acima de 80 anos (média da idade de 89 ± 8 anos), representados na **Tabela 3**. As idades foram categorizadas nas seguintes faixas etárias: a) entre 80 e 90 anos (27 idosos, sendo 9 homens e 18 mulheres, com a média da idade de 84 ± 2.8 anos); b) entre 90 e 100 anos (11 idosos, sendo 5 homens e 6 mulheres, com a média da idade de 93 ± 2.8 anos) e c) acima de 100 anos (9 idosos, sendo 1 homem e 8 mulheres, com a média da idade de 102 ± 2.6 anos). A escolha de tais faixas etárias foi baseada no crescimento da população idosa no Brasil acima de 80 anos e uso de intervalos de idade de 10 anos minimiza o registro incorreto da idade, bem como nos permite uma melhor descrição das variações em função da idade.

A **Tabela 3** também descreve os principais dados sociodemográficos e de saúde da amostra. Devido a perda de informações, não contamos com dados completos de todos os participantes. Em relação à escolaridade, 43 participantes foram classificados (91,5% da amostra total), sendo 32,5% analfabetos (sem escolaridade), 35% de 1 a 4 anos de estudo e 32,5% de 5 a 8 anos de estudo. Dos 46 idosos avaliados com relação à presença de comorbidades (98% da amostra), 45 idosos foram apresentavam comorbidades leves e um participante não apresentou comorbidades. Todos os participantes com comorbidades apresentavam doenças crônicas leves: diabetes (14%), hipertensão arterial (66%), hipotireoidismo (13%), depressão (35,5%), sarcopenia provável (46%), osteoartrite (52%) e nenhum (0%) possuía neoplasias ativas. Os idosos que não eram independentes para as AVDs diárias e que possuíam doenças mais graves como doença de Alzheimer, Parkinson, insuficiência cardiorrespiratória, dentre outras, não foram incluídos no presente estudo. Em relação ao índice de massa corporal (IMC), foram coletados os dados de altura e peso de 72% da amostra total, representando um $n=34$. Desses idosos, 15% estavam com baixo peso, 41% eutróficos, 18% com sobrepeso e 27,5% com obesidade. Embora alguns idosos possuísem osteoartrite, nenhum deles fazia uso de anti-inflamatórios. Nenhum dos participantes apresentava sinais de infecção ou estava em tratamento com antibióticos.

Tabela 3 - Caracterização demográfica, socioeconômica e de saúde idosos acima de 80 anos atendidos no ambulatório de envelhecimento saudável do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais (HC/UFGM) nos anos de 2018 e 2019.

	Média ± DP	Frequência (%)
<i>Variáveis sociodemográficas</i>		
Idade (anos; n=47)	89,4 ± 7,8	-
Faixa etária (anos; n=47)		
80 a 89	-	57,5
90 a 99	-	23,5
≥ 100	-	19
Sexo (n=47)		
Feminino	-	68
Masculino	-	32
Escolaridade (anos de estudo; n=43)		
Sem escolaridade	-	32,5
1 a 4 anos	-	35
5 a 8 anos	-	32,5
<i>Variáveis relacionadas à saúde</i>		
Comorbidades (n=46)		
Diabetes Mellitus II	-	14
Hipertensão Arterial	-	66
Hipotireoidismo	-	13
Depressão	-	35,5
Sarcopenia provável	-	46
Osteoartrite	-	52
Neoplasias ativas	-	0
IMC (kg/m²; n=34)		
Baixo peso (< 22,0)	21,25 ± 0,35	15
Eutrofia (22,0 – 26,9)	24,54 ± 1,63	41
Sobrepeso (27,0 – 29,9)	27,70 ± 0,85	18
Obesidade (≥30,0)	31,29 ± 1,54	27,5

Nota: DP = desvio padrão; % = frequência relativa simples; IMC= índice de massa corporal

7.2 Medidas de funcionalidade descritas por Fried e Moraes

Conforme descrito na **Tabela 4**, os participantes foram classificados segundo o Fenótipo de fragilidade descrita por de Fried e colaboradores¹⁸⁰ e conforme a Classificação clínico-funcional proposta por Moraes¹⁷².

Tabela 4: Estratificação dos idosos acima de 80 anos atendidos no ambulatório de envelhecimento saudável do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais (HC/UFGM) nos anos de 2018 e 2019, segundo critérios do fenótipo de fragilidade e da classificação clínico-funcional.

Fenótipo de Fragilidade ¹				Classificação clínico-funcional ²		
(n=46)				(n=47)		
Faixa Etária (anos)	Não-frágil (n=23)	Pré-frágil (n=13)	Frágil (n=10)	Robusto (n= 27)	Em risco de fragilidade (n=11)	Frágil (n=9)
80 - 89	18	8	0	23	5	0
90 - 99	5	5	1	4	6	0
≥ 100	0	0	9	0	0	9

Nota: Segundo o fenótipo de fragilidade de Fried¹⁸⁰, o idoso “não-frágil” é definido pela ausência de sinais de fragilidade. A presença de um ou dois sinais os define como “pré-frágil”, enquanto três ou mais os define como “frágil”. Segundo a classificação clínico-funcional de Moraes¹⁷², a estratificação do idoso “robusto” é entre a escala 1 e 3, “em risco de fragilidade” entre a escala 4 e 5 e “frágil” acima da escala 5 (6 em diante).

Com base nos critérios descritos por Fried et al.¹⁸⁰ (98% da amostra total), 22% (n=10) foram classificados como frágil, 28% (n=13) como pré-frágil e 50 % (n=23) como robustos (**Tabela 4**). Na mesma tabela, segundo a classificação proposta por Moraes et al.¹⁷² (100% da amostra total), 19% (n=9) foram classificados como frágil, 23,5% (n=11) em risco de fragilidade e 57,5% (n=27) como robustos.

Para confirmar que os idosos classificados como frágeis eram, na sua maioria, centenários, foi realizada a correlação da idade com fragilidade utilizando ambos os critérios **Figura 4 (A e B)**.

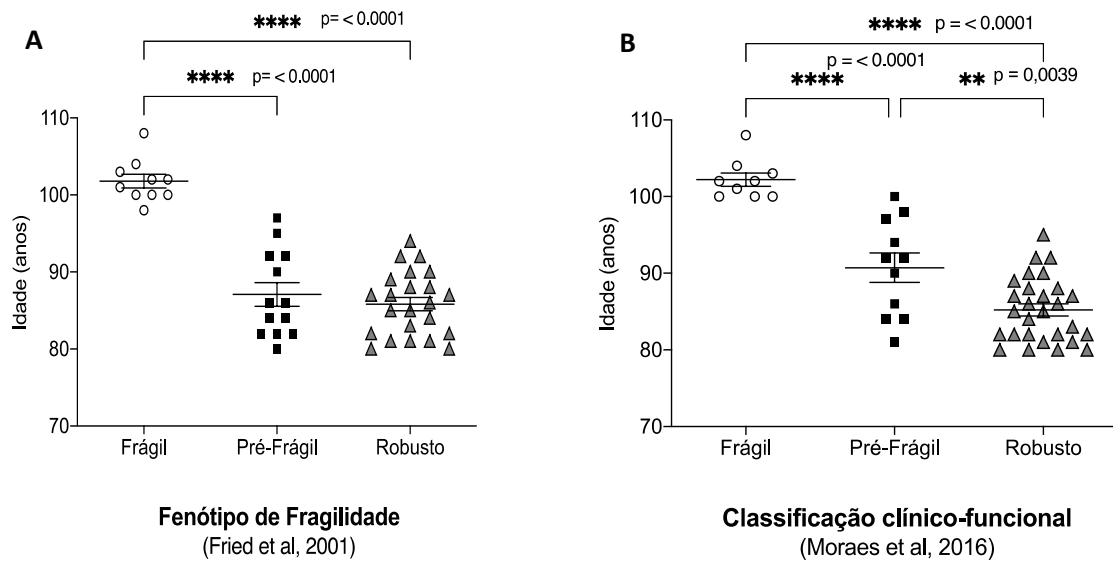


Figura 4 - Comparação da idade em diferentes faixas etárias em relação ao fenótipo de fragilidade de Fried¹⁸⁰ (A) e a classificação clínico-funcional de Moraes¹⁷² (B). A idade está representada em anos em relação às classificações de fragilidade. Os círculos em branco representam os idosos classificados como “frágeis”. Os quadrados em preto representam idosos classificados como “pré-frágeis” e os retângulos em cinza representam os idosos classificados como “robustos”. Um total de 47 indivíduos foram incluídos. Cada figura geométrica representa um participante. **p<0,01; ***p<0,001 ****p<0,0001.

No geral, de acordo com Moraes et al.¹⁷², 100% dos indivíduos frágeis eram centenários e segundo Fried et al.¹⁸⁰, além de todos os centenários serem classificados como frágeis, um participante quase centenário (98 anos) foi também classificado como frágil. Observa-se ainda, na **Figura 4**, que os indivíduos com idade mais avançada, ou seja, acima de 95 anos, apresentaram uma maior incapacidade funcional. Como já relatado, ser centenário (independentemente do seu estrato funcional) foi um dos critérios de inclusão no estudo. Considera-se que esses indivíduos, apesar da sua fragilidade, tiveram um envelhecimento bem-sucedido uma vez que conseguiram atingir uma idade mais avançada¹⁹⁷.

7.3 Relação entre os critérios de funcionalidade, biomarcadores plasmáticos e hemograma

Analizamos também o perfil de citocinas/quimiocinas circulantes no plasma relacionadas ao *inflammaging* e ao remodelamento do sistema imune durante o envelhecimento. Esse perfil foi relacionado com as faixas etárias e com o estado de funcionalidade de cada indivíduo.

Os dados do hemograma estão representados nas **Tabela 5 e 6**. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos segundo as escalas de Moraes¹⁷² e Fried¹⁸⁰.

Tabela 5 - Parâmetros hematológicos de idosos categorizados segundo Fenótipo de Fragilidade, nos anos de 2018 e 2019 em Belo Horizonte/MG

Fenótipo de Fragilidade¹				
Parâmetros	Frágil Mediana (25-75%)	Pré-frágil Mediana (25-75%)	Robusto Mediana (25-75%)	p-valor*
Contagem de leucócitos (10³/mm³)	6,4 (4,6-8,1)	5,5 (3,3-7,3)	6,1 (4,8-6,9)	0,4603
Hemoglobina (g/dL)	12,7 (11,70-16,2)	12,8 (11,7-13,9)	13,2 (12,4-15,1)	0,6239
Plaquetas (10³/mm³)	262 (134,5-300)	182,5 (118,5-236,3)	158 (117-192,8)	0,1897
Procalcitonina (%)	186 (112-217,5)	133 (96,5-180,5)	124 (99-154,8)	0,2413
Linfócitos (%)	20,6 (12,65-26,3)	18,9 (11,7-32,3)	17,1 (13,5-23,9)	0,8095
Monócitos (%)	14,6 (10,6-18,7)	13,5 (8,9-18,1)	13,9 (8,7-18,5)	0,8190
Granulócitos (%)	68,5 (59,9-76,7)	61,3 (55,7-77,9)	65,5 (62,2-73,6)	0,6553

Nota: *Valor p: Teste não paramétrico de Kruskal-Wallis com post-hoc Dunns. $p > 0,05$ = sem significância estatística. Mediana com intervalo interquartil: representado por 25%=primeiro interquartil (inferior) e 75%=terceiro interquartil (superior). ¹Fenótipo de fragilidade segundo Fried et al.¹⁸⁰.

Tabela 6 - Parâmetros hematológicos na amostra de idosos categorizados segundo classificação clínico-funcional, nos anos de 2018 e 2019 em Belo Horizonte/MG

Classificação clínico-funcional¹				
Parâmetros	Frágil Mediana (25-75%)	Em risco de fragilidade Mediana (25-75%)	Robusto Mediana (25-75%)	Valor p*
Contagem de leucócitos (10³/mm³)	6,4 (4,1-7,7)	5,7 (3,7-9,1)	6,1 (4,3-6,9)	0,8170
Hemoglobina (g/dL)	13,2 (11,5-16,3)	12,6 (11,2-15,2)	13,2 (12,4-15)	0,5205
Plaquetas (10³/mm³)	226 (119,3-301,5)	177 (130,5-250)	166,5 (114,3-207,3)	0,3773
Procalcitonina (%)	163 (99-219,8)	123 (112,5-189)	127 (96-168)	0,3588
Linfócitos (%)	21,4 (10,3-26,7)	22,8 (15,2-31,7)	17,1 (11,9-26,7)	0,5243
Monócitos (%)	16,1 (11,2-19)	14,5 (9,2-19)	12,3 (8,7-18,5)	0,5797
Granulócitos (%)	64,3 (59,8-77,5)	61,6 (51,4-75,7)	66,4 (62,2-73,6)	0,3608

Nota: *Valor p: Teste não paramétrico de Kruskal-Wallis com post-hoc Dunns. $p > 0,05$ = sem significância estatística. Mediana e intervalo interquartil: representado por 25%=primeiro quartil (inferior), e 75%=terceiro quartil (superior). ¹Classificação clínico-funcional segundo Moraes et al.¹⁷²

No geral, detectamos um maior número de biomarcadores plasmáticos significativamente aumentados nos idosos classificados segundo o Fenótipo de fragilidade¹⁸⁰ em comparação com a Classificação clínico-funcional¹⁷², bem como maiores diferenças entre os grupos classificados pelo estado de fragilidade quando comparados aos grupos classificados por faixas etárias. Os valores numéricos estão incluídos no **Anexo 3**.

Quando comparadas indivíduos de faixas etárias diferentes a concentração de G-CSF ($p=0,0396$) e MIP-1 α ($p=0,0438$) foram significativamente maiores em idosos acima de 100 anos em comparação com indivíduos da faixa etária entre 80-89 anos (**Figura 5 A e B**).

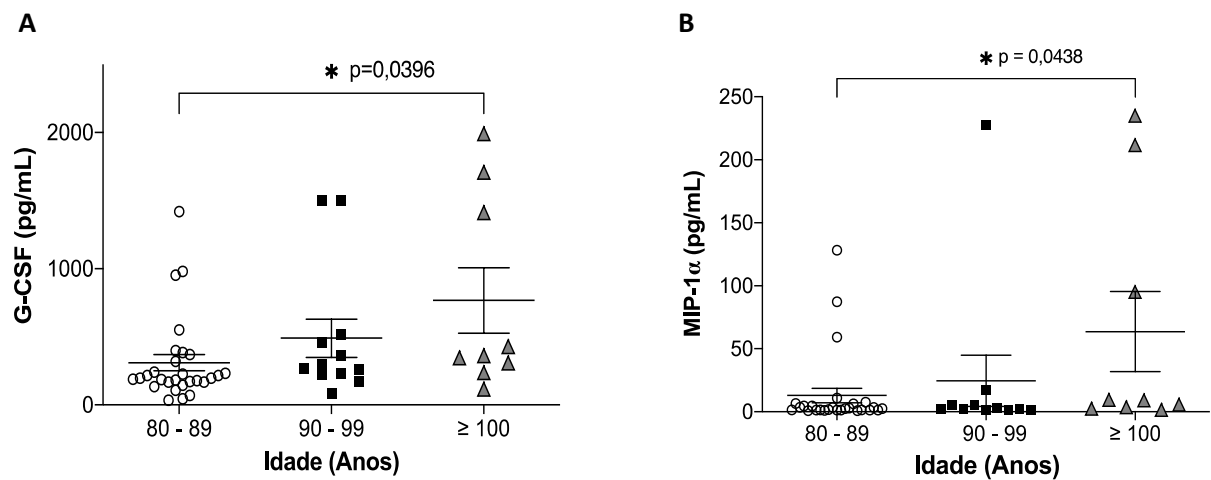


Figura 5 – Níveis de citocinas plasmáticas (em pg/mL) em indivíduos de diferentes faixas etárias (em anos) **(A)** Os níveis de G-CSF (pg/mL) e de **(B)** MIP-1 α (pg/ml) foram medidos por ensaio Luminex. Os círculos brancos representam idosos entre 80-89 anos; os quadrados pretos, os idosos entre 90-99 anos e os retângulos cinza, os idosos ≥ 100 anos. Um total de 47 amostras foram incluídas. Cada figura geométrica representa um participante. * $p<0,05$.

Observamos um aumento significativo na produção de IL-5 nos indivíduos do grupo frágil ($p=0,0332$) e em risco de fragilidade segundo a classificação clínico funcional¹⁷², **(Figura 6)**.

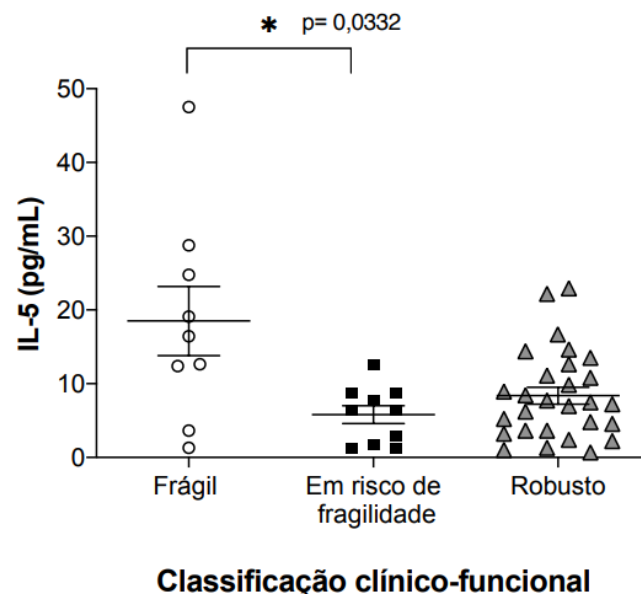
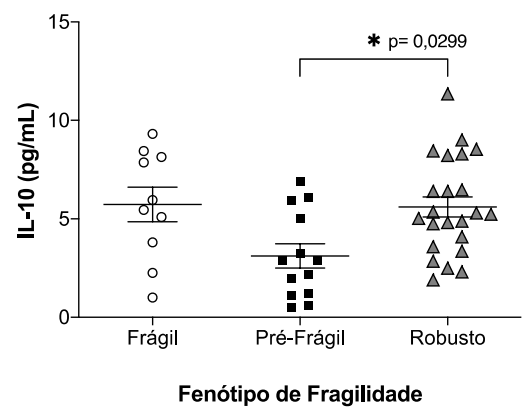
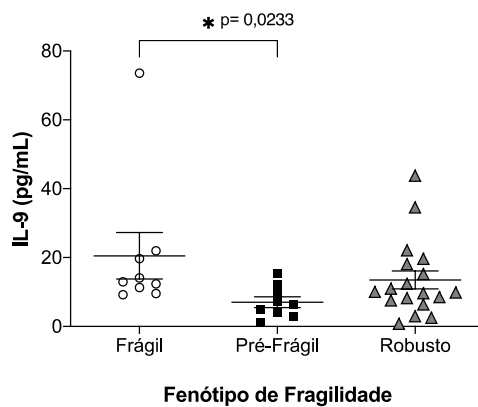
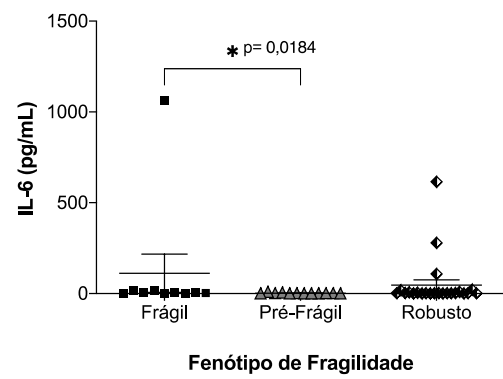
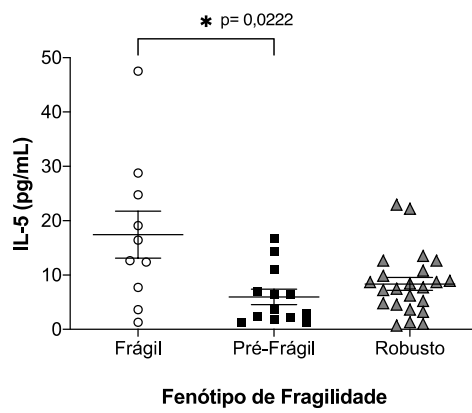
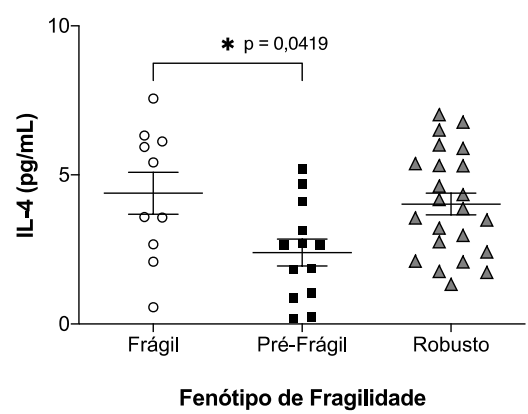
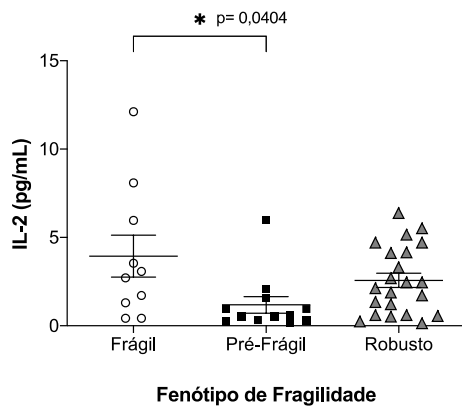
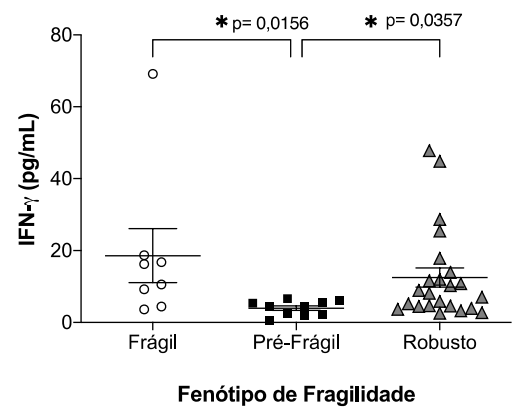
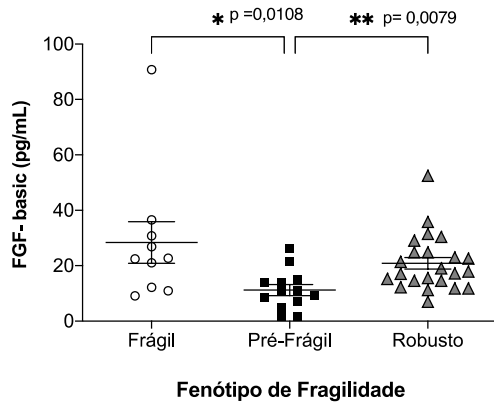


Figura 6 – Comparação dos níveis plasmáticos de IL-5 (pg/mL) em indivíduos classificados pela escala clínico-funcional de Moraes et al.¹⁷². A concentração de IL-5 no plasma foi medida por Luminex. Os círculos brancos representam os idosos frágeis (centenários e quase centenário). Os quadrados pretos representam os idosos em risco de fragilidade e os retângulos cinza representam os idosos robustos. Um total de 47 amostras foram incluídas. Cada figura geométrica representa um participante. * $p<0,05$.

Na **Figura 7**, os idosos frágeis e pré-frágeis classificados pelo Fenótipo de fragilidade¹⁸⁰ apresentaram diferenças significativas para os seguintes biomarcadores imunológicos: FGF-b, IFN- γ , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-13, IL-15, MCP-1. Observamos o aumento dos níveis de FGF-b, IFN- γ , e MCP-1 nos indivíduos dos grupos Frágil e Robusto quando comparados com o grupo Pré-frágil. As citocinas IL-2, IL-4, IL-6, IL-9 e IL-13 estavam aumentadas no grupo Frágil quando comparado ao grupo Pré-frágil. As citocinas IL-10 e IL-17 estavam aumentadas no grupo Robusto quando comparado ao grupo Pré-frágil. É relevante mencionar que não houve diferença significativa entre os idosos frágeis (centenários e quase centenário) e os robustos (em nenhuma das 2 escalas de classificação utilizadas) sugerindo uma semelhança entre esses dois grupos em relação ao grupo Pré-frágil.



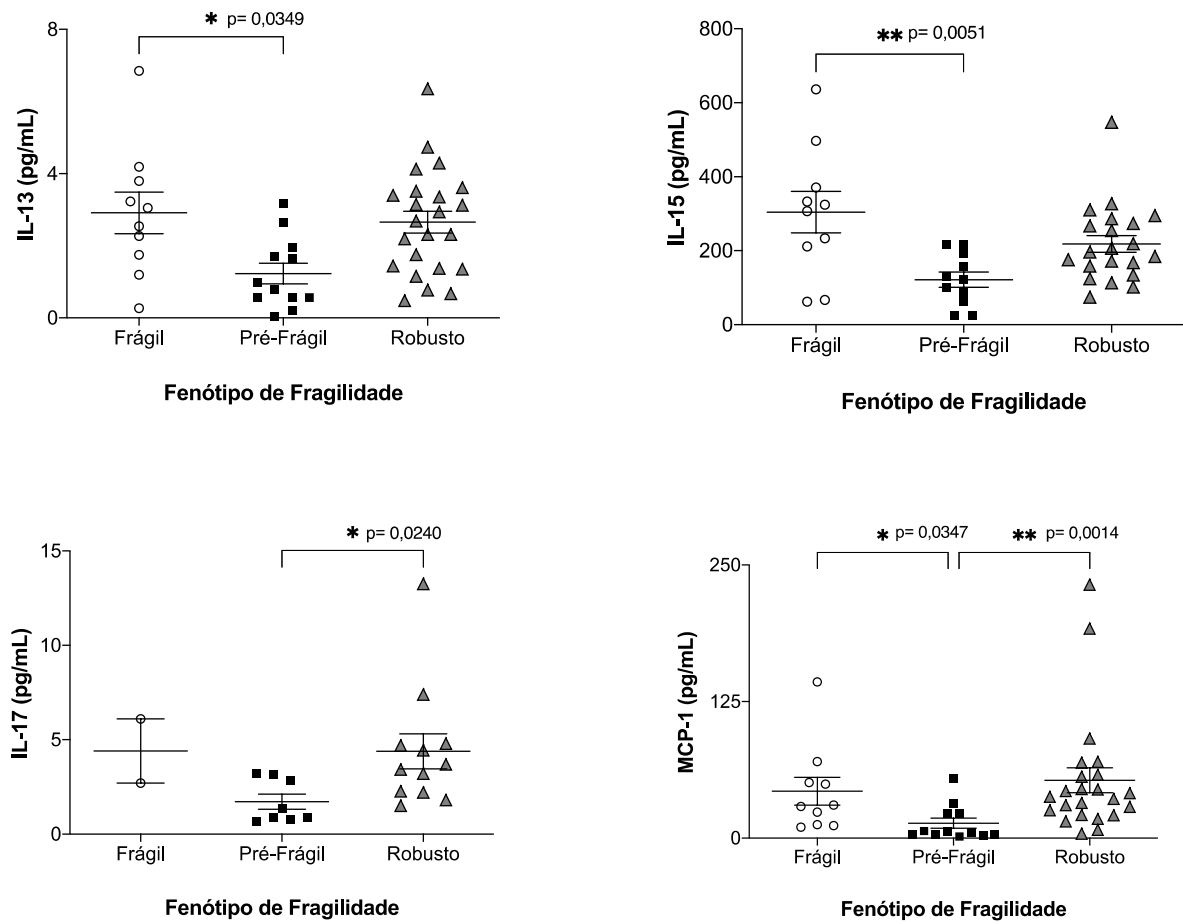
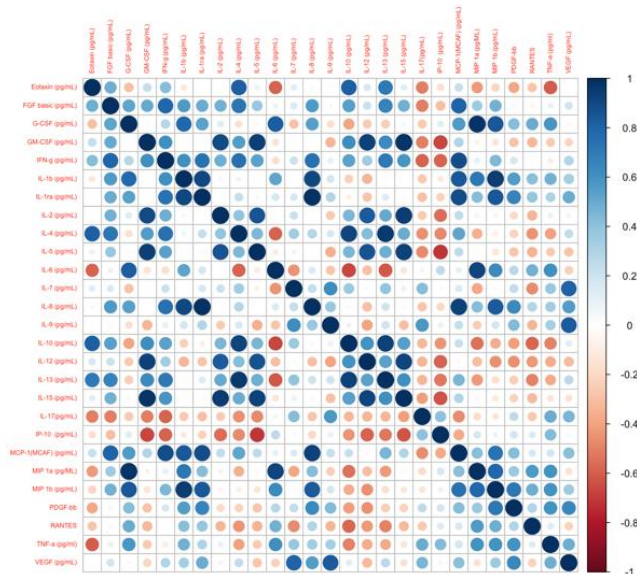


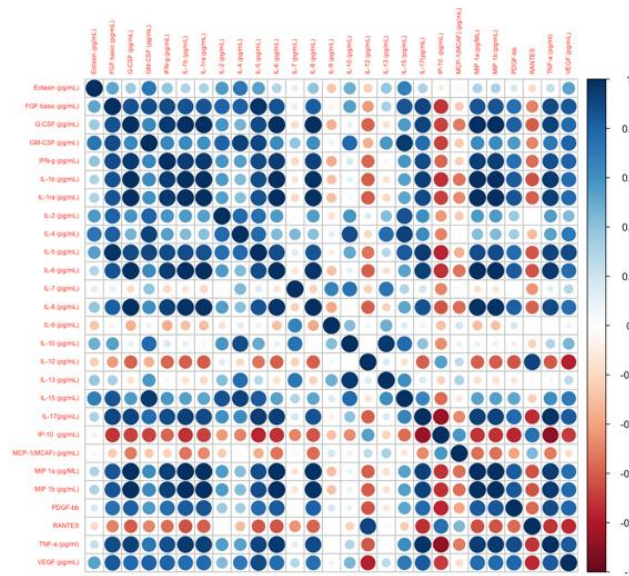
Figura 7 – Comparação dos níveis plasmáticos de citocinas/quimiocinas (pg/mL) em indivíduos com diferentes fenótipos de fragilidade¹⁸⁰. As concentrações de citocinas/quimiocinas foram medidas por Luminex. Os círculos brancos representam os idosos frágeis (centenários e quase centenário); os quadrados pretos, os idosos em risco de fragilidade e os retângulos cinza, os idosos robustos. Um total de 46 amostras foram incluídas. Cada figura geométrica representa um participante. *p<0,05 e **p<0,01.

A correlação entre os 27 biomarcadores imunológicos foi analisada pelo método de correlação de Spearman. Uma correlação maior entre as citocinas foi observada particularmente no grupo de centenários quando os indivíduos foram separados por faixa etária (**Figura 8**), por fragilidade pela escala de Fried¹⁸⁰ (**Figura 9**) ou Moraes¹⁷² (**Figura 10**), através da intensidade das cores (azul mais intenso = correlação forte). Além disso, os resultados também sugeriram diferenças de intensidade de cores em relação ao grupo “pré frágil” de Fried¹⁸⁰ e “em risco de fragilidade” de Moraes¹⁷². No grupo robusto, caracterizado por ambas as escalas, nota-se menos intensidade de cores e, conseqüentemente, uma correlação mais fraca entre as citocinas.

Faixa etária (80-89 anos)



Faixa etária (90 -99 anos)



Faixa etária acima de 100 anos

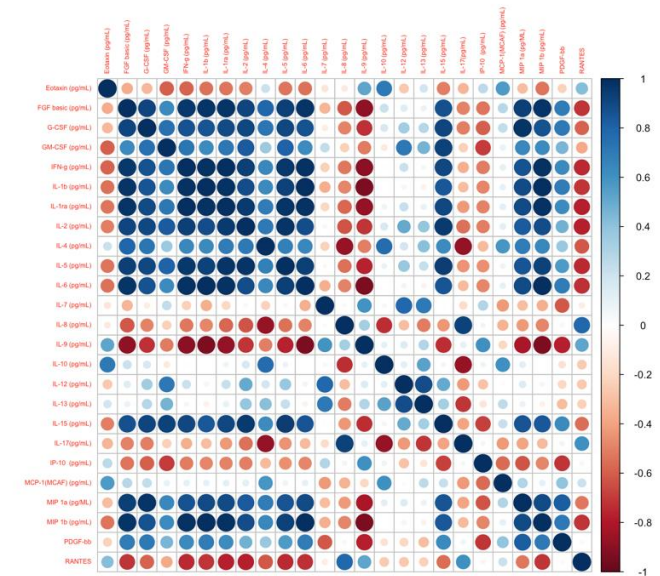


Figura 8: Gráfico de correlação de Spearman por faixa etária. A força da correlação entre as citocinas é representada pela cor do círculo na interseção dessas variáveis. As cores variam de azul mais intenso (correlação positiva forte = 1,0) a vermelho mais intenso (correlação negativa forte = - 1,0). Os resultados não foram eliminados quando $p > 0,05$.

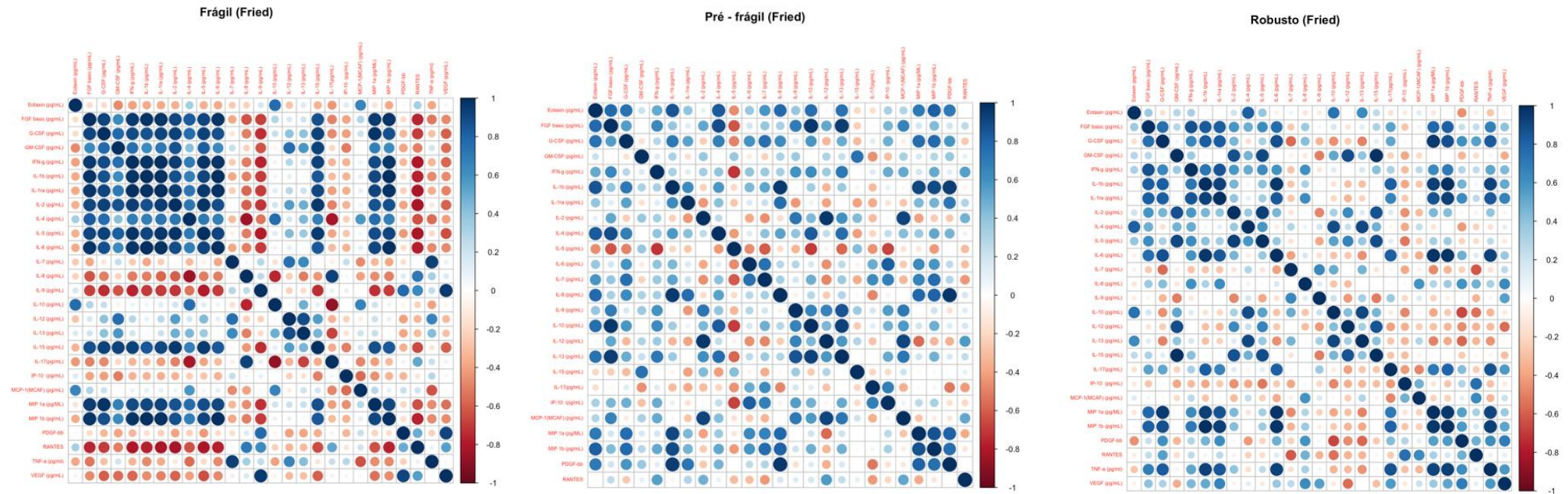


Figura 9: Gráfico de correlação de Spearman segundo fenótipo de fragilidade¹⁸⁰. A força da correlação entre as citocinas é representada pela cor do círculo na interseção dessas variáveis. As cores variam de azul mais intenso (correlação positiva forte = 1,0) a vermelho mais intenso (correlação negativa forte = -1,0). Os resultados não foram eliminados quando $p > 0,05$

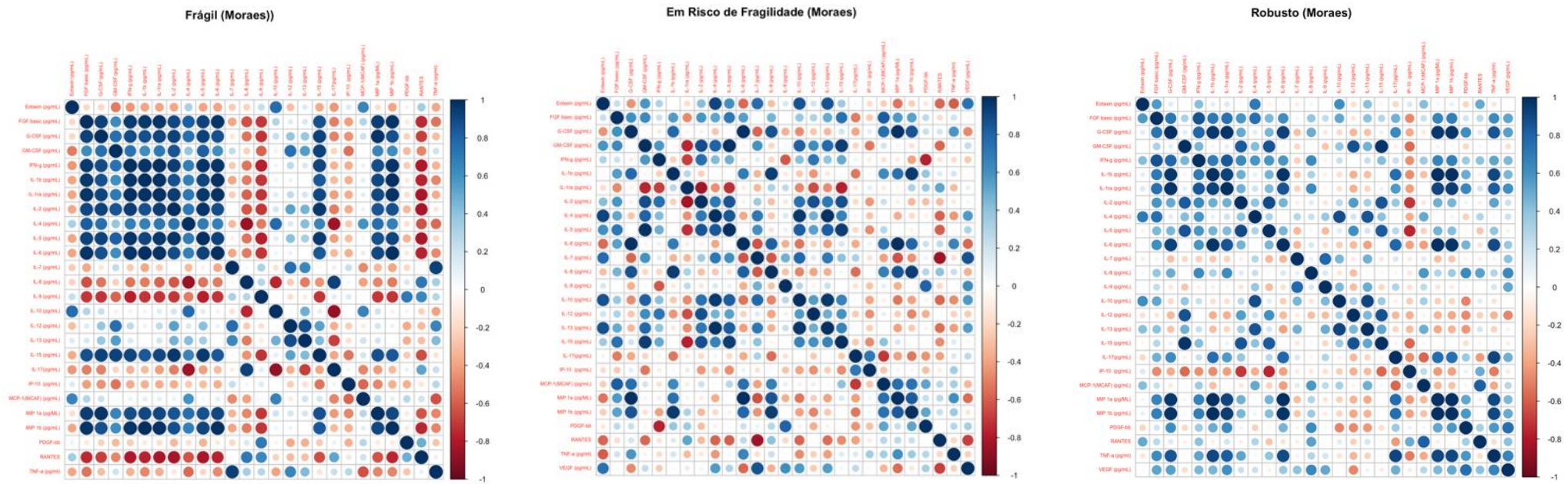


Figura 10: Gráfico de correlação de Spearman segundo classificação clínico-funcional¹⁷². A força da correlação entre as citocinas é representada pela cor do círculo na interseção dessas variáveis. As cores variam de azul mais intenso (correlação positiva forte = 1,0) a vermelho mais intenso (correlação negativa forte = - 1,0). Os resultados não foram eliminados quando $p > 0,05$.

Para os gráficos em radar (**Figura 11 e 12**), analisamos de forma global todos os 27 biomarcadores investigados. Os dados do gráfico, ilustram o perfil global de citocinas/quimiocinas nos idosos acima de 80 anos da amostra estudada, segundo os critérios funcionais de Fried¹⁸⁰ (**Figura 11, A,B,C**) e a classificação clínico-funcional de Moraes¹⁷² (**Figura 12, A,B,C**). A classificação de citocinas pró-inflamatórias versus as citocinas anti-inflamatórias leva em consideração a sua funcionalidade em relação ao envelhecimento. Como descrito na literatura, o envelhecimento saudável envolve mecanismos de remodelamento e equilíbrio entre a produção de citocinas pró-inflamatórias e anti-inflamatórias, embora as citocinas inflamatórias sejam mais relacionadas às doenças crônicas que acometem os idosos, enquanto as citocinas anti-inflamatórias, estão mais envolvidas no controle da inflamação¹⁷. Nessa análise, as citocinas inflamatórias estão representadas em barras rosas claras e as anti-inflamatórias em barras verdes.



Figura 11: Perfil global de citocinas/quimiocinas nos idosos acima de 80 anos de Belo Horizonte, segundo fenótipo de fragilidade por Fried e colaboradores¹⁸⁰. O Gráfico em radar mostra a alta frequência dos níveis de citocinas inflamatórias ou anti-inflamatórias e a contribuição de cada uma nas diferentes categorizações (frágil, em risco de fragilidade e robusto). Os idosos classificados como robusto e pré-frágil são >95 anos (representando na sua grande maioria os centenários).

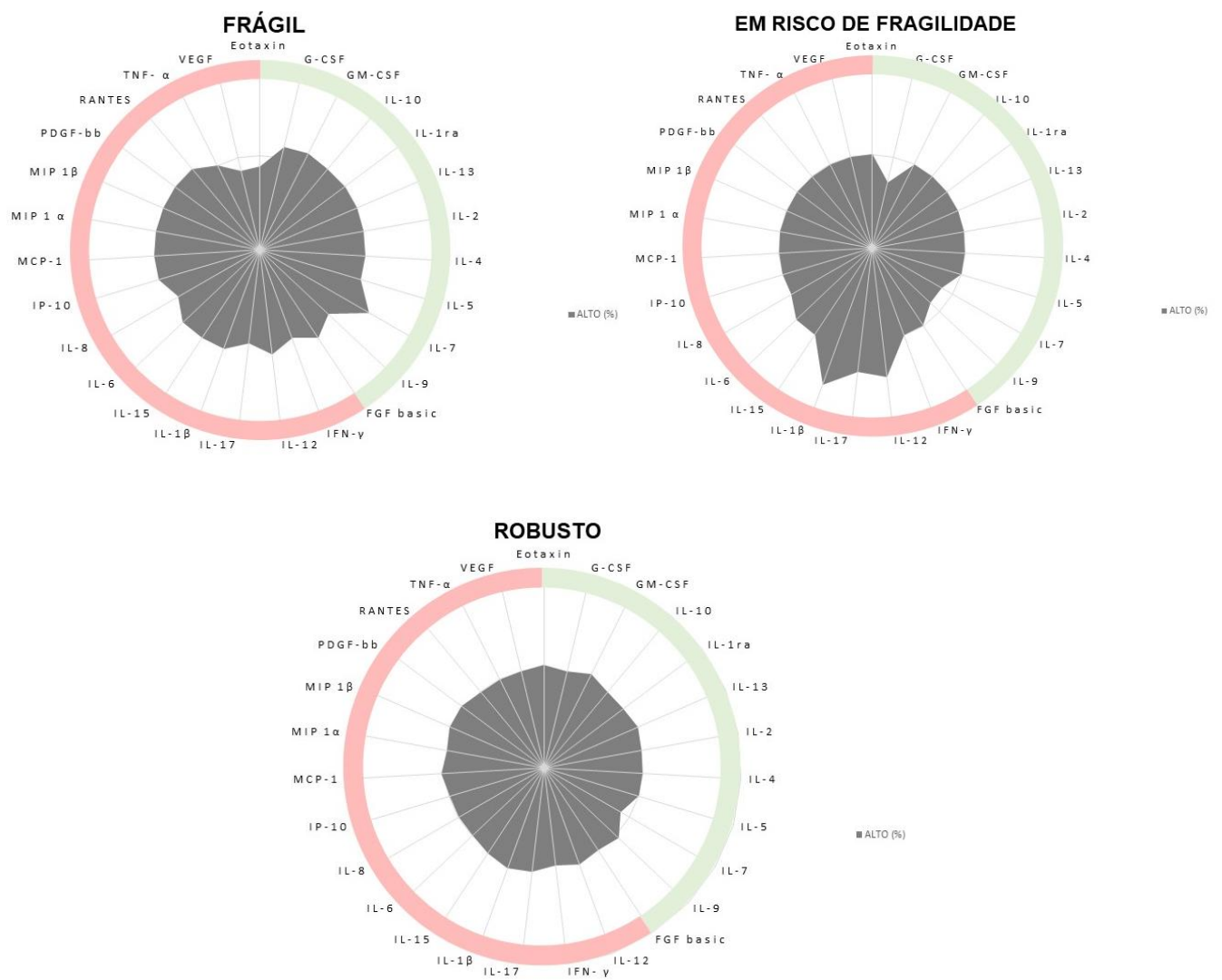


Figura 12: Perfil global de citocinas/quimiocinas nos idosos acima de 80 anos de Belo Horizonte, segundo a classificação clínico-funcional por Moraes e colaboradores¹⁷². O Gráfico em radar mostra a alta frequência dos níveis de citocinas inflamatórias ou anti-inflamatórias e a contribuição de cada uma nas diferentes categorizações (frágil, em risco de fragilidade e robusto). Os idosos classificados como robustos e em risco de fragilidade estão entre 80 e 99 anos e os idosos frágeis são exclusivamente os centenários.

Ao avaliar idosos robustos sem sarcopenia provável em comparação com todos aqueles com sarcopenia provável (**Figura 13**), observamos diferenças estatisticamente significativas apenas na classificação clínico funcional, segundo os critérios de Moraes e colaboradores¹⁷², nas citocinas IL-4 ($p=0,457$), IL-13 ($p=0,0229$) e G-CSF ($p=0,0227$).

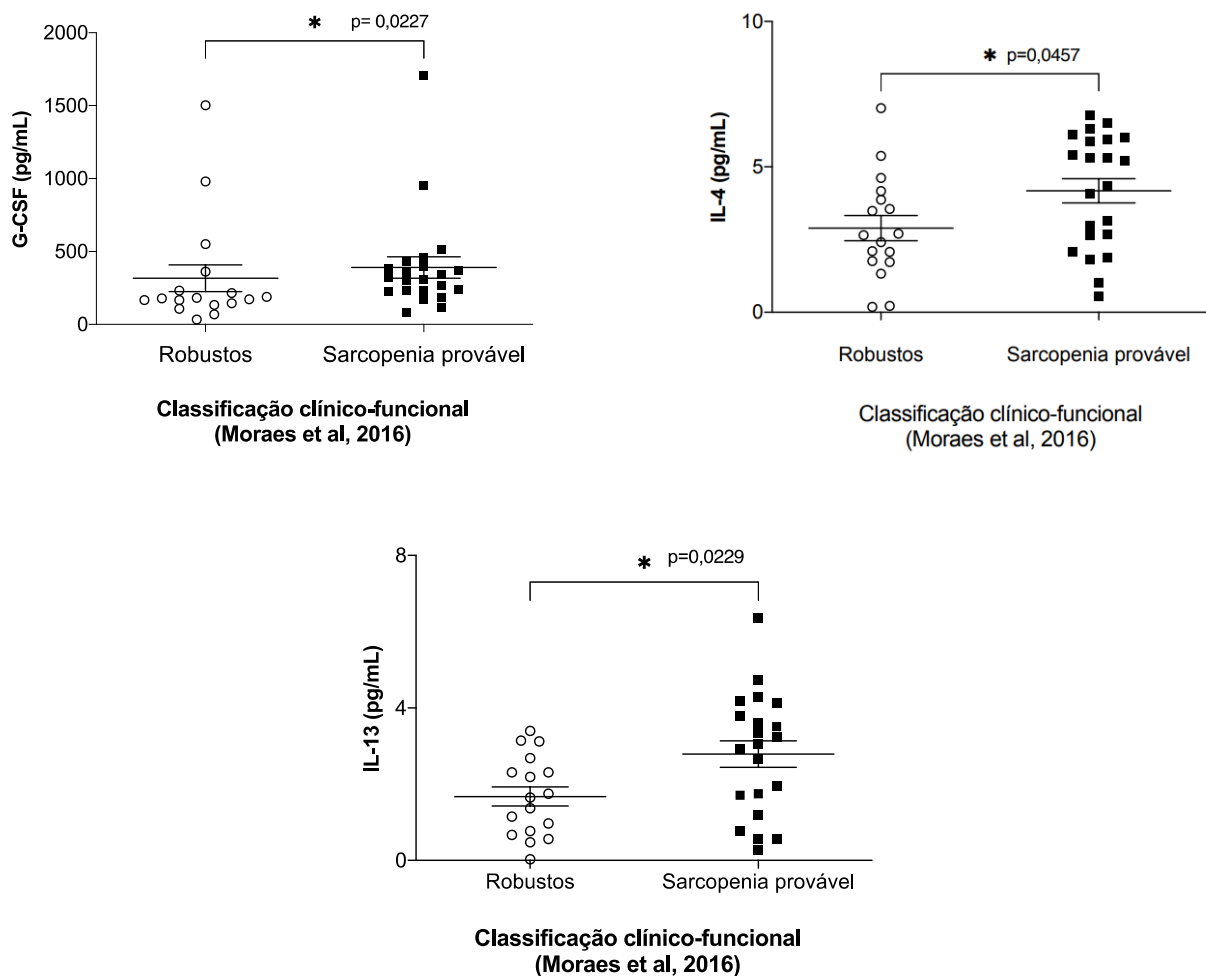


Figura 13 – Comparação dos níveis de citocinas/quimiocinas (pg/mL) em relação aos idosos classificados como robustos sem sarcopenia e com sarcopenia provável. Os círculos brancos representam os idosos robustos sem sarcopenia provável e os quadrados pretos representam os idosos classificados com sarcopenia provável, segundo critérios de Moraes e colaboradores¹⁷². Cada figura geométrica representa um participante. * $p<0,05$.

8. Discussão

O *inflammaging* foi inicialmente postulado como um fenômeno que possui efeitos deletérios no envelhecimento, como as doenças crônicas, o declínio cognitivo, bem como a diminuição da massa e força muscular^{59,96,134}. A inflamação é um processo comum tanto no envelhecimento fisiológico, quanto nas doenças crônicas^{124,201-203} e, embora o *inflammaging* seja uma característica da população idosa frágil, essa inflamação persistente e de baixo grau também está presente nos idosos sem comorbidades, independentes, robustos e com extrema longevidade^{86,159,160}. Diversos trabalhos demonstraram que o próprio processo de envelhecimento desencadeia inúmeras mudanças que afetam o sistema imune e a produção alterada das citocinas está entre as mais importantes^{17,55,204,205}.

Como já mencionado neste trabalho, todos os centenários foram incluídos no estudo independentemente do seu estrato funcional. O motivo para tal seleção é devido ao fato de que os centenários são um exemplo de envelhecimento saudável, pois além de terem atingido a longevidade extrema, contém todos os sinais e características de um envelhecimento bem sucedido. Assim, podemos considerar que estudar estes indivíduos é de grande importância para entender o processo e as consequências do envelhecimento. Em relação aos resultados, observamos um aumento significativo da citocina G-CSF (fator estimulador de colônias de granulócitos) e da quimiocina MIP-1 α (proteína inflamatória de macrófagos-1 α), no grupo dos centenários em comparação com os indivíduos da faixa etária de 80-89 anos. O G-CSF é uma citocina essencial para a geração de leucócitos a partir de células tronco hematopoiéticas^{206,207} e o seu aumento pode ser considerado um reflexo de resposta a sinais inflamatórios que estimulam a liberação e produção de neutrófilos na corrente sanguínea^{208,209}. A quimiocina MIP-1 α é um dos principais fatores produzidos por macrófagos com papel importante na diferenciação de progenitores da linhagem mielóide a partir de células tronco hematopoiéticas²¹⁰. Assim, considerando as mudanças que ocorrem ao longo do envelhecimento, o desvio preferencial na diferenciação das células hematopoiéticas em células do tipo mielóide e a diminuição da capacidade de produção de células linfóides, estão entre as alterações marcantes²¹¹⁻²¹⁶. Assim, o aumento dos níveis de G-CSF no grupo de centenários pode ser uma forma de adaptação do organismo para lidar com estressores externos e internos ao longo da vida e com a própria imunosenescência. Tanto o G-CSF, quanto a MIP-1 α , podem ser mediadores cujo aumento refletem exatamente o viés mielóide

da diferenciação hematopoiética durante o envelhecimento. Nesse sentido, ambos os mediadores podem ser parte dos mecanismos de remodelamento imune.

Embora haja um aumento de citocinas do tipo 2, as citocinas do tipo 1 normalmente são dominantes no envelhecimento, o que caracteriza o estado pró-inflamatório dos idosos²¹⁷. Com relação a origem da classificação dessas citocinas, foi descrito na década de 80 que os linfócitos Th1 murinos produzem mais IFN- γ e IL-2, enquanto os linfócitos do tipo Th2, produzem mais IL-4 e IL-5²¹⁸. Essa categorização se tornou clássica para os linfócitos Th também em humanos sendo que outros subtipos de linfócitos Th secretores de padrões distintos de citocinas foram acrescentados mais tarde ao painel de diferenciação dos linfócitos CD4⁺⁴. A imunosenescência é acompanhada de uma mudança no Th1/Th2⁹⁹. No entanto, é preciso ressaltar que as células da imunidade inata (células NK, por exemplo) são responsáveis por uma parte importante das citocinas do tipo 1 produzidas em idosos¹⁷. Neste estudo, observamos um aumento significativo da IL-5 no grupo frágil (centenários e quase centenário) classificador por ambos os critérios de fragilidade em comparação com o grupo pré-frágil (ou em risco de fragilidade), bem como um aumento de IL-4 e IL-13 em comparação com ambos os grupos, segundo o fenótipo de fragilidade proposto por Fried¹⁸⁰. Esses dados sugerem que o aumento das citocinas do tipo 2 como IL-4, IL-5 e IL-13, podem ter funções regulatórias por antagonizarem as ações das citocinas do tipo 1, pode fazer parte do complexo processo de remodelamento do sistema imune nos centenários, resultando em mecanismo de compensação do *inflammaging*⁸⁷.

Além das funções acima citadas, as citocinas IL-4, IL-5 e IL-13 são também consideradas importantes para a eliminação de parasitas intestinais como helmintos^{219,220}. A IL-4 e IL-5 são também mediadores das reações alérgicas e induzem o crescimento e diferenciação de eosinófilos²¹⁹. Assim, embora acredita-se que no envelhecimento haja um aumento na produção de citocinas do tipo 2, não existem relatos na literatura do aumento da incidência de alergias em idosos. Provavelmente, essas citocinas exercem, nos idosos saudáveis, um papel de contrabalancear o aumento paralelo na produção de citocinas do tipo 1 como IFN- γ .

Embora a IL-9 seja considerada uma citocina pleiotrópica, sua função é também frequentemente associada às alergias e ao seu papel na imunidade parasitária. Contudo, alguns estudos relatam também funções regulatórias dessa citocina, produzida principalmente por células Treg²²¹. Nos nossos dados, encontramos um aumento significativo da IL-9 em idosos frágeis (centenários e quase centenário) em comparação com aqueles classificados como pré-

frágil, segundo Fried¹⁸⁰. Embora não esteja claro a sua relação com o envelhecimento, podemos propor que esse aumento esteja relacionado com a elevação do perfil Th2 observado em idosos, principalmente os mais saudáveis e longevos, e sua consequente contribuição para o equilíbrio do *inflammaging*. Seu aumento no plasma em conjunto com as citocinas IL-4, IL-5 e IL-13, no entanto, também pode significar maior reatividade alérgica. Para esclarecer isto, seria importante a análise futura dos níveis de IgE e de infecções parasitárias nesses indivíduos.

Como uma consequência da imunosenescência, a disfunção de algumas células do sistema imune, especialmente os linfócitos T, pode reduzir a capacidade dos idosos em produzir IFN- γ , levando ao aumento na incidência de neoplasias e infecções⁹⁹. Como já mencionamos, um dos mecanismos de remodelamento no envelhecimento saudável é o aumento concomitante das funções das células NK (como citotoxicidade e produção de IFN- γ) que seriam, então, importantes para a proteção contra infecções, malignidades e estresse celular^{155,222,223}. Alguns estudos demonstraram que a citotoxicidade das células NK é bem preservada ou até mesmo aumentada em idosos saudáveis e centenários que atendem a critérios como melhor aptidão física, independência para realizar as atividades diárias ou melhor função cognitiva^{88,150-152}. Outros estudos mostraram aumento na produção de IFN- γ pelas células NK em idosos saudáveis, sugerindo melhor defesa contra infecções virais e parasitárias^{87,152,156,222}. Neste estudo, observamos um aumento nos níveis plasmáticos de IFN- γ na população idosa frágil (centenários e quase centenário) e robustos, em comparação com os idosos classificados como pré-frágil, segundo Fried¹⁸⁰. Nesse sentido, baseado na literatura, é tentador especular que, embora seja uma citocina pró-inflamatória, o aumento de IFN- γ pode ser considerado uma forma de remodelamento do sistema imune no sentido de compensar a perda da proteção imunológica que acompanha a disfunção das células T durante a imunosenescência.

A redução da sinalização intracelular é considerada uma das mudanças ocorridas na imunosenescência responsáveis pela redução na secreção de citocinas como IL-2 pelas células TCD4⁺ e TCD8⁺ em resposta aos antígenos^{55,70,224}. Por outro lado, outros não encontraram alterações em idosos saudáveis na faixa etária entre 60-80 anos de idade e em nonagenários^{95,108,225}. A citocina IL-2 também é importante na expansão e manutenção das células Treg Foxp3⁺ que expressam níveis mais elevados da cadeia α do receptor de IL-2 (CD25)^{226,227}. Considerando que o envelhecimento é acompanhado do aumento na frequência das células Treg Foxp3⁺ tímicas ou naturais, sugere-se que o aumento dos níveis de IL-2 seja

importante para a sua função regulatória nessa fase da vida²²⁸. O aumento da produção de IL-2 pode ainda contribuir para uma melhor atividade citotóxica das células NK em idosos saudáveis^{156,229}. Observamos um aumento significativo dos níveis plasmáticos de IL-2 nos idosos frágeis (centenários e quase centenário) em comparação com aqueles classificados como pré-frágeis, segundo Fried¹⁸⁰. Nesse sentido, sugerimos que o aumento da IL-2 nos idosos mais longevos, em especial nos centenários, além de favorecer uma melhor resposta citotóxica das células NK e uma melhor proteção às infecções durante a imunosenescência, também possui um papel na atividade das células Treg, contribuindo para um perfil mais equilibrado do *inflammaging* no envelhecimento. Nossos dados sugerem que o aumento da IL-2 em idades mais avançadas pode ser um fator que contribui para a longevidade e o envelhecimento mais saudável.

Em relação a citocina IL-10, não detectamos alterações nos níveis dessa citocina com o envelhecimento (nas diferentes faixas etárias), porém observamos diferenças estatisticamente significativas na concentração de IL-10 entre os idosos robustos e pré-frágeis, segundo Fried¹⁸⁰. A IL-10 é considerada uma potente citocina anti-inflamatória, que pode exercer um papel crítico no controle do *inflammaging*. Portanto, o seu aumento está associado a um menor risco de doenças crônicas e fragilidade^{134,142,167,230}. Foi o que observamos neste estudo no qual os níveis de IL-10 estavam aumentados no grupo de idosos robustos.

Embora considerada uma citocina pleiotrópica, a IL-6 possui uma potente atividade pró-inflamatória relacionada ao processo de envelhecimento e está fortemente associada com a fragilidade²³¹. Diversos estudos demonstraram a sua relação com o declínio da velocidade da marcha, aumento do risco de dependência funcional e susceptibilidade a doenças mais prevalentes nos idosos, como osteoporose e Alzheimer²³²⁻²³⁵. Apesar dos vários estudos mostrando que os níveis da IL-6 aumentam com a idade^{166,236}, não detectamos mudanças estatisticamente significativas entre os indivíduos das diferentes faixas etárias. Porém, em consonância com estudos anteriores²³⁷⁻²³⁹, nossos dados indicam uma associação positiva entre o aumento dos níveis de IL-6 no plasma e o declínio funcional observado no grupo frágil em comparação com o pré-frágil (classificados pela escala de Fried¹⁸⁰). É interessante ainda o aumento dos níveis de IL-6 nesse grupo, uma vez que, na nossa amostra, os idosos classificados como frágeis, são exclusivamente compostos por centenários e quase centenário.

O acúmulo de células senescentes que acompanha o envelhecimento é um outro fator que contribui para o *inflammaging* e vários componentes do fenótipo SASP, além da IL-6, já foram descritos. Dentre elas, cita-se a quimiocina MCP-1, conhecida como proteína

quimioatrativa de monócitos 1^{240,241}. O aumento da produção de fatores pro-inflamatórios que fazem parte do SASP está relacionado a uma maior disfunção tecidual aumentando a vulnerabilidade dos idosos à fragilidade^{242,243}. Em conformidade com um estudo anterior²⁰⁹ e embora alguns autores tenham relacionado o seu aumento com o envelhecimento^{113,127,128}, na nossa amostra não houve aumento dos níveis de MCP-1 nos idosos acima de 80 anos. Em contrapartida, curiosamente, observamos um aumento significativo dos níveis dessa quimiocina no grupo robusto em relação ao pré-frágil e, paralelamente, houve diferenças significativas entre o grupo frágil e o pré-frágil. Poderíamos sugerir, portanto, que este aumento dos níveis de MCP-1 no grupo frágil esteja relacionado com maior declínio funcional. No entanto, como o mesmo aumento ocorre no grupo robusto e o grupo frágil é composto de indivíduos longevos (centenários e quase centenário), essa semelhança com o grupo robusto atesta mais uma vez o caráter único e distintivo do grupo de centenários quando discutimos os critérios para caracterizar o envelhecimento como “saudável”.

Os níveis plasmáticos de FGF-b (fator de crescimento de fibroblastos) plasmáticos foram significativamente maiores nos idosos robustos e nos frágeis (centenários e quase centenários) em relação aos pré-frágeis, segundo os critérios de Fried¹⁸⁰. O estresse oxidativo aumenta com a idade e está relacionado com o aumento de subprodutos do metabolismo celular (espécies reativas de oxigênio), resultantes de infecções persistentes e da ativação constante do sistema imune inato¹⁰⁶. O desequilíbrio entre os níveis de oxidantes e antioxidantes e o consequente dano oxidativo, podem desencadear lesão celular e, no contexto do envelhecimento, esse tipo de lesão pode aumentar com a idade²⁴⁴. Ainda como consequência da imunosenescência, os mecanismos de reparo tecidual são menos eficientes, o que contribui para o aumento de doenças e do próprio processo de senescência¹⁷. Nesse sentido, os nossos dados sugerem que o aumento dos níveis de FGF-b nos robustos e nos mais longevos se relacionam a um melhor reparo tecidual que pode ser mais um mecanismo de remodelamento associado ao envelhecimento saudável.

A imunosenescência tem, como uma das suas principais características, a involução tímica^{137,245}. Vários autores sugerem que um certo grau de proliferação homeostática de linfócitos T naive na periferia seria um mecanismo de remodelamento do sistema imune, uma maneira de compensar pela perda do repertório dessas células T naive^{67,246-249}. Essa expansão homeostática ocorre também e principalmente nas células T de memória e pode ser impulsionada pela produção da citocina imunoestimuladora IL-15, mesmo na ausência de estímulos antigênicos^{70,250-254}. A sua função na proliferação homeostática das células NK

periféricas também é descrita^{148,255}. Um estudo em 30 indivíduos > 95 anos independentes e capazes de realizar atividade diárias normais mostra que esses idosos exibiram níveis significativamente maiores de IL-15 circulante quando comparados aos idosos entre 60-89 anos e entre indivíduos de 30-59 anos²⁵⁶. Em concordância com esse relato, nosso estudo demonstrou um aumento dos níveis plasmáticos de IL-15 nos idosos frágeis (centenários e quase centenário) em comparação com os idosos pré-frágeis, apontando este como mais um exemplo do processo de remodelamento em idosos mais longevos.

A IL-17 é uma citocina pró-inflamatória, que desempenha um importante papel na defesa imunológica, embora esta também esteja relacionada com várias doenças autoimunes como artrite reumatoide, esclerose múltipla e diabetes, para citar algumas¹⁰⁸. Um estudo anterior relatou que níveis reduzidos de Th17 no envelhecimento se correlaciona com aumento do risco de infecções e mostrou que ocorre um aumento na frequência de células Th17 efectoras em idosos saudáveis ≥ 65 anos, sugerindo um papel importante dessa citocina na defesa do hospedeiro²⁵⁷. No entanto, pouco se sabe sobre os efeitos da IL-17 durante o envelhecimento. Embora no nosso estudo 52% dos idosos sejam portadores de osteoartrite, o aumento de IL-17 foi característica dos idosos classificados como robustos em comparação com os idosos pré-frágeis segundo o fenótipo de Fried¹⁸⁰. Nesse sentido, é tentador especular que essa citocina possa contribuir para melhorar o desempenho imunológico e contribuir para o envelhecimento mais saudável nesses indivíduos. Porém, vale a pena mencionar a importância de uma análise futura de possíveis diferenças nos níveis dessa citocina entre os idosos com e sem osteoartrite.

A depressão é uma doença comum nos idosos e tem sido cada vez mais estudada a sua relação com o sistema imune. Apesar de alguns estudos correlacionarem citocinas inflamatórias e depressão⁹⁶, nosso estudo não pode confirmar essa relação, uma vez que o número de idosos com depressão na nossa amostra não foi suficiente para uma análise estatística adequada.

A sarcopenia acomete grande parte da população idosa e é considerada uma doença muscular esquelética, sendo uma das principais causas do declínio funcional²⁵⁸. Na prática clínica, a detecção de sarcopenia provável envolve a avaliação de alguns sinais e sintomas, tais como sensação de fraqueza, equilíbrio estático em pé, força de membros inferiores (MMII) através da tarefa de sentar-se e levantar-se da cadeira e a velocidade de marcha^{258,259}. Nesse sentido, do ponto de vista clínico, os idosos com sinais que apontavam para sarcopenia, foram classificados com “sarcopenia provável”. Como um viés, não foram associados, na

avaliação clínica, os testes que assegurassem o diagnóstico de sarcopenia, como a avaliação da composição corporal pelo método de densitometria por dupla emissão de raios X (DEXA). Considerando a importância da sarcopenia no declínio funcional²⁶⁰, decidimos avaliar se haveria diferença entre o perfil de citocinas dos idosos robustos sem sarcopenia provável em comparação com aqueles (independentes do estrato funcional) com sarcopenia provável. Observamos níveis plasmáticos significativamente aumentados de G-CSF, IL-4 e IL-13 nos idosos com sarcopenia provável quando comparados com os idosos robustos, segundo os critérios de Moraes¹⁷² e não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre os dois grupos quando foi utilizada a escala de Fried¹⁸⁰ para a classificação de fragilidade. O aumento de G-CSF nos idosos com sarcopenia provável, poderia desempenhar um papel de reparo do tecido muscular pelo aumento da produção de neutrófilos. Já foi relatado que a redução de neutrófilos no músculo pode contribuir para o aumento da susceptibilidade a lesão e a perda da qualidade de massa muscular²⁶¹. Por outro lado, o aumento de IL-4 e IL-13, com atividades regulatórias, poderia exercer um efeito inibitório sobre a migração desses neutrófilos nos idosos com sarcopenia, além de outras consequências ainda desconhecidas na atividade muscular²⁶².

Como as citocinas e quimiocinas são mediadores com funções variadas dependendo da sua concentração e, principalmente, do contexto onde elas atuam, decidimos incluir na nossa análise pelo menos um elemento desse contexto: a presença de outras citocinas. Para essa avaliação complementar do perfil inflamatório dos idosos, realizamos uma análise da correlação das citocinas entre si, segundo as faixas etárias e a classificação dos indivíduos pelos critérios de fragilidade (Moraes¹⁷² e Fried¹⁸⁰). Podemos observar que os centenários geraram um gráfico com maior intensidade de cores, ou seja, evidencia-se que existe uma forte correlação positiva ou negativa entre as citocinas/quimiocinas presentes, ao mesmo tempo, nesses indivíduos. A presença de um núcleo nesse grupo (em azul escuro) se destaca dos demais em relação às faixas etárias, bem como em relação à classificação de fragilidade por ambos os critérios de funcionalidade. Nota-se, portanto, correlações positivas fortes entre as citocinas IL-1 β , FGF-b, G-CSF, GM-CSF, IL-1ra, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IFN-g, IL-15, MIP-1 α , dentre outras. Esse gráfico de correlação indica, como já discutido acima, que a produção concomitante de várias dessas citocinas/quimiocinas caracteriza o processo de remodelamento (equilíbrio) que podemos associar ao envelhecimento saudável e à longevidade. Sobretudo, como descrito por Franceschi e Bonafé¹¹ (perceber que, apesar de mais fragilizados, os centenários são um grupo diferenciado dos demais e não devem ser

tratados da mesma maneira)¹¹. Embora essas conclusões necessitem de comprovação por um número maior de indivíduos, nossos dados até o momento sugerem que esse remodelamento, envolve a correlação positiva e negativa entre citocinas com ações muitas vezes antagônicas em um processo de equilíbrio dinâmico, que preserva os indivíduos dos efeitos deletérios do *inflammaging* e permite sua sobrevivência até uma idade avançada.

Um terceiro tipo de análise realizado, foi a avaliação geral do perfil global das citocinas, sem envolvimento de cálculos estatísticos convencionais, utilizando o Gráfico em Radar. Esse gráfico é uma maneira de comparar a contribuição de todas as citocinas/quimiocinas simultaneamente, utilizando a faixa de 50% dos níveis produzidos e, portanto, a representatividade de cada uma delas no perfil global. Diferentemente dos gráficos já discutidos, que realizam a análise isolada das citocinas, essa estratégia visual permite avaliar uma maior contribuição relativa de cada citocina comparada com as demais, segundo a categorização funcional dos idosos, de acordo com ambos os critérios^{172,180}. Observamos, em relação aos idosos classificados como pré-frágeis por Fried¹⁸⁰ e Moraes¹⁷², que algumas citocinas pró-inflamatórias (como IL-1 β e IL-12) ultrapassam a faixa de equilíbrio de 50%, se sobressaindo em relação às outras. Nos demais grupos, nota-se que tanto os idosos robustos quanto os frágeis (que se enquadram em idades mais avançadas como centenários e quase centenário), apresentaram uma tendência geral para um perfil mais equilibrado de citocinas/quimiocinas pró- e anti-inflamatórias. Nesse sentido, conforme descrito em outros diversos estudos, o gráfico em radar nos permite visualizar, ainda que em uma amostra reduzida de idosos, a comprovação da hipótese do remodelamento de que a longevidade e o envelhecimento mais saudável estão associados ao equilíbrio na produção sistêmica de citocinas/quimiocinas com ações inflamatórias e anti-inflamatórias. Este remodelamento pode tornar o organismo mais eficiente em resposta a estressores imunológicos ao mesmo tempo que garante o controle do *inflammaging*^{13,25,263}. Em concordância com esta ferramenta utilizada, um estudo anterior do nosso grupo avaliando a produção global de citocinas por células imunes inatas e adaptativas de indivíduos brasileiros (faixa etária de 0 a 85 anos) mostrou que diversas citocinas produzidas por leucócitos diferentes resultavam em distintas contribuições globais ao longo da vida⁸⁷.

Ainda em relação ao gráfico em radar, observamos que a citocina IL-12 no grupo pré-frágil se sobressai em relação às demais citocinas desse mesmo grupo e também em relação aos idosos classificados como robustos e frágeis segundo Fried¹⁸⁰. A IL-12 é uma citocina pró-inflamatória e a sua desregulação pode ter uma associação positiva com a fragilidade

física²⁶⁴. Essa mesma citocina também está envolvida no desempenho cognitivo²⁶⁵. Nossos dados preliminares sugerem que o equilíbrio da produção de IL-12 pode estar associado ao controle da fragilidade física e cognitiva²⁶⁴. Na classificação clínico funcional¹⁷², nota-se uma maior contribuição dos níveis da citocina IL-1 β no grupo em risco de fragilidade em comparação com as demais citocinas, bem como nos grupos frágeis e robustos. De fato, alguns estudos demonstraram que níveis mais elevados de IL-1 β estão positivamente associados com o desenvolvimento de demência^{265,266}. Em acordo com esses resultados, também observamos uma contribuição detectável de IL-1 β em idosos pré-frágeis com comprometimento cognitivo, sobretudo a memória.

Os dados do presente estudo devem ser interpretados dentro das suas limitações. Apesar da grande relevância em estudos imunogerontológicos sobre a patogênese da fragilidade e o papel da inflamação crônica na longevidade saudável, ainda é necessário estabelecer um critério padronizado na identificação da fragilidade, evitando a variabilidade dos estudos^{45,267}. Sem minimizar a importância das doenças e embora tenhamos considerado a importância atual de avaliar a função física e cognitiva, estratificamos os idosos segundo o Fenótipo de fragilidade¹⁸⁰, e a Classificação clínico-funcional¹⁷². Quando comparamos os dois critérios de classificação dos idosos, nossos dados relativos ao perfil de citocinas/quimiocinas plasmáticas sugerem que o estado exclusivamente físico (utilizado por Fried¹⁸⁰) parece discriminar melhor entre os grupos que apresentam alterações nos níveis circulantes dos biomarcadores imunológicos. Por outro lado, devemos relatar que apesar de ser um método bastante utilizado em pesquisas, este pode não ser o mais adequado para detectar indivíduos com declínio cognitivo mais avançado ou para prever e reconhecer riscos de fragilidade no idoso robusto ou pré-frágil^{182,268}. Nesse sentido, a razão para tais discrepâncias dos resultados em relação às duas escalas de avaliações de fragilidade pode ser a falta de clareza na literatura de uma definição única na forma de avaliar a fragilidade dos indivíduos, o que impacta na precisão e na sensibilidade dos biomarcadores individuais¹⁸².

Como um outro viés para o estudo, os centenários classificados como frágeis, mesmo com a longevidade extrema e com toda característica de um envelhecimento bem-sucedido, podem não se enquadrar adequadamente no perfil de idosos extremamente saudáveis. Portanto, vale mencionar que a categorização de centenários robustos, pré-frágeis e frágeis se mostra necessária para determinar uma longevidade excepcional, devido a sua heterogeneidade de capacidade física e cognitiva¹⁹⁷.

Devido ao número restrito de voluntários, não foi possível fazer uma associação dos

idosos com e sem comorbidades. Os idosos com doenças crônicas podem apresentar um número maior de componentes inflamatórios quando comparados àqueles sem doenças crônicas e estudos futuros devem incluir esses ajustes para investigar o melhor papel desses componentes na previsão da fragilidade.

Apesar das limitações, existem vários pontos fortes importantes neste estudo. Embora os critérios de fragilidade de Fried¹⁸⁰ tenham produzido mais diferenças estatisticamente significativas, a classificação clínico-funcional de Moraes permite uma caracterização mais completa e de maior relevância para outras definições de funcionalidade. A fragilidade cognitiva está associada ao aumento do risco de incapacidade funcional e, por isso, comparar dados imunológicos com a fragilidade física e o declínio cognitivo pode nos permitir desenvolver intervenções que previnam ambas as condições. A fragilidade parece fazer parte de um estado de transição entre a robustez e a incapacidade física e cognitiva^{269,270}. Na prática clínica, identificar marcadores imunológicos que estejam envolvidos tanto com a capacidade física, quanto com a capacidade cognitiva em idosos em risco de fragilidade (ou pré-frágeis) poderia auxiliar nas intervenções preventivas ou na redução da fragilidade nas suas fases iniciais, com o intuito de promover a manutenção da saúde (funções físicas, cognitivas e mentais mais preservadas) e um envelhecimento mais ativo e autônomo. Observamos ainda que existe uma falta de clareza na literatura sobre os perfis inflamatórios e sua relação com a categorização de indivíduos robustos, pré-frágeis e frágeis²⁷¹, o que reforça a importância deste estudo.

No geral, por meio do gráfico de radar, observa-se que os nossos dados fornecem resultados que sugerem a presença de mecanismos de imunomodulação em idosos robustos, em especial nos centenários (embora este grupo mais longo não esteja classificado como robustos segundo os critérios de fragilidade utilizados). Assim, esses mecanismos compensatórios seriam fundamentais para se atingir a longevidade e um envelhecimento bem sucedido¹⁹⁷. Portanto, pode ser que o *inflammaging* e os efeitos que o contrapõem desempenham um papel favorável na longevidade^{159,160}.

Sugerimos que a investigação dos perfis de citocinas/quimiocinas de acordo com a idade e a estratificação dos idosos pela sua independência e autonomia, sejam grandes potenciais para preservar a saúde imunológica desses indivíduos. Nesse sentido, avaliar biomarcadores do sistema imune relacionados com a inflamação crônica, bem como ao processo de remodelamento, podem fornecer ferramentas úteis para o estudo da fragilidade e longevidade saudável²⁷². Além disso, podemos propor mais estudos sobre os parâmetros

imunológicos nos centenários associados a uma avaliação clínica diferenciada dos demais indivíduos abaixo dessa idade, uma vez que o remodelamento do sistema imune foi uma característica particularmente relevante nesse grupo.

Mais estudos são necessários para confirmar esses resultados e para estabelecer de forma mais consistente os biomarcadores imunológicos do envelhecimento saudável e da fragilidade na população brasileira.

9. Conclusão

Conforme a expectativa de vida aumenta em todo o mundo, a prevalência e as consequências clínicas da fragilidade aumentarão rapidamente. Assim, o diagnóstico precoce de fragilidade e intervenções para prevenir resultados adversos do envelhecimento são cruciais. Nossos dados sugerem que há mudanças mensuráveis nos níveis de citocinas/quimiocinas com a idade, bem como nos indivíduos de diferentes estratos funcionais. Esse complexo remodelamento do sistema imune parece aumentar com a idade e se associa a profundas mudanças da rede de citocinas/quimiocinas. Podemos propor que o envelhecimento saudável está associado à adaptação e à remodelação do sistema imune ao longo da vida. Nossos dados com centenários e idosos robustos demonstraram que a longevidade exige um melhor equilíbrio entre a produção de citocinas/quimiocinas inflamatórias e reguladoras, contribuindo significativamente para o envelhecimento mais saudável.

10. Financiamento

Este estudo recebeu financiamento da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) através do Edital PPSUS (2013) e do Conselho de Desenvolvimento Tecnológico (CNPq).

11. Referências Bibliográficas

- 1 - Fontana L, Kennedy BK, Longo VD, Seals D, Melov S. Medical research: Treat ageing. *Nature*. 2014;511(7510):405-7.
- 2 - Palermo S. Covid-19 Pandemic: Maximizing Future Vaccination Treatments Considering Aging and Frailty. *Front Med*. 2020;7:1-11.
- 3 - Lima-Costa M, Andrade FB, Souza Jr PB, Neri AL, Duarte YO, Castro-Costa E, et al. The Brazilian Longitudinal Study of Aging (ELSI-Brazil): Objectives and Design. *Am J Epidemiol*. 2018;187(7):1345-53.
- 4 - Saravia J, Chapman NM, Chi H. Helper T cell differentiation. *Cell Mol Immunol*. 2019;16(7): 634-643.
- 5 - Alves LC, Leite IC, Machado CJ. Fatores associados à incapacidade funcional dos idosos no Brasil: análise multinível. *Rev. Saúde Publica*. 2010;44(3):468-78
- 6 - Bloom DE, Chatterji S, Kowal P, Lloyd-Sherlock P, McKee M, Rechel B, et al. Macroeconomic implications of population ageing and selected policy responses. *Lancet*. 2015;385(9968):649–57.
- 7 - Prince MJ, Wu F, Guo Y, Robledo LG, O'Donnell RS, Sullivan R, et al. The burden of diseases in older people and implications for health policy and practice. *Lancet*. 2015;385(9967):549–62.
- 8 - Franceschi C, Campisi J. Chronic inflammation (Inflammaging) and its potential contribution to age-associated diseases. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2014;69:S4-9.
- 9 - Shaw AC, Goldstein DR, Montgomery RR. Age-dependent dysregulation of innate immunity. *Nat Rev Immunol*. 2013;13(12):875-87.
- 10 - Kennedy BK, Berger SL, Brunet A, Campisi J, Cuervo AM, Epel ES, et al. Linking aging to chronic disease. *Cell*. 2014;159(4):709-13.
- 11- Franceschi C, Bonafè M. Centenarians as a model for healthy aging. *Biochem Soc Trans*. 2003;31(2):457-61.
- 12 - Fülöp T, Larbi A. Biology of aging: Paving the way for healthy aging. *Exp Gerontol*. 2018;107:1-3.
- 13 - Franceschi C. Inflammaging as a major characteristic of old people: can it be prevented or cured? *Nutr Rev*. 2007;65(12 Pt 2):S173-6.

- 14 - Rodriguez-Mañas L, Fried LP. Frailty in the clinical scenario. *Lancet*. 2015;385(9968):1-3.
- 15 - Fali, Tinhinane, Vallet, Hélène, Sauce, Delphine. Impact of stress on aged immune system compartments: Overview from fundamental to clinical data. *Experimental Gerontology*. 2018
- 16 - Grignolio A, Mishto M, Faria AC, Garagnani P, Franceschi C, Tieri P. Towards a liquid self: How time, geography, and life experiences reshape the biological identity. *Front Immunol*. 2014;5:153.
- 17 - Batista MA, Calvo-Fortes F, Nunes GS, Camatta GC, Speziali E, Turrone S, et al. Inflammaging in endemic areas for infectious diseases. *Front Immunol*. 2020;11:579972.
- 18 - Puts MT, Toubasi S, Atkinson E, Ayala AP, Andrew M, Ashe MC, et al. Interventions to prevent or reduce the level of frailty in community-dwelling older adults: A protocol for a scoping review of the literature and international policies. *BMJ Open*. 2016;6(3):1-6.
- 19 - Vatic M, von Haehling S, Ebner N. Inflammatory biomarkers of frailty. *Exp Gerontol*. 2020;133:1-10.
- 20 - Kirkwood TL, Austad SN. Why do we age? *Nature*. 2000;408(6809):233-8.
- 21 - Larbi A, Franceschi C, Mazzatti D, Solana R, Wikby A, Pawelec G. Aging of the immune system as a prognostic factor for human longevity. *Physiology*. 2008; 23:64-4.
- 22 - Robine JM, Cubaynes S. Worldwide demography of centenarians. *Mech Ageing Dev*. 2017;165(Pt B):59-67.
- 23 - Kirkwood TL, Franceschi C. Is Aging As Complex As It Would Appear? New Perspectives in Aging Research. *Ann N Y Acad Sci*. 1992;663:412-7.
- 24 - Ershler WB, Longo DL. The biology of aging: The current research agenda. *Cancer*. 1997;80(7):1284-93.
- 25 - Candore G, Caruso C, Colonna-Romano G. Inflammation, genetic background and longevity. *Biogerontology*. 2010;(5):565-73.
- 26 - Furman D, Campisi J, Verdin E, Carrera-Bastos P, Targ S, Franceschi C, et al. Chronic inflammation in the etiology of disease across the life span. *Nat Med*. 2019;25(12):1822-32.

- 27 - United Nations. Department of Economic and Social Affairs, Population Division. World Population Ageing 2019: Highlights. New York; 2019. 46p. [Acesso em 2 nov 2019]. Disponível em: <http://esa.un.org/wpp/>.
- 28 - Beard JR, Officer A, Carvalho IA, Sadana R, Pot AM, Michel J-P, et al. The World report on ageing and health: a policy framework for healthy ageing. *Lancet*. 2016;387(10033):2145–54.
- 29 - Organização Pan-americana da Saúde/OPAS/OMS. Folha informativa - Envelhecimento e saúde. 2018. [Internet]. [atualização em fev. 2018; acesso em nov.2020]. Disponível em: https://www.paho.org/bra/index.php?option=com_content&view=article&id=5661:folha-informativa-envelhecimento-e-saude&Itemid=820
- 30 - IBGE. Número de idosos cresce 18% em 5 anos e ultrapassa 30 milhões em 2017 [Internet]. [atualização em out. 2018; acesso em nov.2020]. Disponível em: <https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/agencia-noticias/2012-agencia-de-noticias/noticias/20980-numero-de-idosos-cresce-18-em-5-anos-e-ultrapassa-30-milhoes-em-2017>.
- 31 - Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Cadernos de atenção básica nº19 - Envelhecimento e saúde da pessoa idosa: Ministério da Saúde, 2006. 192p.
- 32 -Miranda GD, Mendes AG, Silva AA. O envelhecimento Populacional brasileiro: Desafios e consequências sociais atuais e futuras. *Rev. Bras. geriatr. gerontol*. 2016;19(3):507-19.
- 33 - Leite IC, Valente JG, Schramm JÁ, Daumas RP, Rodrigues RN, Santos MF. Burden of disease in Brazil and its regions, 2008. *Cad. Saúde Pública*, 2015;31(7):1-13.
- 34 - Ogura S, Jakovljevic MM. Editorial: global population aging - health care, social and economic consequences. *Front Public Health*. 2018;6:335.
- 35 - Collerton J, Martin-Ruiz C, Davies K, Hilkins CM, Isaacs J, Kolenda C, et al. Frailty and the role of inflammation, immunosenescence and cellular ageing in the very old: Cross-sectional findings from the Newcastle 85+ Study. *Mech of Ageing Dev*. 2012;133(6):456-66.
- 36 - Kirkwood TL. Why and how are we living longer? *Exp Physiol*. 2017;102(9):1067-74.
- 37 - Schmidt MI, Duncan BB, Silva GA, Menezes AM, Monteiro CA, Barreto SM. Chronic non-communicable diseases in Brazil: Burden and current challenges. *Lancet*. 2011;377(9781):1949-61.

- 38 - Ponti F, Santoro A, Mercatelli D, Gasperini C, Conte M, Martucci, et al. Aging and Imaging Assessment of Body Composition: From Fat to Facts. *Front Endocrinol.* 2019;10:861.
- 39 - Zamboni M, Rossi AP, Fantin, F, Zamboni, G, Chirumbolo S, Zoico E, et al. Adipose tissue, diet and aging. *Mech Ageing Dev.* 2014;136-137:129-37.
- 40 - Frasca D, Blomberg BB, Paganelli R. Aging, obesity, and inflammatory age-related diseases. *Front Immunol.* 2017;8:1745.
- 41 - Agrawal E, Miller M, Yaxley A, Isenring E. Malnutrition in the elderly: A narrative review. *Maturitas.* 2013;76(4):296-302.
- 42 - Cruz-Jentoft AJ, Kiesswetter E, Drey M, Sieber CC. Nutrition, frailty, and sarcopenia. *Aging Clin Exp Res.* 2017;29(1):43-8.
- 43 - Olshansky SJ, Perry D, Miller RA, Butler RN. Pursuing the longevity dividend: Scientific goals for an aging world. *Ann N Y Acad Sci.* 2007;1114:11-3.
- 44 - Vasconcelos AN, Gomes MF. Transição demográfica: a experiência brasileira. *Epidemiol. Serv. Saúde.* 2012;21(4):539-48.
- 45 - Campos AV, Ferreira EF, Vargas AD, Gonçalves LT. Perfil do envelhecimento saudável de idosos brasileiros octogenários. *Rev. Latino-Am. Enfermagem.* 2016;24:e2724.
- 46 - Sebastiani P, Thyagarajan B, Sun F, Schupf N, Newman AB, Montano M, et al. Biomarker signatures of aging. *Aging Cell.* 2017;16(2):329-38.
- 47 - Veras R. Envelhecimento populacional contemporâneo: demandas, desafios e inovações. *Rev Saude Publica.* 2009;43(3):548-54.
- 48 - Calder PC, Bosco N, Bourdet-Sicard R, Capuron L, Delzenne N, Doré J, et al. Health relevance of the modification of low grade inflammation in ageing (inflammageing) and the role of nutrition. *Ageing Res Rev.* 2017;40:95-119.
- 49 - Ferrucci L, Fabbri E. Inflammageing: chronic inflammation in ageing, cardiovascular disease, and frailty. *Nat Rev Cardiol.* 2018;15(9):505-22.
- 50 - Walford RL. The Immunologic Theory of Aging. *Immunological Reviews.* 2019;2:171.
- 51 - Aiello A., Farzaneh F, Candore G, Caruso C, Davinelli S, Gambino CM, et al. Immunosenescence and its hallmarks: How to oppose aging strategically? A review of potential options for therapeutic intervention. *Front Immunol.* 2019;10:1-19.

- 52 - Pawelec G. The human immunosenescence phenotype: does it exist? *Semin Immunopathol.* 2020;42(5):537-44.
- 53 - Pawelec G, Goldeck D, Derhovanessian E. Inflammation, ageing and chronic disease. *Current Opin Immunol.* 2014;29:23-8.
- 54 - Franceschi C, Garagnani P, Morsiani C, Conte M, Santoro A, Grignolio A. The continuum of aging and age-related diseases: Common mechanisms but different rates. *Front Med.* 2018a;5:61.
- 55 - Nikolich-Zugich J. The twilight of immunity: Emerging concepts in aging of the immune system review-article. *Nat Immunol.* 2018;19(1):10-9.
- 56 - Fülöp T, Dupuis G, Witkowski JM, Larbi A. The role of immunosenescence in the development of age-related diseases. *Rev Invest Clin.* 2016;68(2):84-91.
- 57 - Tomás MT, Galán-Mercant A, Carnero EA, Fernandes B. Functional capacity and levels of physical activity in aging: A 3-year follow-up. *Front Med.* 2017;4:1-8.
- 58 - Vasson MP, Farges MC, Goncalves-Mendes N, Talvas J, Ribalta J, Winklhofer-Roob B, et al. Does aging affect the immune status? A comparative analysis in 300 healthy volunteers from France, Austria and Spain. *Immun Ageing.* 2013;10(1):1-11.
- 59 - Franceschi C, Salvioli S, Garagnani P, Eguileor M, Monti D, Capri M. Immunobiography and the heterogeneity of immune responses in the elderly: A focus on inflammaging and trained immunity. *Front Immunol.* 2017;8:982.
- 60 - Pawelec G. Immune signatures associated with mortality differ in elderly populations from different birth cohorts and countries even within northern Europe. *Mech Ageing Dev.* 2019;177:182-5.
- 61 - Rymkiewicz PD, Heng YX, Vasudev A, Larbi A. The immune system in the aging human. *Immunol Res.* 2012;53(1-3):235-50.
- 62 - Ahadi S, Zhou W, Rose SS, Sailani MR, Contrepois K, Avina M, et al. Personal aging markers and ageotypes revealed by deep longitudinal profiling. *Nat Med.* 2020;26(1):83-90.
- 63 - Piening BD, Lovejoy J, Earls JC. Ageotypes: Distinct Biomolecular Trajectories in Human Aging. *Trends Pharmacol Sci.* 2020; 41(5):299-301.
- 64 - Biron CA. Role of early cytokines, including alpha and beta interferons (IFN- α/β), in innate and adaptive immune responses to viral infections. *Semin Immunol.* 1998;10(5):383-90.

- 65 - Fujihara C, Williams JA, Watanabe M, Jeon H, Sharrow SO, Hodes RJ. T cell-B cell thymic cross-talk: maintenance and function of thymic B cells requires cognate CD40-CD40 ligand interaction. *J Immunol.* 2014;193(11):5534-44.
- 66 - Baylis D, Bartlett DB, Patel HP, Roberts HC. Understanding how we age: insights into inflammaging. *Longev Healthspan.* 2013;2(1).
- 67 - Goronzy JJ, Weyand CM. Successful and Maladaptive T Cell Aging. *Immunity.* 2017;46(3):364-78.
- 68 - Frasca D, Blomberg BB, Garcia D, Keilich SR, Haynes L. Age-related factors that affect B cell responses to vaccination in mice and humans. *Immunol Rev.* 2020;296(1):142-54.
- 69 - Palmer DB. The effect of age on thymic function. *Front Immunol.* 2013;4:1-6.
- 70 - Becklund BR, Purton JF, Ramsey C, Favre S, Vogt TK, Martin CE, et al. The aged lymphoid tissue environment fails to support naive T cell homeostasis. *Sci Rep.* 2016;6:1-12.
- 71 - Gruver AL, Hudson LL, Sempowski GD. Immunosenescence of ageing. *J Pathol.* 2008;211(2):144-56.
- 72 - Lynch HE, Goldberg GL, Chidgey A, Van den Brink MM, Boyd R, Sempowski GD. Thymic involution and immune reconstitution. *Trends Immunol.* 2009;30(7):366-73.
- 73 - Dixit VD. Impact of immune-metabolic interactions on age-related thymic demise and T cell senescence. *Semin Immunol.* 2012;24(5):321-30.
- 74 - Masters AR, Haynes L, Su DM, Palmer DB. Immune senescence: significance of the stromal microenvironment. *Clin Exp Immunol.* 2016;187(1):6-15.
- 75 - Yanes RE, Gustafson CE, Weyand CM, Goronzy JJ. Lymphocyte generation and population homeostasis throughout life. *Semin Hematol.* 2017;54(1):33-8.
- 76 - Müller L, Fülöp T, Pawelec G. Immunosenescence in vertebrates and invertebrates. *Immun Ageing.* 2013;10(1):12.
- 77 - Fagnoni FF, Vescovini R, Passeri G, Bologna G, Pedrazzoni M, Lavagetto G, et al. Shortage of circulating naive CD8⁺ T cells provides new insights on immunodeficiency in aging. *Blood.* 2000;95(9):2860-8.
- 78 - Aspinall R, Andrew D. Thymic involution in aging. *J Clin Immunol.* 2000;20(4):250-6.
- 79 - Linton PJ, Dorshkind K. Age-related changes in lymphocyte development and function. *Nat Immunol.* 2004;5(2):133-9.

- 80 - Pangrazzi L, Meryk A, Naismith E, Koziel R, Lair J, Krismer M, et al. "Inflamm-aging" influences immune cell survival factors in human bone marrow. *Eur J Immunol*. 2017;47(3):481-92.
- 81 - Li M, Yao D, Zeng X, Kasakovski D, Zhang Y, Chen S, et al. Age related human T cell subset evolution and senescence. *Immun Ageing*. 2019;16:1-7.
- 82 - Cancro MP, Hao Y, Scholz JL, Riley RL, Frasca D, Dunn-Walters DK, et al. B cells and aging: molecules and mechanisms. *Trends Immunol*. 2009; 30(7):313-8.
- 83 - Martinis MD, Franceschi C, Monti D, Ginaldi L. Inflamm-aging and lifelong antigenic load as major determinants of ageing rate and longevity. *FEBS Lett*. 2005; 579(10):2035-39.
- 84 - Franceschi C, Capri M, Monti D, Giunta S, Olivieri F, Sevini F, et al. Inflammaging and anti-inflammaging: A systemic perspective on aging and longevity emerged from studies in humans. *Mech Ageing Dev*. 2007;128(1):92-105.
- 85 - Franceschi C, Valensin S, Bonafè M, Paolisso G, Yashin AI, Monti D, et al. The network and the remodeling theories of aging: Historical background and new perspectives. *Exp Gerontol*. 2000;35(6-7):879-96.
- 86 - Fülöp T, Witkowski JM, Olivieri F, Larbi A. The integration of inflammaging in age-related diseases. *Semin Immunol*. 2018;40:17-35.
- 87 - Silveira-Nunes et al. Lifewide profile of cytokine production by innate and adaptive immune cells from Brazilian individuals. *Immunity and aging*. 2017
- 88 - Solana, R., Pawelec G, Tarazona R. Aging and Innate Immunity. *Immunity*. 2006;24(5):491-4.
- 89 - Panda A, Arjona A, Sapey E, Bai F, Fikrig E, Montgomery RR, et al. Human innate immunosenescence: causes and consequences for immunity in old age. *Trends Immunol*. 2009;30(7):325-33.
- 90 - Franceschi C, Bonafè M, Valensin S, Olivieri F, De Luca M, Ottaviani E, et al. Inflamm-aging: An Evolutionary Perspective on Immunosenescence. *Ann N Y Acad Sci*. 2000;908:244-54.
- 91 - Franceschi C, Garagnani P, Vitale G, Capri M, Salvioli S. Inflammaging and 'Garb-aging'. *Trends Endocrinol Metab*. 2017;28(3):199-212.

- 92 - Vasto S, Candore G, Balistreri CR, Caruso M, Colonna-Romano G, Grimaldi MP, et al. Inflammatory networks in ageing, age-related diseases and longevity. *Mech Ageing Dev.* 2007;128(1):83-91.
- 93 - Bektas A, Schurman SH, Sen R, Ferrucci L. Aging, inflammation and the environment. *Exp Gerontol.* 2018; 105:10-18.
- 94 - Leonardi GC, Accardi G, Monastero R, Nicoletti F, Libra M. Ageing: From inflammation to cancer. *Immun Ageing.* 2018;15:1-7.
- 95 - Palmeri M, Misiano G, Malaguarnera M, Forte GI, Vaccarino L, Milano S, et al. Cytokine serum profile in a group of Sicilian nonagenarians. *J Immunoassay Immunochem.* 2012;3(1):82-90.
- 96 - Adriaensen W, Matheï C, Van Pottelbergh G, Vaes B, Legrand D, Wallemacq P, et al. Significance of serum immune markers in identification of global functional impairment in the oldest old: Cross-sectional results from the BELFRAIL study. *Age (Dordr).* 2013;36(1):457-67.
- 97 - Minciullo PL, Catalano A, Mandraffino G, Casciaro M, Crucitti A, Maltese G, et al. Inflammaging and Anti-Inflammaging: The Role of Cytokines in Extreme Longevity. *Arch Immunol Ther Exp.* 2016;64(2):111-26.
- 98 - Shearer, GM. Th1/Th2 changes in aging. *Mech Ageing Dev.* 1997;94(1-3):1-5.
- 99 - Rink L, Cakman I, Kirchner H. Altered cytokine production in the elderly. *Mech Ageing Dev.* 1998;102(2-3):199-209.
- 100 - Michaud M, Balardy L, Moulis G, Gaudin C, Peyrot C, Vellas B., et al. Proinflammatory cytokines, aging, and age-related diseases. *J Am Med Dir Assoc.* 2013;14(12):877-82.
- 101 - Nian Y, Minami K, Maenesono R, Iske J, Yang J, Azuma H, et al. Changes of T-cell Immunity Over a Lifetime. *Transplantation.* 2019;103(11):2227-33.
- 102 - Van Beek AA, Van den Bossche J, Mastroberardino PG, Winther M.J, Leenen PM. Metabolic Alterations in Aging Macrophages: Ingredients for Inflammaging? *Trends Immunol.* 2018;40(2):113-27.
- 103 - Cordero MD, Ruiz-Cabello J. Inflamm-aging or inflammasom-aging as independent events. *Aging (Albany NY).* 2020;12(18):17759-60.
- 104 - Shaw AC, Joshi S, Greenwood H, Panda A, Lord JM. Aging of the innate immune system. *Curr Opin Immunol.* 2011;22(4):507-13.

- 105 - Guo H, Callaway JB, Ting JPY. Inflammasomes: Mechanism of action, role in disease, and therapeutics. *Nat Med.* 2015;21(7): 677-87.
- 106 - Bauer ME, De la Fuente M. The role of oxidative and inflammatory stress and persistent viral infections in immunosenescence. *Mech Ageing Dev.* 2016;158:27-37.
- 107 - Latz E, Duewell P. NLRP3 inflammasome activation in inflammaging. *Semin Immunol.* 2018;40:61-73.
- 108 - Rea IM, Gibson DS, McGilligan V, McNerlan SE, Alexander HD, Ross OA. Age and age-related diseases: Role of inflammation triggers and cytokines. *Front Immunol.* 2018;9:1-28.
- 109 - Fülöp T, Dupuis G, Baehl S, Le Page A, Bourgade K, Frost E, et al. From inflammaging to immune-paralysis: a slippery slope during aging for immune-adaptation. *Biogerontology.* 2016;17(1):147-57.
- 110 - López-Otín C, Blasco MA, Partridge L., Serrano M, Kroemer G. The hallmarks of aging. *Cell.* 2013;153(6):1194-217.
- 111 - Campisi J, Kapahi P, Lithgow GJ, Melov S, Newman JC, Verdin E. From discoveries in ageing research to therapeutics for healthy ageing. *Nature.* 2019;571(7764):183-92.
- 112 - Hayflick L, Moorhead PS. The serial cultivation of human diploid cell strains. *Exp Cell Res.* 1961;25:585-621.
- 113 - Vicente R, Mausset-Bonnefont AL, Jorgensen C, Louis-Plence P, Brondello JM. Cellular senescence impact on immune cell fate and function. *Aging Cell.* 2016;15(3):400-6.
- 114 - Gorgoulis V, Adams PD, Alimonti A, Bennett DC, Bischof O, Bishop C, et al. Cellular Senescence: Defining a Path Forward. *Cell.* 2019; 179(4):813-27.
- 115 - Calcinotto A, Kohli J, Zagato E, Pellegrini L, Demaria M, Alimonti A. Cellular senescence: Aging, cancer, and injury. *Physiol Rev.* 2019;99(2):1047-78.
- 116 - Tchkonja T, Zhu Y, van Deursen J, Campisi J, Kirkland JL. Cellular senescence and the senescent secretory phenotype: therapeutic opportunities. *J Clin Invest.* 2013;123(3):966-72.
- 117 - Childs BG, Matej D, Darren BJ. Cellular senescence in aging and age-related disease: From mechanisms to therapy. *Nat Med.* 2015;21(12):1424-35.
- 118 - Heath JJ, Grant MD. The Immune Response Against Human Cytomegalovirus Links Cellular to Systemic Senescence. *Cells.* 2020;20;9(3):766.

- 119 - Coppé JP, Desprez PY, Krtolica A, Campisi J. The Senescence-Associated Secretory Phenotype: The Dark Side of Tumor Suppression. *Annu Rev Pathol.* 2010;5:99-118.
- 120 - McHugh D, Gil J. Senescence and aging: Causes, consequences, and therapeutic avenues. *J Cell Biol.* 2018;217(1):65-77.
- 121 - Van Deursen, Jan M. The role of senescent cells in ageing. *Nature.* 2014;509(7501):439-46.
- 122 - Ghosh K, Capell BC. The Senescence-Associated Secretory Phenotype: Critical Effector in Skin Cancer and Aging. *J Invest Dermatol.* 2016;136(11):2133-9.
- 123 - Burton DA, Stolzing A. Cellular senescence: Immunosurveillance and future immunotherapy. *Ageing Res Rev.* 2018;43:17-25.
- 124 - Bektas A, Schurman SH, Sen R, Ferrucci L. Human T cell immunosenescence and inflammation in aging. *J Leukoc Biol.* 2017;102(4):977-88.
- 125 - Soto-Gamez A, Quax WJ, Demaria M. Regulation of Survival Networks in Senescent Cells: From Mechanisms to Interventions. *J Mol Biol.* 2019;431(15):2629-43.
- 126 - Freund A, Orjalo AV, Desprez PY, Campisi J. Inflammatory networks during cellular senescence: causes and consequences. *Trends Mol Med.* 2010;16(5):238-46.
- 127 - Magalhães JP, Passos JF. Stress, cell senescence and organismal ageing. *Mechanisms of Ageing and Development. Mech Ageing Dev.* 2018;170:2-9.
- 128 - Nelson G, Wordsworth J, Wang C, Jurk D, Lawless C, Martin-Ruiz C, et al. A senescent cell bystander effect: Senescence-induced senescence. *Aging Cell.* 2012;11(2):345-9.
- 129 - Faria AM, Franceschi C. Population Immunology: germs, aging and inflammation. *Eco-immunology: Evolutive Aspects and Future Perspectives.* Springer Netherlands. 2014;145-61.
- 130 - Cossarizza A, Ortolani C, Monti D, Franceschi C. Cytometric analysis of immunosenescence. *Cytometry.* 1997; 27(4):297-313.
- 131 - Pawelec G, Ferguson FG, Wikby A. The SENIEUR protocol after 16 years. *Mech Ageing Dev.* 2001;122(2):132-34.
- 132 - Rubino G, Bulati M, Aiello A, Aprile S, Gambino CM, Gervasi F, et al. Sicilian centenarian offspring are more resistant to immune ageing. *Aging Clin Exp Res.* 2019;31(1):125-33.

- 133 - Vallejo A.N. Immune remodeling: lessons from repertoire alterations during chronological aging and in immune-mediated disease. *Trends Mol Med.* 2007;13(3):94-102.
- 134 - Fougère B, Boulanger E, Nourhashémi F, Guyonnet S, Cesari M. Chronic inflammation: Accelerator of biological aging. *J Gerontology A Biol Sci Med Sci.* 2017;74(3):1218-25.
- 135 - Salminen A, Kaarniranta K, Kauppinen A. Immunosenescence: the potential role of myeloid-derived suppressor cells (MDSC) in age-related immune deficiency. *Cell Mol Life Sci.* 2019;76(10):1901-18.
- 136 - Franceschi C, Monti D, Barbieri D, Grassilli E, Troiano L, Salvioli S, et al. A. Immunosenescence in humans: Deterioration or remodelling? *Int Rev Immunol.* 1995;12(1):57-74.
- 137 - Fülöp T, Larbi A, Dupuis G, Page AL, Frost EH, Cohen AA, et al. Immunosenescence and inflamm-aging as two sides of the same coin: Friends or Foes? *Front Immunol.* 2018;8:1960.
- 138 - Salminen et al. Activation of innate immunity system during aging: NF-kB signaling is the molecular culprit of inflamm-aging. 2008. *Ageing Res Rev.* 2008;7(2):83-105.
- 139 - Pereira BI, Akbar AN. Convergence of innate and adaptive immunity during human aging. *Front Immunol.* 2016;7:1-9.
- 140 - Fülöp T, Larbi A, Witkowski JM. Human Inflammaging. *Gerontology.* 2019;65(5):495-504.
- 141 - Raynor J, Lages CS, Shehata H, Hildeman DA, Chougnet CA. Homeostasis and function of regulatory T cells in aging. *Curr Opin Immunol.* 2012;24(4):482-87.
- 142 - Fülöp T, Larbi A, Hirokawa K, Cohen AA, Witkowski JM. Immunosenescence is both functional/adaptive and dysfunctional/maladaptive. *Semin Immunopathol.* 2020;42(5):521-36.
- 143 - Lages CS, Suffia I, Velilla PA, Huang B, Warshaw G, Hildeman DA, et al. Functional Regulatory T Cells Accumulate in Aged Hosts and Promote Chronic Infectious Disease Reactivation. *J Immunol.* 2008;181(3):1835-48.
- 144 - Ray D, Yung R. Immunesenescence, epigenetics and autoimmunity. *Clin Immunol.* 2018;196:59-63.
- 145 - Covre LP, De Maeyer RH, Gomes DO, Akbar AN. The role of senescent T cells in immunopathology. *Aging Cell.* 2020;19(12):e13272.

- 146 - Chen X, Liu Q, Xiang AP. CD8+CD28- T cells: not only age-related cells but a subset of regulatory T cells. *Cell Mol Immunol*. 2018;15(8):734–6.
- 147 - Xu W, Larbi A. Markers of T Cell Senescence in Humans. *Int J Mol Sci*. 2017;18(8):1742.
- 148 - Solana R, Campos C, Pera A, Tarazona R. Shaping of NK cell subsets by aging. *Curr Opin Immunol*. 2014;29:56-61.
- 149 - Manser AR, Uhrberg M. Age-related changes in natural killer cell repertoires: impact on NK cell function and immune surveillance. *Cancer Immunol Immunother*. 2016;65(4):417-26.
- 150 - Sansoni P, Cossarizza A, Brianti V, Fagnoni F, Snelli G, Monti D, et al. Lymphocyte subsets and natural killer cell activity in healthy old people and centenarians. *Blood*. 1993;82(9):2767-73.
- 151 - DelaRosa O, Pawelec G, Peralbo E, Wikby A, Mariani E, Mocchegiani E, et al. Immunological biomarkers of ageing in man: changes in both innate and adaptive immunity are associated with health and longevity. *Biogerontology*. 2006;7(5-6):471-81.
- 152 - Kaszubowska L, Dettlaff-Pokora A, Hak L, Szarynska M, Ryba M, Mysliwska J, et al. A. Successful ageing of nonagenarians is related to the sensitivity of NK cells to activation. *J Physiol Pharmacol*. 2008;59(Suppl 9):187-99.
- 153 - Campos C, Pera A, Lopez-Fernandez I, Alonso C, Tarazona R, Solana R. Proinflammatory status influences NK cells subsets in the elderly. *Immunol Lett*. 2014;162(1 Pt B):298-302.
- 154 - Al-Attara A, Presnell SR, Peterson CA, Thomas DT, Lutz CT. The effect of sex on immune cells in healthy aging: Elderly women have more robust natural killer lymphocytes than do elderly men. *Mech Ageing Dev*. 2016;156:25-33.
- 155 - Hazeldine J, Hampson P, Lord JM. Reduced release and binding of perforin at the immunological synapse underlies the age-related decline in natural killer cell cytotoxicity. *Aging Cell*. 2012;11(5):751-9.
- 156 - Gayoso I, Sanchez-Correa B, Campos C, Alonso C, Pera A, Casado JG, et al. Immunosenescence of human natural killer cells. *J Innate Immun*. 2011;3(4):337-43.
- 157 - Candore G, Colonna-Romano G, Balistreri CR, Di Carlo D, Grimaldi MP, Listì F, et al. Biology of longevity: Role of the innate immune system. *Rejuvenation Res*. 2006;9(1):143-8.
- 158 - Caruso C, Passarino G, Puca A, Scapagnini G. "Positive biology": The centenarian lesson. *Immun Ageing*. 2012;9(1):5.

- 159 - Morrisette-Thomas V, Cohen AA, Fülöp T, Riesco E, Legault V, Li Q, et al. Inflamm-aging does not simply reflect increases in pro-inflammatory markers. *Mech Ageing Dev.* 2014;139:49-57.
- 160 - Fagiolo U, Cossarizza A, Scala E, Fanale-Belasio E, Ortolani C, Cozzi E, et al. Increased cytokine production in mononuclear cells of healthy elderly people. *Eur J Immunol.* 1993;23(9):2375-8.
- 161 - Ligthart GJ, Corberand JX, Fournier C, Galanaud P, Hijmans W, Kennes B, et al. Admission criteria for immunogerontological studies in man: The senieur protocol. *Mech Ageing Dev.* 1984;28(1):47-55.
- 162 - Ligthart GJ, Corberand JX, Geertze HG, Meinders AE, Knook DL, Hijmans W. Necessity of the assessment of health status in human immunogerontological studies: Evaluation of the senieur protocol. *Mech Ageing Dev.* 1990;55(1):89-105.
- 163 - Franceschi C, Monti D, Sansoni P, Cossarizza A. The immunology of exceptional individuals: the lesson of centenarians. *Immunol Today.* 1995;16(1):12-6.
- 164 - Rowe JW, Kahn RL. Human aging: usual and successful. *Science.* 1987;237(4811):143-9.
- 165 - Franco OH, Karnik K, Osborne G, Ordovas JM, Catt M, van der Ouderaa F. Changing course in ageing research: The Healthy Ageing Phenotype. *Maturitas.* 2009;63(1):13-9.
- 166 - Forsey RJ, Thompson JM, Ernerudh J, Hurst TL, Strindhall J, Johansson B, et al. Plasma cytokine profiles in elderly humans. *Mech Ageing Dev.* 2003;124(4):487-93.
- 167 - Faria AM, Moraes SM, Freitas LH, Speziali E, Soares TF, Figueiredo-Neves SP, et al. Variation rhythms of lymphocyte subsets during healthy aging. *NeuroImmunoModulation.* 2008;15(4-6):365-79.
- 168 - Wu J, Li W, Liu Z, Zhang YY, Peng Y, Feng DG, et al. Ageing-Associated Changes in Cellular Immunity Based on the SENIEUR Protocol. *Scand J Immunol.* 2012;75(6):641-6.
- 169 - Rattan SI. Aging is not a disease: Implications for intervention. *Aging Dis.* 2014;5(3):196-202.
- 170 - Goto M. Aging Based on an Evolutionarily Antagonistic Pleiotropy Theory? *Biosci Trends.* 2008;2(6):218-30.

- 171 - Lino VS, Pereira SM, Camacho LB, Ribeiro Filho ST, Buksman S. Adaptação transcultural da Escala de Independência em Atividades da Vida Diária (Escala de Katz). *Cad de Saude Publica*. 2008;24(1):103-12.
- 172 - Moraes EN, Lanna FM, Santos RR, Bicalho MC, Machado CJ, Romero DE. A New Proposal for the Clinical-Functional Categorization of the Elderly: Visual Scale of Frailty (Vs-Frailty). *J Aging Res*. 2016a;5:24-30.
- 173 - Brasil. Portaria nº 2.528 de 19 de outubro de 2006. Aprova a Política Nacional de Saúde da Pessoa Idosa. Brasília: Diário Oficial da União. 2006; 19 out.
- 174 - Michel JP, Sadana R. "Healthy Aging" Concepts and Measures. *J Am Med Dir Assoc*. 2017;18(6):460-4.
- 175 - Bergman H, Ferrucci L, Guralnik J, Hogan DB, Hummel S, Karunananthan S, et al. Frailty: An Emerging Research and Clinical Paradigm—Issues and Controversies. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2007; 62(7):731-7.
- 176 - Mitnitski A, Collerton J, Martin-Ruiz C, Jagger C, von Zglinicki T, Rockwood K, et al. Age-related frailty and its association with biological markers of ageing. *BMC Med*. 2015;13:1-9.
- 177 - Franceschi C, Zaikin A, Gordleeva S, Ivanchenko M, Bonifazi, F, Storci G, et al. Inflammaging 2018: An update and a model. *Semin Immunol*. 2018;40:1-5.
- 178 - Moraes EN, Carmo JA, Moraes FL, Azevedo RS, Machado CJ, Montilla DR. Índice de Vulnerabilidade Clínico Funcional-20 (IVCF-20): reconhecimento rápido do idoso frágil. *Rev Saude Publica*. 2016b;50:1-10.
- 179 - Clegg A, Young J, Iliffe S, Rikkert MO, Rockwood K. Frailty in Elderly. *Lancet*. 2014; 381(9868):752-62.
- 180 - Fried LP, Tangen CM, Walston J, Newman AB, Hirsch C, Gottdiener J, et al. Frailty in Older Adults: Evidence for a Phenotype. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2001;56(3):M146-56.
- 181 - Rockwood K, Mitnitski A. Frailty in relation to the accumulation of deficits. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2007;62(7):722-7.
- 182 - Al Saedi A, Feehan J, Phu S, Duque G. Current and emerging biomarkers of frailty in the elderly. *Clin Interv Aging*. 2019;14:389–98.
- 183 - Christensen K, McGue M, Petersen I, Jeune B, Vaupel JW. Exceptional longevity does not result in excessive levels of disability. *Proc natl Acad Sci USA*. 2008;105(36):13274-9.

- 184 - Luz C, Collaziol D, Preissler T, Cruz IM, Glock L, Bauer ME. Healthy aging is associated with unaltered production of immunoreactive growth hormone but impaired neuroimmunomodulation. *Neuroimmunomodulation*. 2006;13(3):160-9.
- 185 - Luz C, Dornelles F, Preissler T, Collaziol D, Cruz IM, Bauer ME. Impact of psychological and endocrine factors on cytokine production of healthy elderly people. *Mech Ageing Dev*. 2003;124(8-9):887-95.
- 186 - Jeckel CM, Lopes RP, Berleze MC, Luz C, Feix L, Argimon IL, et al. Neuroendocrine and immunological correlates of chronic stress in 'strictly healthy' populations. *Neuroimmunomodulation*. 2010;17(1):9-18.
- 187 - Folstein M, Folstein S, McHugh P "Mini-mental state" A practical state method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *J Psychiatr Res*. 1975;12(3):189-98.
- 188 - Melo DM, Barbosa AG. O uso do Mini-Exame do Estado Mental em pesquisas com idosos no Brasil: Uma revisão sistemática. *Cien Saude Colet*. 2015;20(12):3865-76.
- 189 - Katz S, Downs ID, Cash HR, Grotz RC. Progress in development of the index of ADL. *Gerontologist*. 1970;10(1):20-30.
- 190 - Pfeffer RI, Kurosaki TT, Harrah CH Jr, Chance JM, Filos S. Measurement of functional activities in older adults in the community. *J Gerontol*. 1982;37:323-9.
- 191 - Guralnik JM, Simonsick EM, Ferrucci L, Glynn RJ, Berkman LF, Blazer DG, et al. A Short Physical Performance Battery Assessing Lower Extremity Function: Association With Self-Reported Disability and Prediction of Mortality and Nursing Home Admission. *J Gerontol*. 1994;49(2):M85-94.
- 192 - Guralnik JM, Ferrucci L, Simonsick EM, Salive ME, Wallace RB. Lower-extremity function in persons over the age of 70 years as a predictor of subsequent disability. *N Engl J Med*. 1995;332(9):556-61.
- 193 - American Psychiatric Association. Manual diagnóstico e estatístico de transtornos mentais, 5. ed. Porto Alegre : Artmed, 2014. [Internet]. [acesso em nov.2020]. Disponível em: <http://www.niip.com.br/wp-content/uploads/2018/06/Manual-Diagnosico-e-Estatistico-de-Transtornos-Mentais-DSM-5-1-pdf>.
- 194 - Worls Health Organization. Technical Report Series N° 854 – Physical status: the use and interpretation of anthropometry. Geneva, 1995. 452p.
- 195 - DiMaria-Ghalili AR. Integrating Nutrition in the Comprehensive Geriatric assessment. *Nutr Clin Pract*. 2014;29:420-7.

- 196 - Brusselaers N, Lagergren J. The charlson comorbidity index in registry-based research. *Methods Inf Med.* 2017;56(5): p. 401-6.
- 197 - Evert J, Lawler E, Bogan H, Perls T. Morbidity profiles of centenarians: survivors, delayers, and escapers. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2003;58(3):232-7.
- 198 - Ostan R, Bucci L, Capri M, Salvioli S, Scurti M, Pini E, et al. Immunosenescence and immunogenetics of human longevity. *NeuroImmunoModulation.* 2008;15(4-6):224-40.
- 199 - Spearman, C. (1904). The Proof and Measurement of Association between Two Things. *Int J Epidemiol.* 2010;39(5):1137-50.
- 200 - Schober P, Boer C, Schwarte LA. Correlation Coefficients: Appropriate Use and Interpretation. *Anesth Analg.* 2018;126(5):1763-8.
- 201 - Singh T, Newman AB. Inflammatory markers in population studies of aging. *Ageing Res Rev.* 2011;10(3):319-29.
- 202 - Lu Y, Tan CT, Nyunt MZ, Mok EH, Camous X, Kared H, et al. Inflammatory and immune markers associated with physical frailty syndrome: findings from Singapore longitudinal aging studies. *Oncotarget.* 2016;7(20):28783-95.
- 203 - Franceschi C, Garagnani P, Parini P, Giuliani C, Santoro A. Inflammaging: a new immune–metabolic viewpoint for age-related diseases. *Nat Rev Endocrinol.* 2018;14(10):576-90.
- 204 - Keenan CR, Allan RS. Epigenomic drivers of immune dysfunction in aging. *Aging Cell.* 2019;18(1):e12878.
- 205 - Cunha LL, Perazzio SF, Azzi J, Cravedi P, Riella LV. Remodeling of the Immune Response With Aging: Immunosenescence and Its Potential Impact on COVID-19 Immune Response. *Front Immunol.* 2020;1748.
- 206 - Schuettpeitz LG, Link DC. Regulation of Hematopoietic Stem Cell Activity by Inflammation. *Front Immunol.* 2013;4:204.
- 207 - Schultze JL, Mass E, Schlitzer A. Emerging Principles in Myelopoiesis at Homeostasis and during Infection and Inflammation. *Immunity.* 2019;50(2):288-301.
- 208 - Wolach B, van der Laan LW, Maiani NA, Tool AJ, van Bruggen R, Roos D, et al. Growth factors G-CSF and GM-CSF differentially preserve chemotaxis of neutrophils aging in vitro. *Exp Hematol.* 2007;35(4):541-50.

- 209 - Kim HO, Kim HS, Youn JC, Shin EC, Park S. Serum cytokine profiles in healthy young and elderly population assessed using multiplexed bead-based immunoassays. *J Transl Med.* 2011;9:113.
- 210 - Staversky RJ, Byun DK, Georger MA, Zaffuto BJ, Goodman A, Becker MW, et al, 2018. The Chemokine CCL3 Regulates Myeloid Differentiation and Hematopoietic Stem Cell Numbers. *Sci Rep.* 2018;8(1):14691.
- 211 - Geiger H, Rudolph KL. Aging in the lympho-hematopoietic stem cell compartment. *Trends Immunol.* 2009;30(7):360-5.
- 212 - Pang WW, Price EA, Sahoo D, Beerman I, Maloney WJ, Rossi DJ, et al. Human bone marrow hematopoietic stem cells are increased in frequency and myeloid-biased with age. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2011;108(50):20012-7.
- 213 - Kovtonyuk LV, Fritsch K, Feng X, Manz MG, Takizawa H. Inflamm-aging of hematopoiesis, hematopoietic stem cells, and the bone marrow microenvironment. *Front Immunol.* 2016;7:1-13.
- 214 - Pietras EM, Mirantes-Barbeito C, Fong S, Loeffler D, Kovtonyuk LV, Zhang S, et al. Chronic interleukin-1 exposure drives haematopoietic stem cells towards precocious myeloid differentiation at the expense of self-renewal. *Nat Cell Biol.* 2016;18(6):607-18.
- 215 - Dorshkind K, Höfer T, Montecino-Rodriguez E, Pioli PD, Rodewald HR. Do haematopoietic stem cells age? *Nat Rev Immunol.* 2019;23(3):196-202.
- 216 - Rezende MM, Ng-Blichfeldt JP, Justo GZ, Paredes-Gamero EJ, Gosens R. Divergent effects of Wnt5b on IL-3- and GM-CSF-induced myeloid differentiation. *Cell Signal.* 2020;67:1-10.
- 217 - Alberti S, Cevenini E, Ostan R, Capri M, Salvioli S, Bucci L, et al. 2006. Age-dependent modifications of Type 1 and Type 2 cytokines within virgin and memory CD4⁺ T cells in humans. *Mech Ageing Dev.* 2006;127(6):560-6.
- 218 - Mosmann TR, Cherwinski H, Bond MW, Giedlin MA, Coffman RL. Two types of murine helper T cell clone. I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins. *J Immunol.* 1986;136(7):2348-57.
- 219 - Kidd P. Th1/Th2 Balance: The Hypothesis, its Limitations, and Implications for Health and Disease. *Altern Med Rev.* 2003;8(3):223-46.
- 220 - Biswas SK e Mantovani A. Orchestration of Metabolism by Macrophages. *Cell Metab.* 2012;15(4):432-7.

- 221 - Goswami R, Kaplan MH. A Brief History of IL-9. *J Immunol*. 2011;186(6):3283-8.
- 222 - Speziali E, Bethony J, Martins-Filho O, Fraga LO, Lemos DS, Souza LJ, et al. Production of interferon-gamma by natural killer cells and aging in chronic human schistosomiasis. *Mediators Inflamm*. . 2004;13(5-6):327-33.
- 223 - Antonangeli, F, Zingoni A, Soriani A, Santoni A. Senescent cells: Living or dying is a matter of NK cells. *J Leukoc Biol*. 2019;105(6):1275-83.
- 224 - Le Page A, Dupuis G, Larbi A, Witkowski JM; Fülöp T. Signal transduction changes in CD4 + and CD8 + T cell subpopulations with aging. *Exp Gerontol*. 2018;105:128-39.
- 225 - Myśliwska J, Bryl E, Foerster J, Myśliwski A. Increase of interleukin 6 and decrease of interleukin 2 production during the ageing process are influenced by the health status. *Mech Ageing Dev*. 1998;100(3):313-28.
- 226 - Jagger A, Shimojima Y, Goronzy JJ, Weyand CM. Regulatory T cells and the immune aging process: A mini-review. *Gerontology*. 2014;60(2):130-7.
- 227 - Chinen T, Kannan AK, Levine AG, Fan X, Klein U, Zheng Y, et al. An essential role for the IL-2 receptor in T_{reg} cell function. 2016. *Nat Immunol*. 2016;17(11):1322-33.
- 228 - Salminen A. Activation of immunosuppressive network in the aging process. *Ageing Res Rev*. 2020;57:1-15.
- 229 - Le Garff-Tavernier M, Béziat V, Decocq J, Siguret V, Gandjbakhch F, Pautas E, et al. Human NK cells display major phenotypic and functional changes over the life span. *Aging Cell*. 2010;9(4):527-35.
- 230 - Almanan M, Raynor J, Ogunsulire I, Malyshkina A, Mukherjee S, Hummel SA, et al. IL-10–producing Tfh cells accumulate with age and link inflammation with age-related immune suppression. *Sci Adv*. 2020; 6(31):1-11.
- 231 - Bandeen-Roche K, Walston JD, Huang Y, Semba RD, Ferrucci L. Measuring systemic inflammatory regulation in older adults: evidence and utility. *Rejuvenation Res*. 2009;12(6):403-10.
- 232 - Krabbe KS, Pedersen M, Bruunsgaard H. Inflammatory mediators in the elderly. *Exp Gerontol*. 2004;39(5):687-99.
- 233 - Hubbard RE, O'Mahony MS, Savva GM, Calver BL, Woodhouse KW. Inflammation and frailty measures in older people. *J Cell Mol Med*. 2009;13(9B):3103-9.

- 234 - Puzianowska-Kuźnicka M, Owczarz M, Wieczorowska-Tobis K, Nadrowski P, Chudek, J, Slusarczyk P, et al. Interleukin-6 and C-reactive protein, successful aging, and mortality: The PolSenior study. *Immun Ageing*. 2016;13:1-12.
- 235 - Zuo X, Luciano A, Pieper CF, Bain JR, Kraus VB, Kraus WE, et al. Combined Inflammation and Metabolism Biomarker Indices of Robust and Impaired Physical Function in Older Adults. *J Am Geriatr Soc*. 2018; 6(7):1353-9.
- 236 - Hager K, Machein U, Krieger S, Platt D, Seefried G, Bauer J. Interleukin-6 and selected plasma-proteins in healthy persons of different ages. *Neurobiol Aging*. 1994;15(6):771- 2.
- 237 - Liu C, Lyass A, Larson M, Massaro JM, Wang N, D'Agostino Sr RB, et al. Biomarkers of oxidative stress are associated with frailty: the Framingham offspring study. *Age (Dordr)*. 2016;38(1):1.
- 238 - Van Epps P, Oswald D, Higgins PA, Hornick TR, Aung H, Banks RE, et al. Frailty has a stronger association with inflammation than age in older veterans. *Immun Ageing*. 2016;19;13:27.
- 239 - Langmann GA, Perera S, Ferchak MA, Nace DA, Resnick NM, Greenspan SL. Inflammatory markers and frailty in long-term care residents. *J Am Geriatr Soc*. 2017;65(8):1777-83.
- 240 - Acosta JC, Banito A, Wuestefeld T, Georgilis A, Janich P, Morton JP, et al. A complex secretory program orchestrated by the inflammasome controls paracrine senescence. *Nat Cell Biol*. 2013,15(8):970-90.
- 241 - Chambers ES, Akbar AN. Can blocking inflammation enhance immunity during aging? *J Allergy Clin Immunol*. 2020;145(5):1323-31.
- 242 - Inadera H, Egashira K, Takemoto M, Ouchi Y, Matsushima K. Increase in circulating levels of monocyte chemoattractant protein-1 with aging. *J Interferon Cytokine Res*. 1999;19:1179-82.
- 243 - Giovannini S, Onder G, Liperoti R, Russo A, Carter C, Capoluongo E, et al. Interleukin-6, C-Reactive Protein, and Tumor Necrosis Factor-Alpha as Predictors of Mortality in Frail, Community-Living Elderly Individuals. *J Am Geriatr Soc*. 2011;59(9):1679-85.
- 244 - De la Fuente M, Miquel J. An update of the oxidation-inflammation theory of aging: the involvement of the immune system in oxi-inflamm-aging. *Curr Pharm Des*. 2009;15(26):3003-26.
- 245 - Taub DD, Longo DL. Insights into thymic aging and regeneration. *Immunol Rev*. 2005;205:72-93.

- 246 - QI Q, Liu Y, Cheng Y, Glanville J, Zhang D, Lee JY, et al. Diversity and clonal selection in the human T-cell repertoire. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. Proc Natl Acad Sci U S A. 2014;111(36):13139-44.
- 247 - Goronzy JJ, Fang F, Cavanagh MM, Qi Q, Weyand CM. Naive T Cell Maintenance and Function in Human Aging. *J Immunol*. 2015;194(9):4073-80.
- 248 - Goronzy JJ, Weyand CM. Mechanisms underlying T cell ageing. *Nat Rev Immunol*. 2019;19(9):573-83.
- 249 - Giudice DG, Goronzy JJ, Grubeck-Loebenstein B, Lambert PH, Mrkvan T, Stoddard JJ, et al. Fighting against a protean enemy: immunosenescence, vaccines, and healthy aging. *NPJ Aging Mech Dis*. 2018;4:1-8.
- 250 - Fry TJ, Mackall CL. The Many Faces of IL-7: From Lymphopoiesis to Peripheral T Cell Maintenance. *J Immunol* 2005;174(11):6571-6.
- 251 - Surh CD, Sprent J. Homeostasis of Naive and Memory T Cells. *Immunity*. 2008;29(6):848-62.
- 252 - Boyman O, Létourneau S, Krieg C, Sprent J. Homeostatic proliferation and survival of naïve and memory T cells. *Eur J Immunol*. 2009;39(8):2088-94.
- 253 - Raeber ME, Zurbuchen Y, Impellizzieri D, Boyman O. The role of cytokines in T-cell memory in health and disease. *Immunol Rev*. 2018;283(1):176-96.
- 254 - Hope JL, Stairiker CJ, Bae EA, Otero DC, Bradley LM. Striking a balance-cellular and molecular drivers of memory T cell development and responses to chronic stimulation. *Front Immunol*. 2018;10:1-22.
- 255 - Sun JC, Beilke JN, Bezman NA, Lanier LL. Homeostatic proliferation generates long-lived natural killer cells that respond against viral infection. *J Exp Med*. 2011;208(2):357-68.
- 256 - Gangemi S, Basile G, Monti D, Merendino RA, Di Pasquale G, Bisignano U, et al. Age-Related Modifications in Circulating IL-15 Levels in Humans. *Mediators Inflamm*. 2005;(4):245-7.
- 257 - Lee JS, Lee WW, Kim SH, Kang Y, Lee N, Shin MS, et al. Age-associated alteration in naive and memory Th17 cell response in humans. *Clin Immunol*. 2011;140(1):84-91.
- 258- Calvani R, Marini F, Cesari M, Tosato M, Anker SD, von Haehling S, et al. Biomarkers for physical frailty and sarcopenia: state of the science and future developments. *J Cachexia Sarcopenia Muscle*. 2015;6(4):278–286.

- 259 - Cruz-Jentoft AJ, Bahat G, Bauer J, Boirie Y, Bruyère O, Cederholm T, et al. Sarcopenia: revised European consensus on definition and diagnosis. *Age Ageing*. 2019;48(1):16-31.
- 260 - Marzetti E, Picca A, Marini F, Biancolillo A, Coelho-Junior HJ, Gervasoni J, et al. Inflammatory signatures in older persons with physical frailty and sarcopenia: The frailty “cytokinome” at its core. *Exp Gerontol*. 2019;122:129-38.
- 261 - Wilson, Jackson T, Sapey E, Lord JM. Frailty and Sarcopenia: The potential role of an aged immune system. *Ageing Res Rev*. 2017;36:1-10.
- 262 - Rong YD, Bian AL, Hu HY, Ma Y, Zhou XZ. Study on relationship between elderly sarcopenia and inflammatory cytokine IL-6, anti-inflammatory cytokine IL-10. *BMC Geriatr*. 2018;18(1):308.
- 263 - Fülöp T, Witkowski JM, Pawelec G, Alan C, Larbi A. On the Immunological Theory of Aging. *Interdiscip Top Gerontol*. 2014;39:163-76.
- 264 - Yin MJ, Xiong YZ, Xu XJ, Huang LF, Zhang Y, Wang XJ, et al. Tfh cell subset biomarkers and inflammatory markers are associated with frailty status and frailty subtypes in the community-dwelling older population: a cross-sectional study. *Aging (Albany NY)*. 2020;12(3):2952-73.
- 265 - Trollor JN, Smith E, Agars E, Kuan SA, Baune BT, Campbell V, et al. The association between systemic inflammation and cognitive performance in the elderly: the Sydney Memory and Ageing Study. *Age (Dordr)*. 2012;34(5):1295-308.
- 266 - LiCastro F, Pedrini S, Caputo L, Annoni G, Davis LJ, Ferri C, et al. Increased plasma levels of interleukin-1, interleukin-6 and a-1-antichymotrypsin in patients with Alzheimer’s disease: peripheral inflammation or signals from the brain? *J Neuroimmunol*. 2000;103(1):97-102.
- 267 - Marcos-Pérez D, Sánchez-Flores M, Proietti S, Bonassi S, Costa S, Teixeira JP, et al. Association of inflammatory mediators with frailty status in older adults: results from a systematic review and meta-analysis. *GeroScience*. 2020.
- 268 - Lara J, Cooper R, Nissan J, Ginty AT, Khaw KT, Deary IJ, et al. A proposed panel of biomarkers of healthy ageing. *BMC Med*. 2015;13:1-8.
- 269 - Lang PO, Michel JP, Zekry D. Frailty syndrome: a transitional state in a dynamic process. *Gerontology*. 2009;55(5):539–549.

270 - Steinmeyer Z, Delpierre C, Soriano G, Steinmeyer A, Ysebaert L, Balardy L, et al. Hemoglobin concentration; a pathway to frailty. *BMC Geriatr.* 2020;20(1):202.

271 - Soysal P, Stubbs B, Lucato P, Luchini C, Solmi M, Peluso R, et al. Inflammation and frailty in the elderly: A systematic review and meta-analysis. *Ageing Res Rev.* 2016;31:1-8.

272 - Valdiglesias V, Marcos-Pérez D, Lorenzi M, Onder G, Gostner JM, Strasser B, et al. Immunological alterations in frail older adults: A cross sectional study: *Exp Gerontol.* 2018;112:119-126.

12.1 - Anexo 1

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**1. Informações ao participante ou responsável:**

1.1. Você está sendo convidado (a) a participar de uma pesquisa intitulada “*Envelhecimento Saudável em Populações Brasileiras*”. O tempo de duração desta pesquisa será de 48 meses, sendo que a coleta de dados terá início em Novembro de 2018 e término em Dezembro de 2021. Caso concorde em participar desta pesquisa, ao final da leitura deste termo de consentimento você deverá assiná-lo em duas vias, sendo que uma delas ficará com os pesquisadores responsáveis.

1.2. Essa pesquisa tem como objetivo entender quais os fatores biológicos estão relacionados ao envelhecimento saudável na população brasileira.

1.3. O envelhecimento está geralmente associado ao aparecimento de doenças inflamatórias crônicas, ao aumento da suscetibilidade a infecções e à redução na capacidade de realizar várias atividades físicas e mentais. No entanto, algumas pessoas envelhecem sem doenças e preservam muitas dessas capacidades. Chamamos esse processo de “envelhecimento saudável”.

1.4. Um pesquisador, através de um questionário, fará perguntas a respeito da sua saúde, dos seus hábitos, da sua moradia e da sua família. Você poderá se recusar a responder qualquer pergunta que por ventura lhe causar algum constrangimento.

1.5. Além do questionário, serão necessários alguns testes para verificar o seu estado de saúde. Esses testes serão feitos a partir da coleta de materiais biológicos: fezes (para o exame de parasitoses intestinais e avaliação da microbiota intestinal), urina (para verificar os componentes secretados na urina), saliva (para avaliar os marcadores genéticos) e de sangue. As fezes e a urina serão coletadas por você mesmo(a) e serão fornecidas instruções do profissional da saúde sobre como coletar esse material em suas consultas de rotina. Os testes parasitológicos nas fezes serão realizados no laboratório da UNIVALE/UFJF (ou no Centro de Pesquisas René Rachou) e a análise da microbiota será feita em uma instituição parceira da Itália (UNIBO). O sangue será coletado do seu braço e será utilizado para a realização de outros testes como, por exemplo, o hemograma (que mostra a contagem dos glóbulos vermelhos e brancos), o teste de ELISA, para medir anticorpos e outras substâncias presentes no sangue como as citocinas que irão mostrar como o seu organismo se defende de infecções, por exemplo. Será necessário coletar cerca de 20 mL do seu sangue.

1.6. Haverá coleta, transporte, armazenamento e utilização do material biológico humano, somente para fins de pesquisa, sendo o mesmo destruído após a utilização ou fim da pesquisa. Caso haja intenção de uso em pesquisas futuras ou compartilhamento com outras instituições, o seu sangue/fezes poderá ser usado em outras pesquisas, mas você será consultado(a) nesse caso.

1.7. O sangue será coletado por profissional treinado que usará jaleco e luvas. Todo o material utilizado para a coleta é estéril e descartável. A coleta de sangue pode causar leve dor local podendo, em alguns casos, levar à formação de pequenos hematomas locais e discreto sangramento. Poderão ocorrer outros tipos de desconforto a você como tonturas e desmaios, ou desconfortos psíquicos como ansiedade e medo. Isto será levado em conta

no momento da coleta e, caso seja necessário, será providenciada uma coleta na posição deitada para evitar qualquer tipo de desconforto, constrangimento ou aborrecimento.

1.8. A saliva será coletada utilizando-se um cotonete bucal estéril descartável que será inserido gentilmente na sua boca e manuseado para raspar um pouco da saliva nas bochechas. O material colhido será armazenado em tubo apropriado. O procedimento é indolor e leva aproximadamente 2 minutos. O procedimento pode causar desconforto, mas não traz riscos à sua saúde. O DNA isolado dessa amostra de saliva será estudado em busca de genes relacionados ao envelhecimento saudável.

1.9. As amostras de DNA serão armazenadas no Laboratório de Imunobiologia do Instituto de Ciências Biológicas (ICB) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) por um período máximo de 10 anos. Os dados gerados a partir dessas amostras serão armazenados no banco de dados dessa mesma instituição e o seu nome será codificado para evitar a sua identificação. Somente o coordenador da pesquisa terá acesso à identificação. Todos os resultados obtidos das análises genéticas estarão disponíveis caso você solicite, eles serão utilizados para os fins propostos neste projeto e somente poderão ser utilizados para outras finalidades mediante a sua autorização.

1.10. Medidas de biossegurança serão adotadas em todos os procedimentos realizados neste projeto visando salvaguardar o coletor de qualquer possibilidade de contaminação e também evitar injúria ao paciente no ato da coleta de sangue por punção venosa. Serão observadas medidas de segurança também para acidentes cortantes ou perfurantes e os riscos de contaminação são minimizados com a realização de antisepsia do ponto de punção, assepsia das mãos entre o atendimento dos pacientes e imunização ativa contra tétano, difteria e hepatite B para todos os profissionais de saúde envolvidos neste projeto.

1.11. Caso os resultados dos exames laboratoriais sejam positivos para parasitoses, você será orientado adequadamente e encaminhado para tratamento gratuito. Os resultados relativos ao seu hemograma (contagem de células no sangue) e de urina também serão entregues a você e fornecidas explicações com relação a esses resultados.

1.12. Você não é obrigado a fazer os exames ou a doar seu sangue. A recusa não lhe causará nenhum prejuízo nem gastos.

1.13. Suas amostras de sangue, fezes, urina e saliva serão processadas no Centro de Pesquisas René Rachou/FIOCRUZ e encaminhadas posteriormente para armazenamento no Laboratório de Imunobiologia da UFMG, por um período máximo de 10 anos, sendo utilizadas para análises desta pesquisa. Essas amostras também poderão ser utilizadas em outras pesquisas, mas você será consultado(a) se isso ocorrer. As amostras serão destruídas após a realização da atual pesquisa, ou com seu consentimento, após pesquisas futuras.

1.14. Dados dos atendimentos clínicos do ambulatório de envelhecimento saudável (gerais, nutricionais e de saúde) também serão coletados dos prontuários somente com sua autorização, conforme o Termo de Compromisso de Utilização de Dados (TCUD – Anexo 1).

1.15. A sua participação ou da pessoa pelo qual você é responsável, como voluntário, não lhe conferirá nenhum privilégio, ou seja, a pessoa não receberá nenhum dinheiro pela participação. Entretanto, serão garantidos todos os cuidados necessários para sua participação de acordo com seus direitos individuais e respeito ao seu bem-estar físico e psicológico e você poderá retirar-se desta pesquisa em qualquer momento, sem que isto lhe cause qualquer prejuízo ou constrangimento.

1.16. Este estudo contribuirá para a identificação de fatores biológicos responsáveis pelo envelhecimento saudável na população brasileira e será importante para a elaboração de futuras políticas de saúde que visem criar condições para que esse envelhecimento saudável esteja ao alcance de todos.

1.17. Serão garantidos o sigilo e a privacidade de todas as informações, incluindo dos resultados do material genético, que serão resguardados, sendo reservado a você ou ao seu responsável o direito de não se identificar.

1.18. Na apresentação dos resultados seu nome não será citado, nem daquele pelo qual você é responsável. Sua identificação será mantida em sigilo durante todo o estudo e apenas a coordenadora do projeto manterá essa informação guardada em arquivo seguro.

1.19. A sua participação é importante, pois auxiliará na busca dos fatores envolvidos no envelhecimento saudável e na elaboração de medidas que ajudem na sua promoção junto à população brasileira.

1.20. Caso queira, você também pode tirar dúvidas sobre o projeto junto ao Comitê de Ética da UFMG (informações de contato e de endereço no item 2, logo abaixo) ou com as pesquisadoras responsáveis Dra. Ana Maria Caetano de Faria (coordenadora geral do projeto e professora da UFMG) no telefone 31 99741-0793 ou Dra. Gabriela Silveira Nunes Abreu (coordenadora do projeto em Governador Valadares e professora da UFJF) no telefone 33 99180-0050.

2. Identificação do responsável pela execução da pesquisa:

Título do Projeto de Pesquisa: Envelhecimento Saudável em Populações Brasileiras
Pesquisador Responsável: Profa. Dra. Ana Maria Caetano de Faria
Instituição de Origem da Pesquisa: Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG Instituto de Ciências Biológicas Departamento de Bioquímica e Imunologia Av. Antônio Carlos, 6627, Belo Horizonte, MG Tel: 31-3409-2630 / 2640 Fax: 31- 3409-2640
Comitê de Ética em Pesquisa: Comitê de Ética da UFMG Av. Pres. Antônio Carlos, 6627 - Unidade Administrativa II - 2º andar - Sala 2005 - CEP: 31270-901 - Belo Horizonte - MG Telefax: (031) 3409-4592 - e-mail: coep@prpq.ufmg.br

CONSENTIMENTO FINAL

Nome do Participante: _____

Responsável (se necessário): _____

Eu _____, concordo em participar da pesquisa, sob a responsabilidade dos coordenadores deste projeto, de forma livre e voluntária. Declaro que fui devidamente informado (a) sobre a pesquisa, assim como sobre os possíveis riscos e benefícios da mesma. O sigilo e a possibilidade de retirada do estudo também me foram devidamente informados.

Consentimento Opcional:

() Eu concordo que meu material biológico e genético sejam utilizados apenas para esta pesquisa.

() Eu concordo que meu material biológico e genético possam ser utilizados em outras pesquisas também, mas serei comunicado pelo pesquisador novamente e assinarei outro TCLE, que dará explicações sobre como e para que o meu material biológico será utilizado.

Belo Horizonte/Governador Valadares, _____ de _____ de 20_____.

Assinatura do Participante/Responsável

Assinatura do Coordenador do Projeto de Pesquisa

12.2 – Anexo 2: Questionário sociodemográfico

Nome:			
Identificação/ código:		Número de registro no HC:	
Data da Coleta:		Telefone:	
Data de nascimento:		Idade:	
Sexo:	(M)	(F)	
Escolaridade:		Profissão:	
Estado Civil:	(casado)	(solteiro)	(Viúvo)
Tratamento de água/ esgoto	(S)	(N)	Possui casa própria? (S) (N)
FOI COLETADO:			Jejum? (S) (N)
Fezes	(S)	(N)	Se sim, quanto tempo?
Urina	(S)	(N)	
Swab	(S)	(N)	
Plasma e/ou soro	plasma	soro	
Intervenção Nutricional?	(S)	(N)	Se sim, desde quando?
1ª Consulta no ambulatório?	(S)	(N)	
TCLE assinado?	(S)	(N)	

12.3 Anexo 3: Valores de citocinas/quimiocinas dos idosos acima de 80 anos atendidos nos anos de 2018 e 2019, Belo Horizonte/MG

Nº ID/ Código	Idade (anos)	Eotaxin (pg/mL)	FGF basic (pg/mL)	G-CSF (pg/mL)	GM-CSF (pg/mL)
ESHC 009	84	1603,25	30,37	1419,14	0,92
ESHC 010	92	4270,9	9,2	461,64	
ESHC 011	102	5,45	9,12	236,47	1,73
ESHC 013	80	24871,32	35,78	953,17	1,36
ESHC 014	88	71690,69	24,76	399,89	0,92
ESHC 015	100	72470,37	22,71	428,89	0,47
ESHC 016	100	4798,4	22,44	1411,58	2,86
ESHC 017	90	27565,68	26,12	260,19	0,57
ESHC 018	92	63657,32	21,63	515,61	0,72
ESHC 019	90	43868,61	52,44	1503,07	1,56
ESHC 020	87	1254,91	22,57	981,23	1,18
ESHC 021	90	38043,98	29,03	362,61	0,54
ESHC 022	98	21142,84	21,08	221,69	0,74
ESHC 023	104	1135,47	90,81	1990,78	2,43
ESHC 025	86	567,48	4,9	45,04	
ESHC 028	101	92004,05	36,57	1707,36	0,97
ESHC 029	89	7355,61	17,22	550,07	1
ESHC 030	108	73745,54	26,84	344,24	1,51
ESHC 031	87	43849,08	24,76	226,83	1,53
ESHC 032	103	4887,85	10,98	116,23	
ESHC 034	82	5,86	1,74	145,15	
ESHC 035	86	490,88	11,83	69,55	
ESHC 036	83	9534,92	15,57	182,93	0,37
ESHC 037	80	29,11	1,74	33,97	1,1
ESHC 040	88	6870,96	22,97	383,48	3,02
ESHC 041	87	12962,59	19,06	240,97	0,66
ESHC 042	100	21249,81	30,81	306,77	1,83
ESHC 043	92	19073,04	31,46	265,31	0,87
ESHC 044	85	14077,97	11,83	167,34	0,5
ESHC 045	80	1784,63	19,21	197,17	1,12
ESHC 046	84	10059,05	13,79	368,94	
ESHC 047	86		8,35	185,97	
ESHC 048	82	14108,91	17,85	189,41	0,31
ESHC 049	85	22771,3	14,52	167,34	0,52
ESHC 051	81	34703,45	17,06	215,25	0,54
ESHC 053	81	10176,87	6,94	106,97	
ESHC 054	97	28447,24	10,98	83,66	
ESHC 055	82	25602,63	15,22	232,62	
ESHC 056	84	11014,29	14,16	318,85	0,28
ESHC 057	102	14792,46	12,24	360,71	
ESHC 058	80	1591,63	15,22	171,24	
ESHC 059	82	5785,49	12,24	179,04	0,26
ESHC 060	94	54397,92	21,35	298,49	1,47
ESHC 061	81	16857,7	14,52	197,17	1,49
ESHC 062	92	13037,65	11,2	172,54	
ESHC 063	95	1507,47	6,94	233,26	
ESHC 064	82	19670,03	10,98	133,36	

IFN-g (pg/mL)	IL-1b (pg/mL)	IL-1ra (pg/mL)	IL-2 (pg/mL)	IL-4 (pg/mL)	IL-5 (pg/mL)	IL-6 (pg/mL)
4,63	0,86	108,01	3,31	2,75	8,68	108,74
		232,47	0,33	1,81	1,33	
10,58	0,74	115,26	1,3	0,56	16,42	4,25
44,84	6,18	765,73	4,12	6,77	12,63	21,38
17,83	0,63	173,3	1,88	6	8,92	3,43
9,25	0,16	243,71	3,55	5,94	24,79	7,16
18,69	0,47	357	8,09	3,59	28,77	18,72
6,65	0,16	127,28	6,01	4,69	6,49	1,44
6,16	1,07	252,87	1,55	5,21	6,36	6,22
47,75	22,51	1004,37	6,38	7,02	22,19	615,08
11,57	3,93	283,93	4,16	1,73	9,87	278,92
28,61	0,51	289,86	2,13	5,38	8,44	17,96
	0,34	210,88	1,72	3,57	7,72	2,9
69,18	94,04	1021,51	12,12	7,56	47,51	1060,18
5,35	0,11	255,33	0,14	0,86	1,33	1,63
	0,98	177,85	2,72	6,12	12,41	14,36
13,9	0,57	380,78	2,45	3,55	7,23	9,4
16,74	0,17	222,69	3,08	6,32	19,12	5,38
11,98	0,18	150,59	4,7	5,89	13,54	4,54
4,42	0,09	173,61	0,43	2,09	1,33	2,68
0,48	0,02	37,48	2,11	0,19	14,39	0,33
3,66	0,07	69,02	0,56	1,76	1,33	0,47
4,42	0,09	58,05	1,34	3,87	4,57	1,02
2,06	0,06	71,35	0,52	0,22	11,09	1,85
25,4	0,12	186,91	5,15	5,3	22,92	6,93
5,86	0,11	55,39	1,22	4,34	7,47	0,99
16,21	0,24	246,66	5,97	5,42	12,63	3,45
10,76	0,26	109,8	2,69	6,5	10,8	1,56
8,08	0,17	187,37	1,72	2,1	7,72	1,48
10,39	0,11	149,98	6,41	4,1	14,65	3,75
4,53	0,11	146,15	0,96	2,65	2,95	9,9
	0,03	224,53		4,1	16,7	0,07
7,04	0,1	117,59	0,61	4,62	5,22	1,25
4,58	0,08	71,22	0,52	3,49	6,24	1,4
10,21	0,08	100	0,61	4,17	4,83	1,02
2,59	0,05	130,6		1,33	1,01	0,32
2,46	0,05	74,97	0,24	1,87	1,79	0,76
2,33	0,1	108,85	0,96	2,7	2,38	0,95
5,41	0,09	138,28	0,61	3,14	3,64	1,02
3,66	0,06	100,45	0,43	2,67	3,64	0,62
3,88	0,1	84,15	2,45	2,97	3,23	1,52
2,71	0,08	51,82	0,14	2,08	3,64	1,48
5,16	0,11	94,37	4,7	5,31	12,63	2,84
8,88	0,08	64,48	5,52	3,21	8,68	2,62
3,25	0,05	102,21	0,24	2,41	0,68	1,79
4,37	0,04	98,56	0,33	1,03	6,98	1,73
	0,06	86,23	0,52	2,65	2,24	0,47

IL-7 (pg/mL)	IL-8 (pg/mL)	IL-9 (pg/mL)	IL-10 (pg/mL)	IL-12 (pg/mL)	IL-13 (pg/mL)	IL-15 (pg/mL)
	202,18		2,49	0,72	1,44	267,12
	31,15		3,24	0,42	0,78	121,4
	204,23	12,35	1,01	0,19	0,27	324,45
14,66	2290,47	22,13	6,47	0,87	4,73	327,28
	56,39	0,77	8,22	0,76	4,12	219,15
16,11	31,95	21,98	8,45	0,42	3,05	233,5
37,35	52,77	19,73	3,81	9,09	6,85	497,17
	43,21	15,49	6,92	6,93	3,16	192,4
10,08	187,86	9,71	5,95	0,42	2,65	158,43
6	393,22	15,24	8,53	0,46	3,14	310,03
2,22	226,87	8,26	3,35	1,91	0,67	206,06
	33,51	12,35	6,39	0,34	3,12	184,3
12,52	37,75	73,57	5,95	1,05	2,27	211,73
			5,45	1,98	2,54	636,46
	61,36		1,08	0,42	0,2	88,61
	84,6	14,09	7,87	0,76	3,23	307,1
10,25	643,02	18,08	4,74	1,68	2,31	254,02
	5,23	12,95	8,14	2,35	4,19	370,67
13	5,78	10,96	8,45	3,24	3,35	295,17
5,25	4,48	9,26	2,25	0,19	1,2	62,59
	4,8	2,84	0,61		0,03	216,34
4,63	4,34	2,95	1,89	0,64	0,77	74,49
10,25	5,49	9,61	3,58	0,42	2,19	158,43
	4,74	6,34	0,49	1,24	0,56	215,46
	15,18		8,29	11,55	4,29	546,67
10,85	2,93	9,81	6,39	1,5	2,94	175,96
	3,52	9,56	9,32	3,9	3,8	332,9
21,73	2,65	43,75	11,35	1,68	6,35	196,36
7,8	8,58	7,55	4,88	3,35	1,75	167,35
11,48	2,84	11,95	5,37	3,49	4,32	365,43
8,18	3,32	12,15	2,87	0,12	1,71	131,97
	11,33		1,22	0,04		
	3,49	34,54	5,3	0,12	3,4	101,37
	3,32	6,34	5,02	0,42	2,31	124,13
	2,76		4,81	0,42	2,68	134,52
	1,65	2,47	2,84	0,19	0,48	
3,35	1,98	1	2,19	0,16	0,56	
8,18	4,85	3,94	6,1	1,46	0,97	62,59
10,38	19,17	7,25	5,02	0,42	1,94	101,37
	11,01	11,3	5,09	0,12	1,75	66,71
	3,66		2,31	1,24	3,61	171,69
	1,98	19,63	4,08	0,34	1,37	113,13
12,64	3,83		9	0,34	3,51	286,02
12,02	2,67	8,51	5,23	5,75	1,35	273,51
16,48	2,87	10,06	5,34	0,34	1,15	
0,98	6,94		1,95	0,42	0,56	24,79
	2,93	4,87	2,9	0,87	1,65	24,79

IL-17(pg/mL)	IP-10 (pg/mL)	MCP-1(MCAF) (pg/mL)	MIP 1a (pg/ML)	MIP 1b (pg/mL)	PDGF-bb
	21059,32	69,85	128,21	735,77	9638,23
	10089,32	1,56	2,59	144,07	1350,22
6,11	22928,1	12,46	8,96	357,17	6036,96
	7266,79	191,85	59,17	1704,35	19845,3
	18141,56	17,57	6,49	709,4	546,13
	93019,75	11,63	5,81	350,15	1461,55
	14488,59	23,89	95,08	513,13	2668,4
	24913,75	54,92	2,2	199,44	880,44
	30193,76	22,66	17,39	651,59	4682,53
13,25	3882,76	32,28	227,48	5277,99	26225,94
4,79	20405,61	44,87	87,32	1493,37	11566,35
	27383,18	232	5,06	233,84	8668,92
	9162,93	50,86	3,39	420,42	26279,53
	10111,52	49,51	234,99	38668,05	8460,78
0,75	8461,48	3,85	1,42	141,65	1115,13
	4030,13	70,05	211,58	1077,16	8614,47
4,69	25163,38	56,14	10,97	1190,46	62575,56
	3044,3	143,08	2,48	204,81	4442,92
	9563,12	44,42	1,41	166,09	1317,55
2,71	16022,45	30,4	3,67	153,43	1190,78
0,9	2062,84	2,32	7,52	57,5	445,17
2,21	1693,8	21,11	1,04	63,13	2072,5
3,42	25756,43	28,6	3,1	225,61	723,83
0,9	12483,88	6,39	1,26	211,72	1177,51
	6535,16	58,02	4,72	186,12	570
3,69	4732,11	35,89	2,58	160,48	387,99
	3607,22	29,05	1,54	154,95	145,17
7,39	9039,09	91,15	1,69	160,82	1185,47
3,21	4015,95	30,2	2,55	118,81	2046,69
7,56	7013,49	28,68	1,75	87,1	418,39
2,87	61195,46	6,49	6,42	198,74	345,46
	5,27		1,1		1063,49
4,44	7879,97	37,76	1,04	213,61	270,34
	10589,35	43,02	1,52	89	442,04
	10361,7	69,11	1,28	112,27	732,35
1,81	4433,65	20,99	1,25	57,76	77,31
	9226,45	3,85	2,04	71,4	413,62
3,21	33904,89	3,33	3,42	197	657,9
3,14	7426,19	5,36	4,6	416,21	245,35
	39180,43	10,05	9,58	261,12	153,45
	1693,8	25,45	3,48	155,12	473,15
2,27	7776,03	7,64	3,57	129,53	427,88
1,51	9894,3	15,4	1,65	111,12	322,03
	6630,34	4,1	1,48	71,29	689,57
	11832,66	41,21	1,67	68,5	746,52
1,35	26419,97	31,48	5,53	155,23	
0,65	15729,99	22,61	1,6	73,88	368,5

RANTES	TNF-a (pg/ml)	VEGF (pg/mL)
25877,06	22,16	
11792,97		
24091,18	19,06	
17483,1	21,88	379,14
13994,36		
7803,23	19,92	
11698,83	44,68	
45907,72		
16224,44		246,32
8575,38	53,94	382,5
17517,54	24,91	186,98
22730,72		242,18
19952,41	14,19	242,18
2016,43		
63873,04		
21249,34		
15056,5	20,77	426,69
21477,23		
13210,15	14,51	346,49
10162,09	9,9	
787,09	4,48	
1048,26	4,23	104,95
5037,05	13,04	138,8
3565,46	8,77	75,67
5730,23		
3616,09	8,97	159,99
6675,52	18,55	
7140,61	21,06	244,26
3987,75	12,54	124,68
6959,89	17,51	260,56
7341,73	22,43	146,93
12,93		
3999,41	6,22	130,42
4999,71		127,56
6266,06		100,12
8277,36	1,92	103,35
4110,29	4,6	79,4
7286,56	7,18	118,79
7621,31	14,02	172,52
3510,02	7,79	
8845,29	11,34	150,91
6020,61	5,43	141,54
4356,77		165,06
1761,56	16,08	73,77
5355,35		1,12
5209,99		129
3715,6		91,79