



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA E MEDICINA LEGAL
MESTRADO EM PATOLOGIA

SÂMIA MACEDO QUEIROZ MOTA

PARÂMETROS DE NORMALIDADE DO SISTEMA IMUNOLÓGICO NO IDOSO EM
FORTALEZA- CEARÁ

FORTALEZA
2009

SÂMIA MACEDO QUEIROZ MOTA

PARÂMETROS DE NORMALIDADE DO SISTEMA IMUNOLÓGICO NO IDOSO EM
FORTALEZA- CEARÁ

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado em Patologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará como requisito parcial para obtenção do título de mestre.

Orientador: Dr. Prof. José Ajax Queiroz Nogueira
Co-orientador: Dr. João Macedo Coelho Filho

FORTALEZA
2009

M871p

Mota, Sâmia Macedo Queiroz

Parâmetros de normalidade do sistema imunológico no idoso em Fortaleza-Ceará / Sâmia Macedo Queiroz Mota. – Fortaleza, 2009.
70f. : il.

Orientador: Prof. Dr. José Ajax Queiroz Nogueira.
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Ceará. Curso de Mestrado em Patologia, Fortaleza-Ce, 2009.

1. Sistema imune. 2. Idoso. 3. Saúde do idoso. I. Nogueira, José Ajax Queiroz (Orient.) II. Título.

CDD T618.97

SÂMIA MACEDO QUEIROZ MOTA

PARÂMETROS DE NORMALIDADE DO SISTEMA IMUNOLÓGICO NO IDOSO EM
FORTALEZA- CEARÁ

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado em Patologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará como requisito parcial para obtenção do título de mestre

Data de aprovação: ____/ ____/ 2009

BANCA EXAMINADORA

Dr. Prof. José Ajax Queiroz Nogueira(Orientador)
Universidade Federal do Cceará

Prof. Dr. Max Victor Carioca Freitas

Prof. Dr. Charlys Barbosa Nogueira

Prof. Dr. Jarbas de Sá Roriz Filho

Dedico este trabalho aos meus pais, em especial a minha mãe, pois sempre se esforçou para minha formação profissional.

Dedico também ao Cristiano, pelo companheirismo, incentivo e força.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, agradeço a Deus pela força que me deste todos os dias.

Agradeço a todos da minha família que torceram por mim, mas principalmente aos meus pais.

Agradeço também ao Cristiano por todo apoio que recebi.

Agradeço ao meu orientador José Ájax Queiroz Nogueira, pela amizade, atenção, paciência e disponibilidade.

Agradeço ao Dr. João Macedo, pelo apoio e por ter cedido o Ambulatório de Geriatria (UFC) para realização deste trabalho.

Agradeço a todos os profissionais do Ambulatório de Geriatria que auxiliaram direta ou indiretamente para realização deste trabalho, mas em especial aos geriatras Dr. Charlys, Dr. Arnaldo, Dra. Luciana e Dra. Raquel.

Agradeço também, a todos os voluntários que participaram desta pesquisa.

Agradeço ao Sr. Roberto Picanço Filho e meu chefe Paulo Germano de Carvalho, por terem disponibilizado o Laboratório (LARP) para realização dos testes laboratoriais.

Agradeço aos profissionais do LARP por terem me ajudado na execução dos exames laboratoriais.

Agradeço também aos profissionais do Hospital Universitário Walter Cantídio pelo apoio que recebi.

Agradeço aos profissionais da biblioteca da Universidade Federal do Ceará e da Universidade de Fortaleza, pela atenção.

Agradeço aos amigos Diego e Otacílio, pelo auxílio no inglês.

Agradeço aos meus amigos e colegas de mestrado que me ajudaram.

Agradeço a todos os professores do mestrado pela ajuda e disponibilidade.

Enfim, agradeço a todos que direta ou indiretamente contribuíram para realização deste trabalho.

Para aqueles que têm força de vontade as ocasiões
sempre são favoráveis, ao passo que os fracos
vivem a esperar pela oportunidade.
“Adão Myszak”

RESUMO

No mundo, o número de indivíduos cuja idade é superior a 60 anos crescerá exponencialmente e, em 2025, espera-se uma elevação de 694 milhões no número de pessoas mais velhas. O envelhecimento é um processo complexo que afeta uma variedade de funções, incluindo o desenvolvimento e a manutenção do sistema imunológico. Dessa forma, os idosos são mais freqüentemente acometidos por infecções e neoplasias do que os jovens. Essas patologias podem ser atribuídas, em parte, ao envelhecimento do sistema imunológico, chamado imunossenescência. O objetivo deste trabalho foi descrever o perfil imunológico de uma população de idosos saudáveis. Foram colhidas amostras de 35 voluntários com idade igual ou superior a 60 anos, de ambos os sexos, onde foi utilizado, como controle, o mesmo número de voluntários com idade entre 20 e 38 anos. Foram realizados 16 exames laboratoriais diferentes para definir as principais alterações na imunossenescência. Os resultados evidenciaram alterações tanto na imunidade inata, quanto na imunidade adaptativa no organismo idoso. As alterações encontradas na imunidade inata foram: aumento do número de neutrófilos no sangue venoso; aumento da concentração do componente C4 do complemento; e aumento da concentração de interleucina-6. As alterações da imunidade adaptativa foram: redução na quantidade dos linfócitos (leucograma) e das subpopulações linfocitárias CD2+, CD3+ e CD8+ (imunofenotipagem); e aumento na concentração da imunoglobulina IgA e diminuição da concentração de IgM. Podemos concluir, dessa forma, que este trabalho foi de grande relevância para definir os parâmetros normais do sistema imunológico de um indivíduo idoso saudável e aperfeiçoar a nossa compreensão deste sistema. Assim, também se constitui num passo necessário no sentido de identificar, no futuro, formas de melhor tratar as causas subjacentes da imunossenescência e suas conseqüências.

Palavras-chave: Sistema Imune. Saúde do idoso. Idoso.

ABSTRACT

Worldwide, the number of individuals whose age is over 60 years will grow exponentially. It is projected an increase of 694 million in the number of older people in 2025. Ageing is a complex process that negatively impacts the development of the immune system and its ability to function. Immunosenescence is a multifactorial condition leading to many pathologically significant health problems in the aged population, it is becoming recognized that the immune system declines with age, a term known as immunosenescence, which leads to a higher incidence of infections, neoplasia and autoimmune diseases. This study attempts to describe the immunological profile of a population of healthy elderly. Thirty five elderly patients aged 60 years were subjected to a study and the same numbers of young volunteers aged between twenty and thirty eight were examined like control group. Were investigated sixteen laboratorial exams to define the main changes in immunosenescence. The results showed changes in both innate immunity and adaptive immunity in the elderly body. The changes found in innate immunity were: increase the number of neutrophils in venous blood, increasing the concentration of C4 complement component, and increased levels of interleukin-6. Changes in adaptive immunity were: reduction in the number of lymphocytes (WBC) and lymphocyte subsets CD2 +, CD3 + and CD8 + (immunophenotyping) and increased concentration of immunoglobulin IgA and decreased IgM concentration. In conclusion, this work was important to define the normal parameters of the immune system of a healthy elderly and improve our understanding of this system. Thus, it also constitutes a necessary step to identify how best to treat the underlying causes of immunosenescence and its consequence.

Keywords: Immune system. Aged. Health of the elderly

LISTA DE GRÁFICOS

1.	Frequência da população nos pacientes estudados	37
2.	Distribuição da idade em ambos os grupos.....	37
3.	Percentual de Neutrófilos (%) no sangue venoso periférico de jovens e idosos com suas respectivas médias.....	39
4.	Concentração de Neutrófilos (células/mm ³) no sangue venoso periférico de jovens e idosos com suas respectivas médias.....	39
5.	Percentual de Linfócitos (%) no sangue venoso periférico de jovens e idosos com suas respectivas médias.....	39
6.	Concentração de Linfócitos (células/mm ³) no sangue venoso periférico de jovens e idosos com suas respectivas médias.....	40
7.	Valores da VHS nos grupos jovens e idosos com suas respectivas médias.....	41
8.	Distribuição Percentual de Linfócitos CD8 (%) no sangue venoso periférico de jovens e idosos com suas respectivas médias.....	42
9.	Concentração de Linfócitos CD8 (células/mm ³) no sangue venoso periférico de jovens e idosos com suas respectivas médias.....	42
10.	Percentual de Linfócitos CD2 (%) no sangue venoso periférico de jovens e idosos com suas respectivas médias.....	43
11.	Concentração de Linfócitos CD2 (células/mm ³) no sangue venoso periférico de jovens e idosos com suas respectivas médias.....	43
12.	Distribuição das médias dos valores relativos de linfócitos (CD3) em ambos os grupos.....	44
13.	Concentração de Linfócitos CD3 (células/mm ³) no sangue venoso periférico de jovens e idosos com suas respectivas médias.....	44
14.	Concentração sérica do componente C4 nos jovens e idosos com suas respectivas médias.....	45
15.	Concentração de IgM sérica nos jovens e idosos com suas respectivas médias.....	46
16.	Concentração de IgM x Idade no grupo dos idosos.....	47
17.	Concentração de IgA sérica nos jovens e idosos com suas respectivas médias.....	47
18.	Concentração Concentração de IgA x Idade no grupo dos idosos.....	47
19.	Concentração de IL-6 sérica nos jovens e idosos com suas respectivas médias.....	48
20.	Distribuição dos valores de PPD nos jovens e idosos com suas respectivas médias.....	49

LISTA DE TABELAS

1. Valores do Leucograma dos grupos estudados	38
2. Valores dos Linfócitos analisados por citometria de fluxo dos grupos estudados	41
3. Valores dos componentes do sistema complemento dos grupos estudados	45
4. Valores das Imunoglobulinas dos grupos estudados	46
5. Resultados do teste intradérmico (PPD) em ambos os grupos.....	49

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

APC	Célula apresentadora de antígeno
EDTA	Ácido etileno- diaminotetracético
GM-CSF	Fator estimulante de colônias de granulócitos
HSCs	Células tronco hematopoiéticas
HUWC	Hospital Universitário Walter Cantídio
LARP	Laboratório de Apoio Roberto Picanço
NK	Natural killer
OMS	Organização Mundial da Saúde
PAMPS	Padrões moleculares associados a patógenos
PCR	Proteína C reativa
PRRs	Receptores de reconhecimento de padrões
Th	T helper
TLR	Toll- like receptors
TNF- α	Fator de necrose tumoral- α
VHS	Velocidade de Hemossedimentação
WHO	World Health Organization

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
1.1	Aspectos gerais	14
1.2	Bases do envelhecimento	15
1.3	Sistema imunológico	15
1.4	Imunossenescência	18
1.4.1	Alterações imunológicas no idoso	18
1.4.2	Medula osséa e timo	19
1.4.3	Imunidade Inata (celulas e moléculas)	20
1.4.4	Imunidade adaptativa (celulase moléculas)	21
1.5	Outras alterações	24
2	OBJETIVOS	27
2.1	Geral	27
2.2	Específicos	27
3	METODOLOGIA E CASUÍSTICA	28
3.1	Casuística	28
3.1.1	Critérios de inclusão.....	29
3.1.2	Critérios de exclusão.....	29
3.2	Métodos	30
3.2.1	Coleta das amostras	30
3.2.2	Análise hematológica e Velocidade de hemossedimentação (VHS)	31
3.2.3	Análise dos linfócitos por citometria de fluxo (imunofenotipagem)	31
3.2.4	Determinação do sistema complemento	32
3.2.5	Determinação de imunoglobulinas e interleucina 6	33
3.2.6	Teste para avaliação da imunidade celular.....	34
3.2.7	Análise estatística	34
4	RESULTADOS	36
4.1	População dos pacientes estudados	36
4.2	Parâmetros hematológica e Velocidade de hemossedimentação (VHS)	37
4.3	Análise dos parâmetros de linfócitos por citometria de fluxo	41
4.4	Análise dos parâmetros do Sistema complemento	44
4.5	Análise dos parâmetros para imunoglobulinas	45
4.6	Análise dos níveis de interleucina 6 (IL-6)	48
4.7	Análise dos testes de imunidade celular (teste de triagem PPD)	48

5	DISCUSSÃO	50
5.1	Avaliação da imunidade inata	50
5.1.1	Análise do Leucograma e Velocidade de hemossedimentação (VHS).....	50
5.1.2	Análise dos parâmetros do sistema complemento.....	52
5.1.3	Análise dos níveis de interleucina 6.....	53
5.2	Avaliação da imunidade adaptativa	53
5.2.1	Análise dos níveis de linfócitos.....	53
5.2.2	Análise das subpopulações linfocitárias por citometria de fluxo.....	54
5.2.3	Análise dos parâmetros para imunoglobulinas.....	55
5.2.4	Análise dos testes de imunidade celular (Tuberculina - PPD).....	56
6	CONCLUSÃO	57
	REFERÊNCIAS	58
	ANEXOS	65

1 INTRODUÇÃO

1.1 Aspectos gerais

Os avanços científicos e tecnológicos na área da saúde, nos últimos anos, contribuíram para o aumento da expectativa de vida da população mundial. O número de indivíduos cuja idade é superior a 60 anos cresce exponencialmente. Até 2025, espera-se uma elevação em torno de 694 milhões no número de pessoas mais velhas. Haverá, nessa ocasião, aproximadamente, 2 bilhões de idosos no planeta, sendo a maioria – 80% – situada nos chamados países em desenvolvimento (WORD HEALTH ORGANIZATION - WHO, 2005).

De acordo com o IBGE, no início do século XX, no Brasil, 96,7% da população contava menos de 59 anos de idade. Os idosos correspondiam, nessa época, a apenas 3,3% dos habitantes do país. Atualmente, já são 15,8 milhões, os brasileiros cuja idade é igual ou superior a 60 anos, o que corresponde a 9% da população do país. Estima-se, que em 2020, esse número superará os 32 milhões (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE, 2007).

Segundo a OMS, o idoso para os países desenvolvidos são indivíduos a partir de 65 anos de idade e nos países em desenvolvimento são aqueles com idade a partir dos 60 anos (DUTHIE Jr.; KATZ, 2002)

À medida que envelhecemos inúmeras modificações ocorrem em nossa complexa estrutura biológica. Cada organismo sofre específicas alterações morfológicas, bioquímicas, fisiológicas e psicológicas, com influências genéticas e ambientais características. As alterações que ocorrem nos idosos, geralmente, cursam de maneira insidiosa. Desse modo, as patologias, quando evidenciadas, já podem estar em avançado estágio de desenvolvimento (KANANAN; GARCIA, 2005). O sistema imunológico participa praticamente em todos os processos fisiopatológicos. Atuando como mecanismo de defesa e homeostase em doenças infecciosas, neoplásicas, inflamatórias e degenerativas (ABBAS; LICHTMA; POBER, 2000).

A compreensão das alterações imunológicas no idoso (imunossenescência) e suas conseqüências é essencial para prevenção, diagnóstico e tratamento das doenças mais freqüentes nos idosos, tais como: doenças infecciosas, doenças crônicas (como por exemplo doenças reumáticas) e câncer (AW; SILVA; PALMER, 2007).

1.2 Bases do envelhecimento

Considera-se que parte do processo de envelhecimento esteja relacionado com alterações das proteínas que compõem o organismo. Um estudo utilizando cultura de células levou os investigadores a considerar que a longevidade é determinada geneticamente, uma vez que a célula tem uma capacidade de proliferação predefinida, isto é, o número de replicações é limitado (COTRAM; KUMAR; COLLINS, 1999). Isto é corroborado com a teoria do relógio biológico, ou seja, a multiplicação celular funciona como um “relógio”, tendo seu envelhecimento programado (KANAAAN; GARCIA, 2005).

Um possível mecanismo para a teoria genética é que, em cada divisão celular, ocorra uma replicação incompleta das extremidades do cromossomo (encurtamento telomérico) o que leva, em última instância, à parada do ciclo celular. Quando as células somáticas se multiplicam, apenas uma pequena porção do telômero é duplicado, tornando-se progressivamente mais curto. Após um número fixo de divisões, as células estacionam em um determinado estágio sem capacidade de se dividir, conhecido como senescência celular (COTRAM; KUMAR; COLLINS, 1999).

A atividade imunitária, como a maior parte das funções fisiológicas, diminui com a idade, o que também tem sido utilizada como base teórica para explicar o processo de envelhecimento (AGOSTINHO, 2004).

Embora outros fatores e mecanismos estejam seguramente envolvidos no envelhecimento, este trabalho faz uma revisão do envelhecimento do sistema imune, denominado imunosenescência.

1.3 Sistema imunológico

O sistema imune evoluiu para manter nossa identidade antigênica atuando na eliminação de agentes patogênicos como vírus, bactérias, protozoários, fungos, parasitas multicelulares e células tumorais. Além disso, este sistema possui diversos mecanismos de controle interno que evitam o desenvolvimento de imunopatologias. Os mecanismos de defesa variam desde proteções mecânicas até complexos mecanismos celulares e moleculares (JANEWAY *et al.*, 2005).

Existem, didaticamente, dois tipos de imunidade, a inata e a adaptativa:

- *Imunidade Inata*

A imunidade inata funciona como uma primeira linha de defesa. O sistema inato é constituído por diversos componentes. Primeiramente, as barreiras físicas – como a epitelial e as secreções corpóreas. Ultrapassadas tais barreiras, os patógenos encontram, células e moléculas que podem, ainda, destruí-los. Atuam, então, outros mecanismos celulares – mediados por macrófagos, neutrófilos, células dendríticas e células NK (*Natural Killer*), por exemplo – e moleculares – compostos pelo Sistema Complemento, PCR (proteína C reativa), dentre outros. Tais processos são mecanismos de fagocitose e citotoxicidade que podem destruir, ou não, os patógenos (PEAKMAN; VERGANI, 1997).

Células do sistema imune inato detectam padrões moleculares associados a patógenos (PAMPS) que se conservam nos processos evolutivos dos microorganismos, tão diversos quanto: bactérias Gram positivas e negativas, vírus, fungos e protozoários. Estas moléculas (os PAMPS) são reconhecidas por determinados tipos celulares que codificam receptores denominados de (PRRs) receptores de reconhecimento de padrões. Nos vertebrados, a resposta inata imune é essencial para iniciar a resposta imune adaptativa. A resposta imune para os PAMPS tem a seguinte seqüência: 1) detecção de um PAMP específico leva a 2) sinalização adequada da célula e 3) resposta efetora. Nos anos recentes o entendimento dos eventos moleculares foram descritos (SOLANA; PAWELEC; TARAZONA, 2006).

Dentre os componentes da imunidade inata, os neutrófilos são células importantes na por migrarem para o sítio de infecção, terem apoptose retardada, fagocitarem e destruírem patógenos. Eles existem na circulação periférica e são as primeiras células a migrarem ao tecido infectado. No sítio de infecção sua meia-vida que normalmente é de 8 a 12 horas, é prolongada. Isto permite aos neutrófilos englobar patógenos pela fagocitose e destruí-los através de mecanismos intracelulares. Ao mesmo tempo a medula óssea, sob ação de citocinas, produz um aumento no número dessas células para responder a demanda tanto sistêmica, como a nível da infecção (CRIGHTON; PUPPIONE, 2006). Embora possa reconhecer patógenos através dos chamados *Toll-like Receptors* (TLR), não percebe a composição antigênica do patógeno. Continua, entretanto, exercendo eficaz proteção (JANEWAY *et al.*, 2005).

Os macrófagos são importantes células inflamatórias, além de destruir os microrganismos fagocitados, auxiliam nas defesas contra as infecções, incluindo o recrutamento de leucócitos e reparo dos tecidos (ABBAS; LICHTMA; POBER, 2000). O termo “macrófago ativado” significa o estado no qual estas células têm maior habilidade de fagocitar e destruir microrganismos, exercendo assim, atividade anti-microbiana mais intensa (CARLOS *et al.*, 1994)

Os produtos biologicamente ativos produzidos pelos macrófagos são vários tipos de citocinas. As citocinas são mediadores solúveis liberados por linfócitos e células do sistema fagocitário, essenciais na comunicação intercelular e em muitos processos fisiológicos e patofisiológicos (JANEWAY *et al.*, 2005).

As células *Natural Killer* constituem uma população de linfócitos presentes no sangue e principalmente no baço. São linfócitos grandes, com numerosos grânulos citoplasmáticos, também denominados linfócitos granulosos. Igualmente derivados da medula óssea, não possuem, entretanto, marcadores específicos da linhagem T/B nem tampouco o receptor de células T específicos para o reconhecimento antigênico (BENLAGHA *et al.*, 2005).

As células NK atuam principalmente na imunidade inata contra células neoplásicas ou células infectadas por vírus. Podendo ser ativadas por citocinas liberadas pelos linfócitos T (SANTOS, 2003).

O sistema complemento é constituído por um conjunto de proteínas plasmáticas e celulares que são ativadas por microrganismos, complexos antígeno-anticorpo e superfícies moleculares ativadoras presentes em patógenos e células alteradas. Após sua ativação – por meio de uma cascata enzimática – diversas atividades biológicas, tais como opsonização, quimiotaxia e mecanismos de citotoxicidade, possibilitam a eliminação de patógenos e célula tumorais (ITURRY-YAMAMOTO; PORTINHO, 2001).

O componente C3 do complemento é uma proteína comum as duas vias de reação do sistema complemento, e o componente C4 é exclusiva da via clássica. Na ativação do complemento há um consumo dos componentes C3 e C4, sendo que significativas diminuições destas concentrações permitem tirar conclusões de natureza diagnóstica. As concentrações de C3 e C4 encontram-se diminuídas, por exemplo, no lupus eritematoso sistêmico (LES). Os dois componentes reagem como proteína de fase aguda, podendo apresentar concentrações aumentadas nas doenças inflamatórias (WEST, 1989).

Concomitantemente a ação da imunidade inata, desenvolve-se a imunidade adaptativa. O desenvolvimento da resposta adaptativa se inicia através da apresentação

antigênica, por APC (Células apresentadoras de antígenos), aos linfócitos T (ABBAS; LICHTMA; POBER, 2000).

- *Imunidade Adaptativa*

A imunidade adaptativa envolve interações entre receptores celulares de linfócitos T, B e anticorpos com estruturas antigênicas presentes em patógenos e células. Os linfócitos podem ser classificados em duas grandes populações: os linfócitos T e os B; segundo suas origens, evoluções e ações (JANEWAY *et al.*, 2005).

A imunidade celular é mediada, principalmente, por linfócitos T – divididas em duas subpopulações: as que apresentam o marcador CD4 e possuem a função de auxiliar nas respostas imunes e as que expressam o marcador CD8 e destroem células-alvo – e, nela, há pouca participação de anticorpos (PEAKMAN; VERGANI, 1997).

Os linfócitos T reconhecem fragmentos antigênicos, presentes em complexos, localizados na superfície de células apresentadoras de antígenos. A partir daí, há desenvolvimento de uma resposta imune específica para aquele antígeno. Tal resposta é regulada por inúmeros fatores, incluindo citocinas, quimiocinas e a presença do próprio antígeno (ABBAS; LICHTMA; POBER, 2000).

Os anticorpos são glicoproteínas bifuncionais produzidas por plasmócitos – os quais são provenientes dos linfócitos B – em resposta a um estímulo antigênico. Uma região da molécula é responsável pela ligação ao antígeno, enquanto a outra promove a função efetora que inclui opsonização e citotoxicidade (PEAKMAN; VERGANI, 1997).

1.4 Imunossenescência

1.4.1 Alterações imunológicas no idoso

A imunossenescência é caracterizada por alterações quantitativas e/ou qualitativas em componentes celulares e moleculares, os quais levam a um estado de inadequada atividade do sistema imune. Tal fato propicia uma maior susceptibilidade a infecções, menor resposta a

imunizações, maior índice de fenômenos auto-imunes, neoplásicos e degenerativos, quando comparados a indivíduos mais jovens (AW; SILVA; PALMER, 2007).

A imunossenescência é evidenciada pela diminuição na resposta celular e humoral. As mudanças celulares secundárias que acompanham o envelhecimento fornecem uma melhor compreensão da atividade imunitária. Algumas divergências existem, mas o consenso presente é que a resposta das células T está mais comprometida durante o processo de envelhecimento do que as células B (SANTOS, 2003).

1.4.2 Medula óssea e timo

As células do sistema imune possuem um breve período de vida e, portanto, há necessidade de substituição constante a partir do “pool” de células tronco hematopoiéticas (HSCs). Se as HSCs envelhecem, isso poderá comprometer todos os eventos que dependem da sua integridade, incluindo a produção de células da imunidade e conseqüentemente a resposta imune (PAWELEC, 2007).

O sistema imune periférico desenvolve-se de células tronco hematopoiéticas que se originam na medula óssea. Progenitores linfóides (incluindo células T e B) emigram da medula óssea e migram para locais periféricos especializados p. ex. timo, baço, linfonodos, para tornarem-se maduros, diferenciar e adquirir especificidade (GRUVER; HUDSON; SEMPOWSKI, 2007).

O perfil de expressão de células tronco hematopoiéticas jovens e idosas revelou que os genes que medeiam o destino e a função linfóide eram sistematicamente inibidos, enquanto que os genes de especificação mielóide eram ativados com o envelhecimento. A natureza dessas mudanças contribui para o declínio funcional das células tronco com a idade (PAWELEC, 2007).

O timo, assim como a medula óssea, é um importante órgão linfóide primário. Nele, ocorrem desenvolvimento e proliferação de células, provenientes da medula, originando linfócitos T. Neste processo, ocorre seleção e posterior eliminação, por meio de apoptose, de linfócitos T cujos receptores não reconhecem, ou reconhecem fortemente, antígenos próprios (ANDREW; ASPINALL, 2002).

Um grande número de fatores tem sido ligados ao declínio das funções das células T com a idade; porém parece que a atrofia crônica do timo induzida pela idade resultando numa diminuição na produção de células T é o fator mais importante (PAWELEC, 2007).

Com o envelhecimento, ocorre uma atrofia tímica. Esse fenômeno, que se inicia já antes da fase adulta, pode ser responsável por uma considerável porcentagem das modificações que acontecem na imunosenescência, tais como alterações na quantidade de células T ativas, não compensada pelos linfócitos dos órgãos linfóides periféricos, e por deficiências de citocinas e hormônios tímicos (ANDREW; ASPINALL, 2002).

As células epiteliais tímicas produzem um número de fatores estimulantes de colônia e citocinas hematopoiéticas tais como IL-1, IL-3, IL-6, IL-7. Tem sido demonstrado que o envelhecimento inibe a secreção de IL-7 pelas células estromais da medula óssea. IL-7 é uma citocina essencial para a manutenção e o desenvolvimento dos linfócitos. Em contrastes alguns estudos têm demonstrado um aumento de IL-6 em pessoas idosas (PAWELEC, 2007).

1.4.3 Imunidade Inata

Ainda que o número e a capacidade fagocítica de neutrófilos não se alterem, com o envelhecimento, outras funções, como quimiotaxia, produção de ânion superóxido e apoptose, apresentam-se alteradas. Isso pode ser decorrente, por exemplo, de alterações de sinalização de receptores. Os neutrófilos exibem, também, reduzida resposta ao fator GM-CSF, importante na sua gênese medular (CRIGHTON; PUPPIONE, 2006).

Os neutrófilos dos idosos não respondem eficientemente no processo de mobilização quando o sistema hematopoiético está sob estresse, como por exemplo, na quimioterapia e infecção grave prolongada. Nestas circunstâncias, o processo de migração dos neutrófilos da medula óssea para a circulação sistêmica não é tão ativado quanto em grupos jovens (CRIGHTON; PUPPIONE, 2006).

No sítio da infecção ocorre também mudanças nas atividades fagocítica e bactericida. Estudos realizados em diferentes faixas etárias demonstraram um significativo declínio da capacidade fagocítica de bactérias pelos neutrófilos, assim como, a quantidade de bactérias fagocitadas com o avanço da idade (PAWELEC, 2007).

Há uma apoptose prematura destas células que pode contribuir também para a redução na atividade fagocítica no idoso (CRIGHTON; PUPPIONE, 2006).

Segundo Fulop Jr., *et al.* (1997), concluíram que os neutrófilos senescentes são incapazes de permanecer vivos no local da infecção por tempo suficiente para desempenhar atividade fagocitária porque têm uma menor resposta à citocinas que normalmente a prolongam.

Similares são as alterações em macrófagos – há menor capacidade de quimiotaxia e de produção de agentes oxidantes. A quantidade de precursores macrofágicos/monócitos na medula óssea, assim como a produção de moléculas de sinalização oriundas dessas células já maduras, estão diminuídas (SOLANA; PAWELEC; TARAZONA, 2006).

Existem, ainda, evidências de um aumento da quantidade de células NK à medida que envelhecemos, embora a atividade dessas células, esteja diminuída. Sua resposta a citocinas, por exemplo, está reduzida, o que resulta em declínio na citotoxicidade celular e de síntese de citocinas e quimiocinas. Isso ocorre, talvez, por ação de produtos gênicos virais, como por exemplo, do citomegalovírus, os quais reduzem a expressão de marcadores de superfícies importantes para a ativação de ação de células NK (KOCH *et al.*, 2006).

Células dendríticas – o elo importante entre a imunidade inata e a adaptativa - são semelhantes em jovens e idosos quanto a produção de citocinas, embora as células dos idosos secretem mais IL-6 e fator de necrose tumoral- α (TNF α) (PAWELEC, 2007). Já outro estudo diz que a célula dendrítica apresenta fagocitose anormal do corpo apoptótico e falha da geração de resposta anti-inflamatória, isto pode explicar o paradoxo do aumento da inflamação associada com o envelhecimento humano (VASTO; MALAVOLTA; PAWELEC, 2006).

As complicações das infecções agudas são provavelmente, mais severas nos idosos devido a uma diminuição da imunidade inata. No entanto, as questões permanecem com relação ao envelhecimento “normal saudável” e a importância clínica das respostas às vacinações na velhice (PAWELEC, 2007).

1.4.4 Imunidade adaptativa

Estudos mostram que o número de células T periféricas é estável com a idade. Conseqüentemente, a diversidade de células T em indivíduos com idade avançada pode ficar comprometida já que a expansão clonal destas células, ocorre predominantemente na periferia (PAWELEC, 2007).

Um estudo realizado em 1999, demonstrou que mulheres sadias idosas (>60 anos) não apresentavam diferenças significativas quanto ao número total de linfócitos T, quando comparadas com mulheres adultas jovens. Porém, foram observadas diferenças em relação à proliferação das células T em resposta ao agente mitótico fitoemaglutinina, sugerindo que alguns tipos de células T específicas podem diminuir sua função nos indivíduos idosos. (KRAUS *et al.*, 1999).

Uma das principais alterações do sistema imune frente à senescência é a redução do número de células T virgem e aumento dos clones de memória, ou seja, as células T CD8+ e CD4+ de memória que se expandem, enquanto as células T CD8+ e CD4+ virgens diminuem progressivamente com o envelhecimento (VASTO; MALAVOLTA; PAWELEC, 2006).

Outra alteração na resposta imune é a mudança na relação entre células T helper 1 e 2; ocorre um aumento nas células TH-2 com simultâneo decréscimo das TH-1. A interleucina 2 (produto das células TH-1) sofre um declínio na sua produção no processo de envelhecimento, e é uma das alterações de citocinas mais observadas na imunossenescência (NOVAES *et al.*, 2005).

Células T de memória normalmente possuem a proteína CD28 na superfície, que estimula as células a dividirem quando o antígeno está presente. Mas as células de memória velhas tendem a perder o CD28, e como resultado, multiplicar menos quando exposta ao antígeno do que células mais jovens (VASTO; MALAVOLTA; PAWELEC, 2006).

Estudos realizados na Suécia, há mais de dez anos, acompanhando indivíduos cuja idade é igual ou superior a 80 anos, demonstram um excesso de células CD8+ CD27- CD28-, ou seja, linfócitos sem receptores para co-estimulação que é necessária para uma apresentação antigênica eficiente; reduzida secreção de IL-2, responsável pela proliferação e diferenciação de células T e pela ativação de linfócitos T citotóxicos e macrófagos; uma elevada concentração plasmática de IL-6, a qual atua na proliferação de células B e na resposta de fase aguda, além de uma baixa proliferação, “in vitro”, de células T, que, dentre outras causas, pode ocorrer por uma maior atividade supressora de células Tregs – CD4+ CD25^{HI} – as quais, apesar de exercerem semelhante atividade em indivíduos jovens e idosos, ocorrem em maior quantidade no último grupo, exibindo assim, maior grau de inibição. Como já citado, há um desequilíbrio entre o número de células T virgens e de memória. O último grupo predomina sobre o primeiro, reduzindo, assim, a capacidade de resposta a novos agentes (SOLANA; PAWELEC; TARAZONA, 2006; WIKBY *et al.*, 2006).

Outro componente da imunidade adaptativa, as células B também são afetadas com a idade. Deficiência nas células B têm sido relatadas em idosos, incluindo assim, redução de moléculas co-estimulatórias, deficiências na sinalização do receptor de células B e a diminuição de afinidade por imunoglobulinas (AW; SILVA; PALMER, 2007).

O número de linfócitos B circulantes diminui, no entanto, há uma maior produção de plasmócitos, e conseqüentemente de anticorpos. Além dessas alterações quantitativas, acometem o idoso, alterações qualitativas. Os linfócitos B/plasmocitos funcionantes produzem anticorpos que não atuam de forma adequada. Tais moléculas, por exemplo, não opsonizam, adequadamente, antígenos mesmo em elevada concentração e alta especificidade (COLONNA-ROMANO *et al.*, 2006; ZEDIAK; BHANDOOOLA, 2005).

As principais alterações observadas na resposta humoral estão associadas a concentração de imunoglobulinas, ao número e atividade de células B, assim como as mudanças na especificidade e afinidade dos anticorpos (WEKSLE, 2000).

As perdas de anticorpos IgG de alta afinidade durante o envelhecimento contribuem para o aumento da suscetibilidade e gravidade de doenças infecciosas, assim como na menor eficiência de vacinas em idosos, uma vez que o IgG de alta afinidade oferece maior proteção contra doenças causadas por bactérias e vírus (DUCHATEAU, 2003).

Um estudo realizado por Speziali et al. (2009) utilizando ratos, relata que há um aumento nos níveis de soro IgG e IgA com ratos mais velhos, quando comparado com os jovens, enquanto que os níveis de IgM são inalterados.

Porém, existe muitas controvérsias no que diz respeito aos padrões das imunoglobulinas no organismo senil. Outros autores afirmam que com o envelhecimento, a imunidade humoral é danificada. A quantidade de anticorpo produzida em resposta à maioria de antígenos estranhos diminui com idade. Os níveis do soro de IgM diminuem nos idosos, embora o significado desta diminuição seja desconhecido. Os níveis do soro de IgA e de IgG aumentam, possivelmente refletindo a produção aumentada de anticorpos em resposta aos vários antígenos intrínsecos ou a ativação policlonal de linfócitos B por endotoxinas bacterianas (BEERS; BERKOW, 2006).

1.5 Outras alterações

No envelhecimento o organismo sofre alterações que podem afetar a ingestão e digestão adequada dos alimentos, bem como alterar os níveis de absorção de alguns nutrientes para a manutenção da saúde (CAMPOS; MONTEIRO; ORNELAS, 2000).

A deglutição começa a se tornar lenta após os 45 anos de idade, e por volta dos 70 anos é ainda mais lenta quando comparada a indivíduos jovens. O passar da idade também acarreta diminuição da motilidade do trato digestivo, do número de papilas gustativas e diminuição da sua eficácia. Além disso, a secreção da saliva diminui e frequentemente se observa a perda de apetite (STEENHAGEN; MOTTA, 2006). Estas alterações podem levar a desnutrição, que por sua vez, é uma das causas de imunodeficiência secundária ou adquirida. A deficiência proteica em camundongos, causa imunodeficiência por meio de alterações na função das células apresentadoras de antígenos, porém em humanos, não é compreendido como a desnutrição afeta especificamente a resposta imune: ligações entre os sistemas endócrino e imune podem fornecer parte da resposta a esta questão. Seres humanos tem o nível de leptina reduzido quando em estado de inanição. Já tendo sido provado que pessoas com deficiência em leptina, geneticamente determinada, possuem respostas de células T reduzidas, levando as patologias mais frequentes dos idosos, tais como infecções e neoplasias (JANEWAY *et al.*, 2005). O hormônio de crescimento sistêmico, por exemplo, diminui significativamente com o aumento da idade e essa perda tem sido ligada ao aumento da adiposidade e um decréscimo na celularidade da medula óssea envelhecida (GRUVER; HUDSON; SEMPOWSKI, 2007).

A exposição repetida a fatores ambientais maléficos também pode acelerar o processo de envelhecimento. O dano oxidativo pode ser consequência da exposição ambiental progressiva a radiação ionizante e redução dos mecanismos de defesa antioxidantes, que também acarretam no envelhecimento (THOMSEN, 2004). As radiações levam a alterações na molécula de DNA que, se não reparadas, podem desenvolver mutações e proliferação celular anormal (COTRAM; KUMAR; COLLINS, 1999). Estas alterações celulares quando não identificadas/eliminadas (vigilância imunológica) pelo sistema imune, acarretam no desenvolvimento de tumores. A real importância da imunidade contra os tumores é mal compreendida. No entanto, está claro que o sistema imunológico de fato reage contra muitos tumores, e a compreensão dessas reações na atividade anti-tumoral de forma

específica continua sendo um importante objetivo dos imunologistas (ABBAS; LICHTMA; POBER, 2000).

Outro grave problema que está presente em uma grande parte da população idosa é a depressão. Os sintomas depressivos estão relacionados com componentes emocionais e biológicos: aflição, apatia, baixa auto-estima, perda da libido, distúrbio do sono, perda do apetite, entre outros. Contudo, a saúde mental é indispensável para o bem-estar geral do indivíduo, o diagnóstico de depressão e a correta terapia se tornam de extrema importância para os idosos (MICHELON; CORDEIRO; VALLADA, 2008). A resposta imune e sua relação com a depressão continua a ser uma área de pesquisa ao longo do tempo. Este estado emocional, depressivo, leva a redução da resposta imunológica, contribuindo com as doenças mais frequentes no idoso. Atualmente há um grande interesse nos efeitos benéficos do suporte social e como o estresse ou certas características de personalidade podem afetar a longevidade (ZORRILLA *et al.*, 2001).

Devido ao aumento na expectativa de vida a maior probabilidade dos idosos adoecerem, o setor da saúde passou a ter uma maior preocupação com a prevenção e tratamento precoce das doenças. Portanto, ações que tentam evitar a instalação de quadros mórbidos, como por exemplo a vacinação, tornou-se de extrema importância (KANAAAN; GARCIA, 2005). Sua eficiência é baseada no sistema imunológico que no idoso encontra-se comprometido (PAWELEC, 2007).

Dessa forma, o monitoramento do estado nutricional do idoso também está relacionado com a resposta imune. Estudos mostraram que a suplementação com zinco promoveu melhor resposta humoral após vacinação contra o vírus influenza e menos infecção do trato respiratório. Há evidências que a vitamina E diminui a formação de radicais livres e sua deficiência pode causar prejuízo na função mediada por células T (NOVAES *et al.*, 2005).

Uma técnica simples mais eficiente para avaliar a imunidade celular é o teste tuberculina (PPD)- técnica de Mantoux- que consiste em injeção intradérmica de um antígeno do *M. tuberculosis*. A injeção do antígeno tuberculínico desencadeia uma reação que causa vasodilatação, edema e acúmulo de outras células no local, mediada por linfócitos T *helper* – CD4+. Após, aproximadamente, 48 horas, forma-se um nódulo que é a expressão da chamada resposta de hipersensibilidade tardia (STATENS SERUM INSTITUT, 2001; COTRAM; KUMAR; COLLINS, 1999).

A avaliação do sistema imunológico dos idosos pode nos orientar para uma melhor intervenção na saúde destes indivíduos, evitando assim, alguns problemas, cujo avanço poderá por em risco a autonomia dos mesmos. Dessa forma, o rastreamento precoce

possibilita reverter danos que poderiam ser irreversíveis. (FREITAS; GORZONI; PY, 2006). Uma vez que, a senescência é acompanhada por alterações no sistema imunológico e tais alterações podem estar associadas direta ou indiretamente com doenças mais prevalentes nestes indivíduos (SANTOS, 2003).

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

Descrever o perfil imunológico de uma população de idosos saudáveis.

2.2 Específicos

- Avaliar a imunidade inata de idosos saudáveis através da análise do leucograma, componentes do sistema complemento e interleucina 6
- Avaliar a imunidade adquirida de idosos saudáveis através quantificação dos linfócitos, imunofenotipagem, análise das imunoglobulinas e avaliação da imunidade celular pelo teste PPD
- Relacionar os dados obtidos entre os grupos estudados (idosos saudáveis e controle composto por adultos jovens saudáveis).

3 METODOLOGIA E CASUÍSTICA

3.1 Casuística

Este trabalho foi um estudo descritivo do perfil imunológico de idosos. Portanto, os indivíduos participantes deveriam ter idade a partir de 60 anos e fossem os mais saudáveis possíveis.

A pesquisa englobou a área de captação do serviço de Geriatria do Hospital Universitário Walter Cantídio da Universidade Federal do Ceará, percorrendo o bairro Rodolfo Teófilo do município de Fortaleza- Ceará e suas adjacências.

Foram selecionados entrevistadores que percorreram mais de 200 residências. Na visita, o entrevistador questionava a existência de algum morador com 60 anos ou mais e ao explicar o objetivo da pesquisa, tomava nota dos que concordavam em participar do estudo.

Os indivíduos para o grupo controle (adultos jovens) também foram selecionados de modo aleatório. A maioria foi selecionada no próprio Hospital (HUWC), onde acompanhavam algum paciente que aguardava ser consultado.

Teve-se como principal objetivo selecionar os idosos os mais saudáveis possíveis. Na avaliação clínica os médicos solicitaram exames bioquímicos básicos para melhor avaliar cada indivíduo. Estes exames foram: hemograma, colesterol total, triglicérides, glicose, creatinina.

O projeto que resultou no presente trabalho está em conformidade com as orientações constantes da Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde/Ministério da Saúde, e com o parecer favorável do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Ceará, sob protocolo número 066.10.08.

Todos os idosos tiveram conhecimento dos detalhes e riscos da pesquisa e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) e os mesmos pertenciam ao município de Fortaleza-Ceará.

Inicialmente, os idosos foram atendidos por médicos geriatras no Ambulatório de Geriatria da Universidade Federal do Ceará - UFC. Os pacientes foram submetidos a uma a uma avaliação clínica onde responderam as perguntas presentes no questionário em anexo.

Após esta avaliação, verificou-se que a população estudada (n = 35) apresentava idade entre 61 e 92 anos e de ambos os sexos. Em seguida, foram coletadas amostras de sangue dos 35 idosos.

Para melhor interpretar os resultados obtidos da avaliação do sistema imunológico dos idosos, um grupo de 35 adultos jovens, de ambos os sexos, com faixa etária de 20 a 38 anos, foram utilizados como controle. Os mesmos exames de triagem (bioquímicos) realizados no grupo dos idosos, também foram executados para o grupo dos jovens.

O período de coleta das amostras do grupo de estudo e do grupo controle foi dezembro de 2008 a junho de 2009. As amostras de sangue coletadas foram encaminhadas para o Laboratório de Apoio Roberto Picanço (LARP), onde foram realizados os testes hematológicos e imunológicos. O LARP é um laboratório de apoio que fica situado em Fortaleza, e atende outros laboratórios de Análises Clínicas que terceirizam alguns dos seus exames.

3.1.1 Critérios de inclusão

No presente estudo foi definido o idoso saudável o indivíduo que não apresentasse doenças crônicas, como por exemplo: artrite reumatóide, lupus eritematoso sistêmico; deveriam estar livres de infecções agudas como viroses e gripes, isentos de deficiência mental e síndrome depressiva diagnosticada ou uso de antidepressivos, como também deveriam apresentar resultados normais dos valores hematimétricos na análise do hemograma.

3.1.2 Critérios de exclusão

Foram excluídos do estudo os idosos que tivessem doenças auto- imunes, apresentassem quaisquer estados que resultem em comprometimento do seu sistema imunológico ou fossem portadores de insuficiência renal e/ou cardíaca severa. Além disso, não poderiam fazer uso de corticóides ou medicações imunossupressoras. Caso fossem hipertensos deveriam apresentar pressão controlada e na análise hematológica caso estivesse com anemia, também foram excluídos.

3.2 Métodos

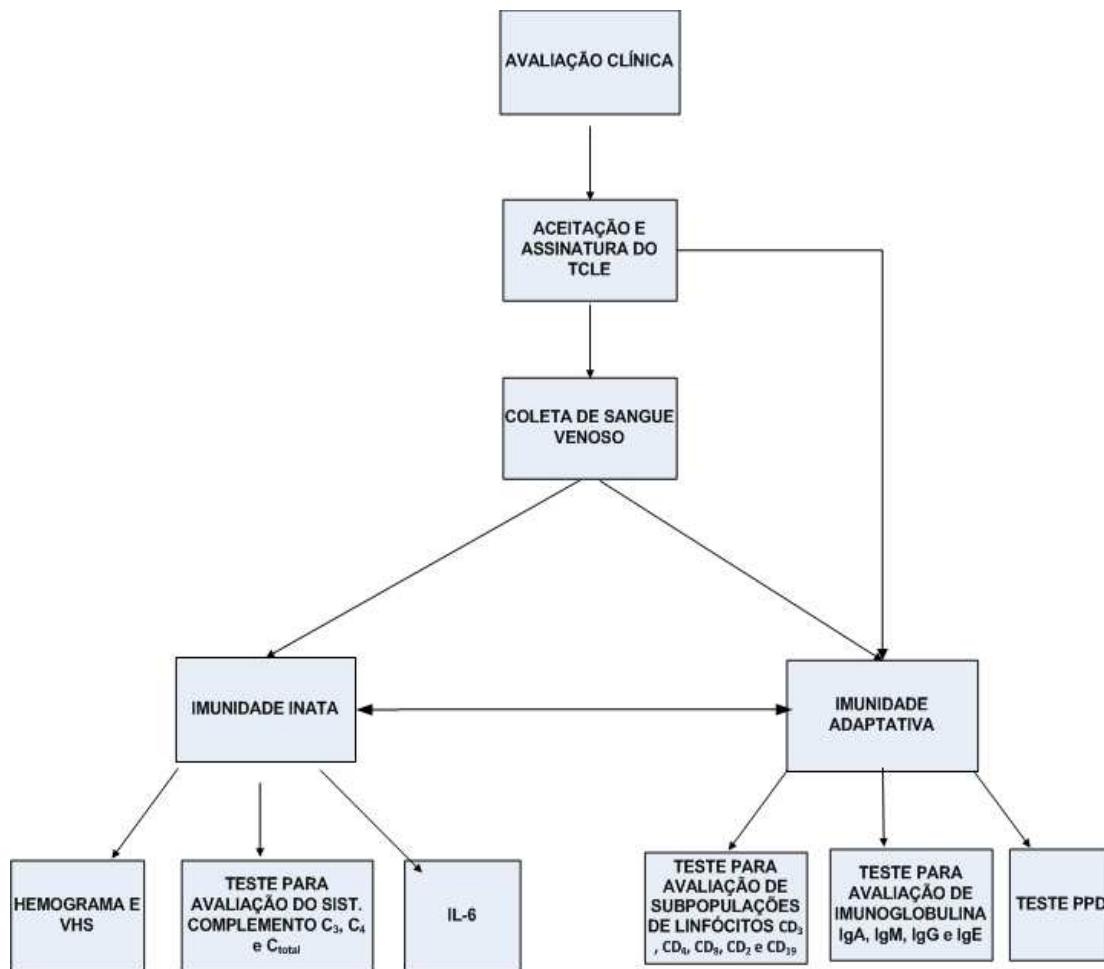


Figura 1- Representação esquemática do organograma do estudo.

3.2.1 Coleta das amostras

As amostras de sangue foram colhidas através de punção venosa, utilizando material estéril e descartável. Foi colhido um tubo de 5 mL com EDTA (ácido etileno-diaminotetracético) como anticoagulante; este foi utilizado para a realização do hemograma, VHS e imunofenotipagem (marcadores de linfócitos - CDs). Outro tubo de 8 mL sem anticoagulante foi colhido para a realização das determinações dos demais exames imunológicos, imunoglobulinas, sistema complemento e dosagem de interleucina.

As amostras colhidas foram encaminhadas ao Laboratório de Apoio Roberto Picanço. Os exames realizados neste Laboratório foram processados por automação, utilizando diversos tipos de metodologias e seguindo as normas indicadas por cada fabricante.

3.2.2 Análise hematológica e velocidade de hemossedimentação (VHS)

A determinação dos valores hematológicos e índices hematimétricos foi realizada em contador automático de células sangüíneas (modelo Pentra 60, fabricado por *HORIDA ABX Diagnostics*®) e a análise morfológica das hemácias foi realizada por microscópica dos esfregaços sangüíneos corados pelo método combinado de May-Grunwald- Giemsa (LIMA *et al.*, 1992).

A Velocidade de hemossedimentação (VHS) corresponde à medida da coluna de plasma em uma amostra de sangue após sedimentação espontânea das hemácias e pode ser utilizada para avaliação da resposta inflamatória (DUSSE *et al.*, 2002).

O VHS foi determinada usando o método Westergren que utiliza pipetas de vidro (200 mm de comprimento e diâmetro interno de 2,55 mm) (SOARES; SANTOS, 2009). O VHS consiste na medida, em milímetros, da sedimentação dos eritrócitos em uma coluna padrão após um período de 60 minutos. (INTERNATIONAL COUNCIL FOR STANDARDIZATION IN HAEMATOLOGY, 1993). A pipeta preenchida com a amostra (sangue), foi colocada em posição vertical e, após 1 hora, foi realizada a leitura (expresso em milímetros por hora (mm/h)) na coluna de plasma formada na parte superior da pipeta.

3.2.3 Análise dos linfócitos por citometria de fluxo (imunofenotipagem)

As amostras colhidas em tubo com EDTA foram submetidas ao estudo imunofenotípico utilizando o citômetro de fluxo (Beckman Coulter®), obtendo-se os valores percentuais e absolutos dos linfócitos e de suas subpopulações.

Seguindo normas do fabricante, 100µL de sangue total foram incubados por 15 minutos com uma combinação de anticorpos monoclonais marcados (10µL de cada um deles), em local escuro, à temperatura ambiente. Os anticorpos monoclonais, conjugados com

fluorocromos específicos foram usados para quantificação das células através da ligação a moléculas de superfície celular: CD3, CD4, CD8, CD2, CD19. Após a incubação, as amostras foram submetidas a um processo de lise, através do reagente padrão do equipamento (OptiLyse[®] C).

A técnica usada segue os mesmos passos descritos em trabalhos anteriores. As células se ligam ao conjugado (anticorpo-fluorocromo) através de um antígeno, (o anticorpo monoclonal reconhece o epítipo específico da célula e se liga a este). Posteriormente, as células em suspensão foram injetadas no equipamento. Cada célula atravessa um jato de luz focalizada (laser) que ao se chocar com a célula, se desvia, esta mudança de direção, é registrada por detectores de luz e fluorescência especiais. Estas informações são processadas e armazenadas de forma digital no equipamento (HERZENBERG *et al.*, 2002).

Em seguida, os resultados processados pelo programa de computador do equipamento informaram sobre os valores percentuais de cada uma das diversas subpopulações estudadas. Os valores absolutos das subpopulações de linfócitos são calculados indiretamente, multiplicando-se o valor percentual obtido pelo número total de linfócitos medidos no hemograma anteriormente realizado.

3.2.4 Determinação do sistema complemento

Os soros sanguíneos obtidos das amostras de sangue colhidas sem anticoagulante foram utilizados para avaliação do Sistema complemento (dosagem de C3, C4 e Complemento total). Foi utilizado para determinação das proteínas do sistema complemento o equipamento fabricado por Dade Behring[®] (modelo Nephelometer II) que já vem com todos os seus reagentes prontos para uso.

O método nefelométrico (*Dade Behring[®]*) mede a aglutinação das moléculas ligadas entre si (antígeno e anticorpo) através da intensidade da luz refletida (RIFAI; TRACY; RIDKER, 1999).

Inicialmente, colocou-se todos os reagentes e controles no equipamento, em seguida, também foram adicionadas as amostras de cada paciente. Automaticamente as amostras e os reagentes específicos de cada reação foram pipetadas pelo nefelômetro.

A nefelometria é uma técnica muito utilizada, seu princípio metodológico avalia as proteínas contidas no soro humano que formam imunocomplexos numa reação com anticorpos específicos que dispersam a luz radiada (PACIFICO *et al.*, 1995).

3.2.5 Determinação de imunoglobulinas e interleucina 6

Os soros obtidos das amostras de sangue colhidas sem anticoagulante foram utilizados para avaliação das seguintes imunoglobulinas: IgG, IgM, IgA e IgE. A técnica utilizada na determinação de IgG, IgM e IgA foi a mesma empregada para o sistema complemento, ou seja, a nefelometria, que avalia a intensidade da luz difusa dependendo da concentração da respectiva proteína na amostra (WHICHER *et al.*, 1994).

A nefelometria é considerada um método de referência para dosagem de proteínas séricas, muitos equipamentos de nefelometria expressam seus resultados na concentração de mg/dL (THUILLIER, 2008)

Como descrito anteriormente, o equipamento usado foi fabricado por Dade Behring® e todos os reagentes foram fornecidos pelo próprio fabricante e já são prontos para uso. Apenas foram adicionados ao nefelômetro os reagentes específicos para cada imunoglobulina e em seguida, as amostras dos pacientes.

Já para a dosagem de IgE e interleucina 6 (IL-6) foi utilizado um outro método que tem como princípio a quimioluminescência.

A imunoglobulina E (IgE) foi determinada por automação utilizando o equipamento ACS 180 (Bayer®). Sendo todos os reagentes fornecidos pelo fabricante e prontos para uso. O ensaio realizado pelo equipamento detecta antígenos ou anticorpos, em conformidade com princípios de ligação dos imunoenaios (HALL *et al.*, 1998). O ACS 180 utiliza como agente quimiluninescente o éster de acridina, acoplado a anticorpos ou antígenos. A luz quimiluninescente é ampliada pela mudança de pH do meio, de ácido para básico e por fim, o software do equipamento calcula automaticamente os níveis de IgE sérico e armazena estes resultados (PATTERSON *et al.*, 1994).

A metodologia de quimiluninescência é a geração de luz na forma de fótons através da liberação de energia por uma reação química. Ela é utilizada como ferramenta para determinações de uma ampla variedade de análises clínico-laboratoriais (DUDLEY, 1990).

Pode detectar através desta técnica a IL-6 que é um marcador sérico de reação inflamatória. (CALDAS *et al.* 2008).

A determinação sérica da interleucina-6 foi realizada em processador automatizado de ensaios de quimiluminescência (IMMULITE®, da empresa DPC Medlab®) com reagentes fornecidos pelo próprio fabricante. Apenas, colocou-se no equipamento os reagentes e as amostras de cada paciente e automaticamente toda a reação foi processada.

3.2.6 Teste para avaliação da imunidade celular

Para avaliar a infecção/contato com *M. tuberculosis* pelos idosos, foi realizada a aplicação do PPD para verificar a resposta imune celular. Usou-se a técnica de Mantoux, que consiste em injeção intradérmica de um antígeno do *M. tuberculosis* (BRASIL, 2005, p. 738).

Inicialmente, foi feita anti-sepsia com álcool 70% na face ventral do antebraço do paciente. Em seguida, foi injetado na pele 0,1mL da proteína purificada derivada do (PPD RT-23) (STATENS SERUM INSTITUT, 2001).

A leitura do teste foi feita entre 48 e 72 horas. Mediu-se os diâmetros do nódulo formado sendo esta medida expressa em milímetros, desprezando-se o eritema que eventualmente se formou ao redor.

Aqueles cujos resultados foram inferiores a 4 mm foram considerados não reatores, aqueles entre 5 e 9 mm foram considerados reatores fracos e aqueles a partir 10mm foram classificados como reatores fortes para resposta imune celular contra *M. tuberculosis*.

3.2.7 Análise estatística

Para análise estatística foi utilizado o programa GraphPad Prism (versão 5.0).

O teste utilizado para avaliação da distribuição normal das variáveis contínuas foi o D'Agostino & Pearson. Quando a distribuição dos dados é normal, pode-se aplicar testes paramétricos. Já quando não tem distribuição normal, aplicam-se testes não paramétricos.

A comparação dos resultados dos parâmetros com distribuição normal foram efetuadas através do teste t-Student e para os dados sem distribuição normal foi utilizado o teste de Mann-Whitney.

O nível de significância estatística adotado para todos os testes foi $p < 0,05$.

4 RESULTADOS

4.1 População dos pacientes estudados

No presente trabalho, estudou-se duas populações: idosos saudáveis e adultos jovens saudáveis, que totalizou 70 pessoas. Destas, (68,57%) eram do sexo feminino e (31,43%) eram do sexo masculino. As idades das populações estudadas variaram entre 20 a 92 anos. No grupo dos jovens a distribuição foi de 20 a 38 anos e a média desta população foi de 27 anos. No grupo dos idosos a distribuição foi de 61 a 92 anos e a média desta população foi de 70 anos, estes dados podem ser observados nos gráficos 1 e 2.

Neste trabalho, o número de idosos do sexo masculino foi menor que a população do sexo feminino, este fato deve-se à resistência de alguns homens em colher amostras para estudo, como também, a população de mulheres é maior que a população de homens idosos.

Após a avaliação clínica e com os resultados dos exames de cada indivíduo pôde-se melhor definir quais idosos apresentavam as melhores características para participar da pesquisa.

Em relação à glicemia em jejum, dos 35 voluntários, 12 apresentaram glicemia acima de 100mg/dL. Deste modo, a média encontrada para glicose em jejum foi de 101,3 mg/dL. Atualmente, o paciente é considerado diabético quando apresentar glicose em jejum igual ou > 126 mg/dL, observada em duas ocasiões (MOTTA, 2003).

Para ter uma real análise dos dados na população idosa foram comparados os resultados obtidos dos voluntários não diabéticos e dos pré diabéticos e, segundo a análise estatística, não foi encontrado nenhum resultado com significância. Este dado foi de grande importância uma vez que o estudo teve como objetivo avaliar o idoso o mais saudável possível, ou seja, sem que haja alguma doença instalada que comprometa as análises dos exames imunológicos.

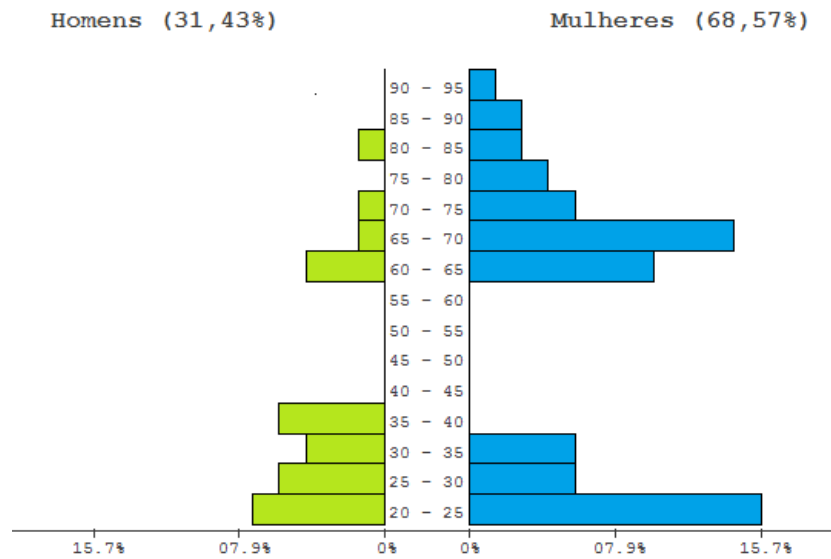


Gráfico 1 – Frequência da população nos pacientes estudados

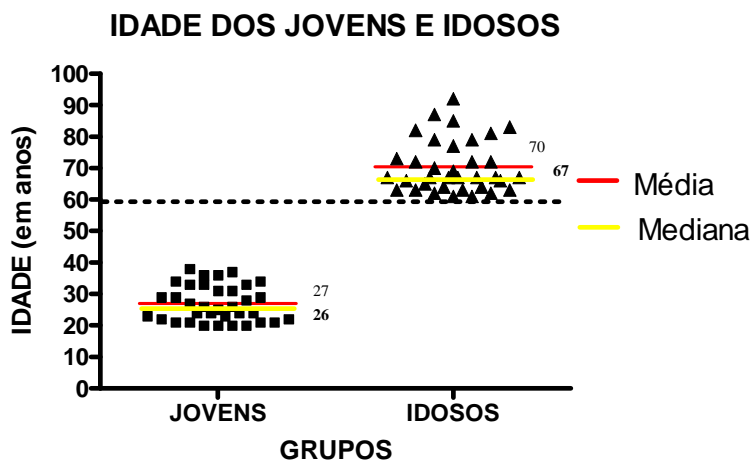


Gráfico 2 – Distribuição da idade em ambos os grupos

4.2 Parâmetros hematológicos e Velocidade de hemossedimentação (VHS)

No hemograma foi avaliado o leucograma. Sendo quantificada em valores relativos (%) e, em números absolutos, os seguintes tipos celulares: neutrófilos, eosinófilos, basófilos, monócitos e linfócitos.

Comparando o grupo dos jovens ao dos idosos, obteve-se diferença estatisticamente significativa nos valores de neutrófilos e linfócitos, sendo que os neutrófilos

só apresentaram esta diferença nos valores relativos (%), onde foi encontrado um $p=0,0476$. (Gráficos 3 e 4). Assim, pode-se observar que os valores encontrados para os neutrófilos foram maiores na população idosa.

Apenas na população de linfócitos, observou-se diferença estatisticamente significativa, tanto na contagem relativa (%), como na absoluta (cel/mm³). (Gráficos 4 e 5) As demais células presentes no leucograma não apresentaram diferença estatisticamente significativa entre os grupos. As médias dos valores das células analisadas no leucograma de todos as pacientes do estudo estão representados na Tabela 1.

Tabela 1 – Valores do Leucograma dos grupos estudados

	Jovens (n=35)	Idosos (n=35)	p
Leucócitos Globais	6885 ± 1714	7444 ± 1815	0,1900
Neutrófilos (%)	49,91 ± 6,09	53,31 ± 7,89	0,0476
Neutrófilos ABS	3360±1285	3640 ± 871,8	0,5978
Eosinófilos (%)	3,466 ± 1,95.	4,023 ± 2,64	0,3836
Eosinófilos ABS	255,2 ± 148,8	283,8 ± 237,2	0,9018
Basófilos (%)	0,37 ± 0,38	0,36 ± 0,4	0,9104
Basófilos ABS	27,80 ± 30,46	26,43 ± 31,99	0,8271
Linfócitos (%)	38,90 ± 5,95	34,56 ± 7,71	0,0095
Linfócitos ABS	2872 ± 670,1	2441 ± 935	0,0299
Monócitos (%)	7,009 ± 1,93	7,11 ± 1,9	0,8923
Monócitos ABS	513,7 ± 180,2	488,1 ± 185,9	0,4664

Os resultados foram reportados em valores da média ± desvio padrão.

ABS- absoluto

Os valores de linfócitos, tanto relativos como absolutos, apresentaram distribuição normal nos grupos em estudo, segundo o teste de D'Agostino & Pearson. Analisando os gráficos observou-se valores diminuídos no número de linfócitos na população de idosos. Onde se encontrou um $p= 0,0095$ para o valor relativo de linfócitos e um $p= 0,0299$ para valores absolutos. A distribuição dos valores de linfócitos em ambos os grupos, pode ser melhor visualizada nos gráficos 5 e 6.

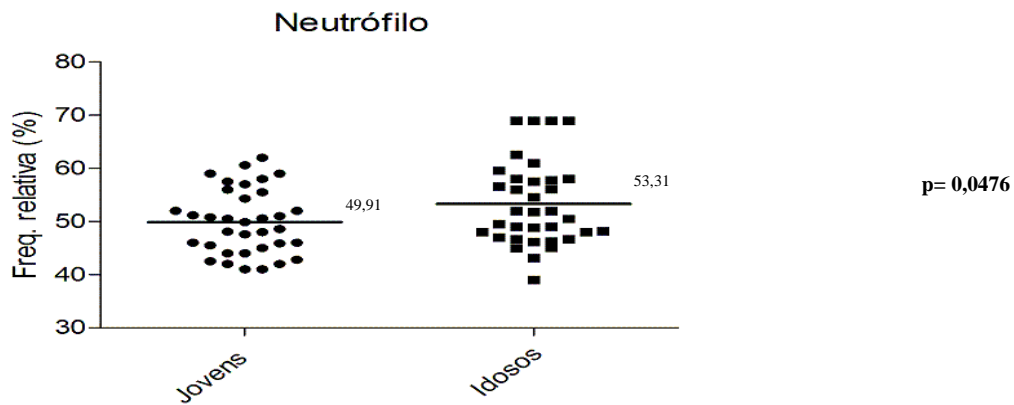


Gráfico 3 – Percentual de Neutrófilos (%) no sangue venoso periférico de jovens e idosos com suas respectivas médias.

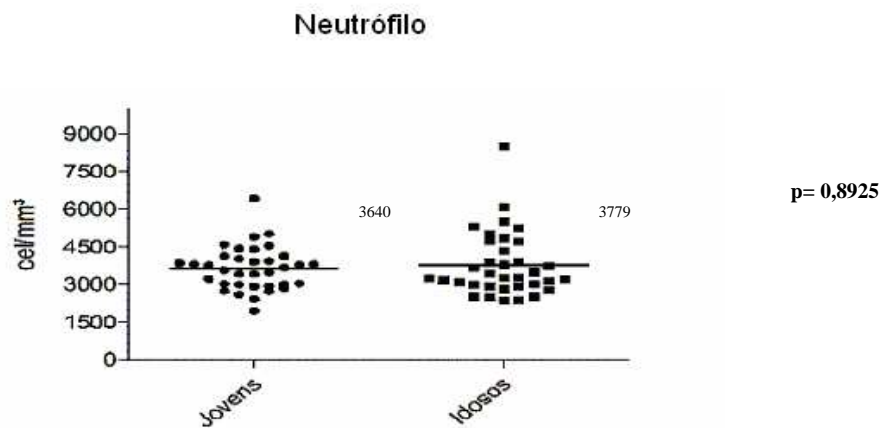


Gráfico 4 – Concentração de Neutrófilos (células/mm³) no sangue venoso periférico de jovens e idosos com suas respectivas médias.

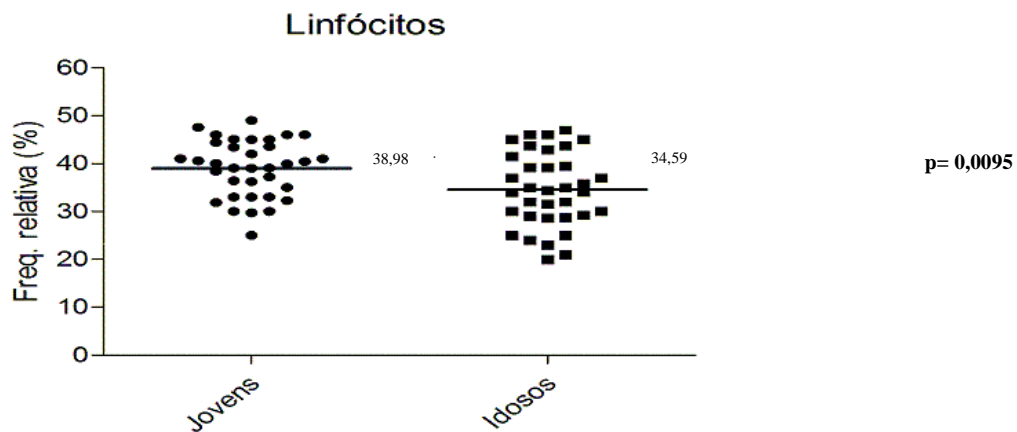


Gráfico 5 – Percentual de Linfócitos (%) no sangue venoso periférico de jovens e idosos com suas respectivas médias.

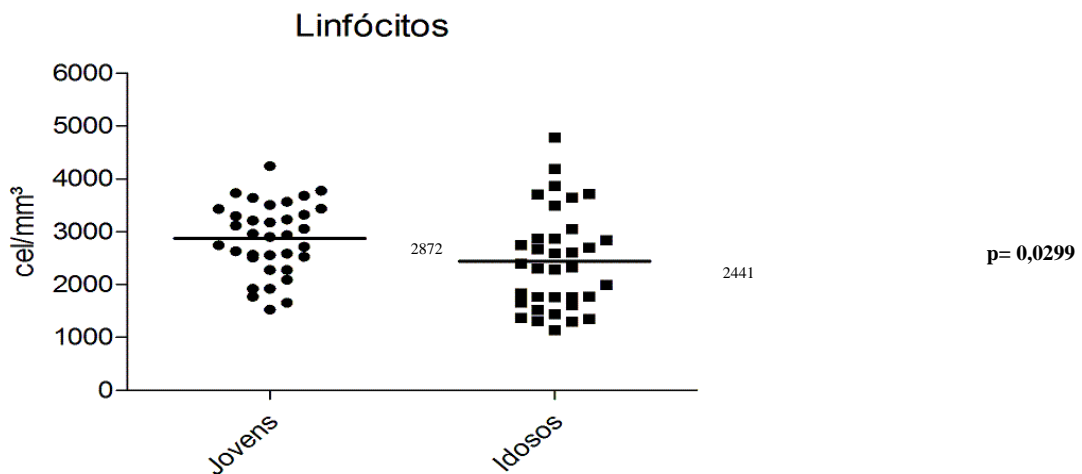


Gráfico 6 – Concentração de Linfócitos (células/mm³) no sangue venoso periférico de jovens e idosos com suas respectivas médias.

Em relação ao VHS, a comparação entre os dois grupos mostrou os seguintes resultados: o grupo dos jovens a média foi de 18,03mm e no grupo de idosos foi de 26,60mm. Estas diferenças apresentaram um $p= 0,0115$, sendo portanto, estatisticamente significativa.

Pode-se melhor observar a distribuição dos valores da Velocidade de hemossedimentação (VHS) no gráfico 7.

Utilizando o teste de D'Agostino & Pearson, verificou-se que os grupos não apresentaram distribuição normal nos valores de VHS.

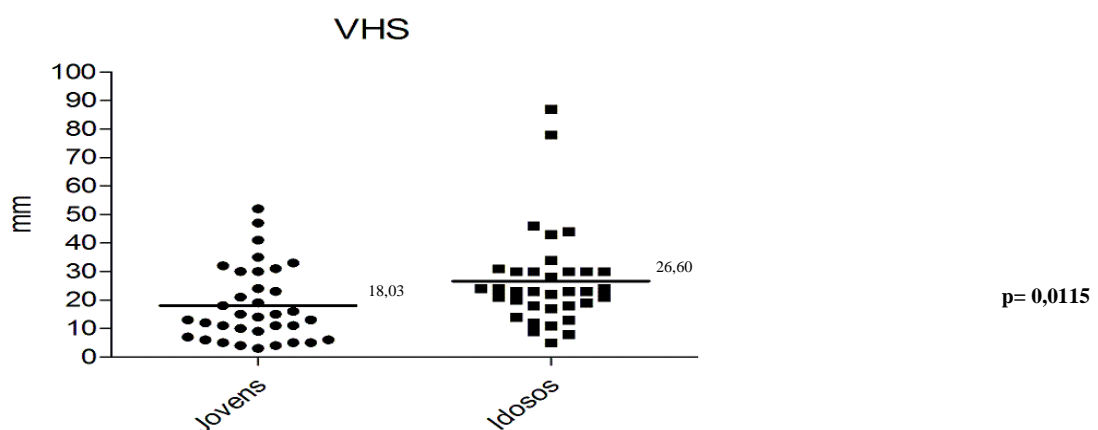


Gráfico 7– Valores da VHS nos grupos jovens e idosos com suas respectivas médias.

4.3 Análise dos parâmetros de linfócitos por citometria de fluxo

Avaliando a quantificação dos linfócitos através das moléculas de superfície celular que as caracterizam, observou-se que houve diferença significativa entre os grupos de linfócitos marcados com CD8 (LTc), CD2 (LT e NK) e CD3 (LT). Os linfócitos CD2 e CD3 apresentaram diferença estatisticamente significativa apenas nos valores relativos (%), enquanto que, o CD8 apresentou diferença tanto nos valores absolutos quanto nos relativos. Estes dados podem ser melhor avaliados nos gráficos 8,9,10,11, 12 e 13.

Já os linfócitos marcados com CD4 (LTh) e CD19 (LB), não apresentaram diferença estatisticamente significativa. (Tabela 2).

Tabela 2 – Valores dos Linfócitos analisados por citometria de fluxo dos grupos estudados

	Jovens (n=35)	Idosos (n=35)	p
CD4 (%)	43,41 ± 10,58	41,47 ± 10,34	0,4417
CD4 ABS	838,5 ± 374,8	779,7 ± 435,8	0,1569
CD19 (%)	11,58 ± 3,91	10,56 ± 4,93	0,3401
CD19 ABS	222,9 ± 103,4	191,4 ± 122,1	0,1253
CD8 (%)	27,97 ± 7,06	20,67 ± 7,89	<0,0001
CD8 ABS	575,9 ± 258,7	417,4 ± 313,4	<0,0001
CD2 (%)	80,49 ± 4,27	76,04 ± 7,81	0,0043
CD2 ABS	1577 ± 482,6	1485 ± 683,2	0,1587
CD3 (%)	74,97 ± 5,82	67,41 ± 9,5	0,0002
CD3 ABS	1467 ± 456,3	1336 ± 629,8	0,0989

Os resultados foram reportados em valores da média ± desvio padrão.

ABS- absoluto

Os idosos quando comparado com o jovens apresentaram uma contagem relativa estatisticamente significativa menor de linfócitos (CD8+), linfócitos (CD2+), e linfócitos (CD3+). Na contagem absoluta dos linfócitos (CD8+), os jovens apresentaram valores absolutos maiores do que os idosos. Deste modo, para os linfócitos CD2 relativos, obteve-se no teste t-Student para valores relativos um $p= 0,0043$ e para CD3 relativos um $p= 0,0002$. Já para os valores relativos e absolutos dos linfócitos CD8 utilizou-se o teste de Mann Whitney, onde para ambos os valores de p encontrados foram menores do que 0,0001 ($p= < 0,0001$).

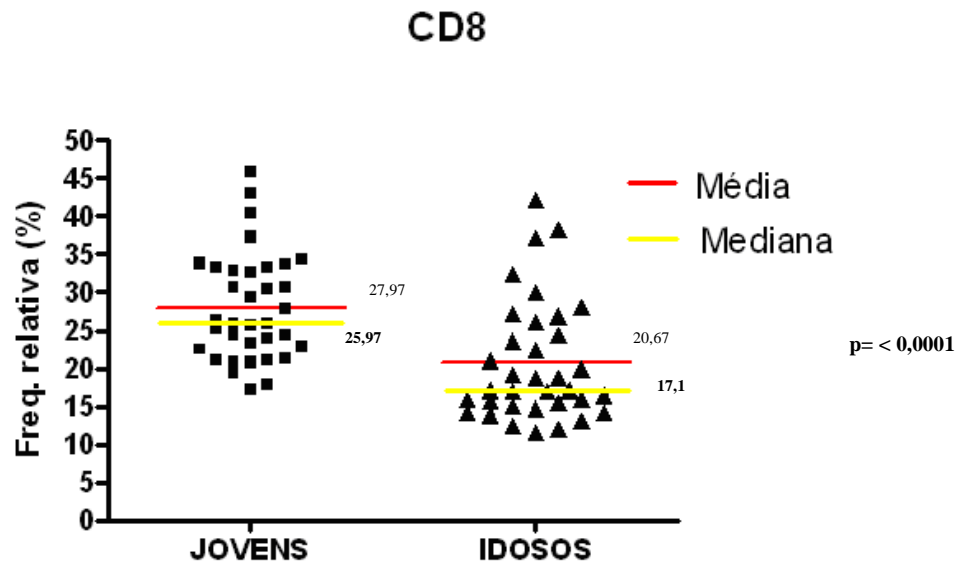


Gráfico 8 – Percentual de Linfócitos CD8 (%) no sangue venoso periférico de jovens e idosos com suas respectivas médias.

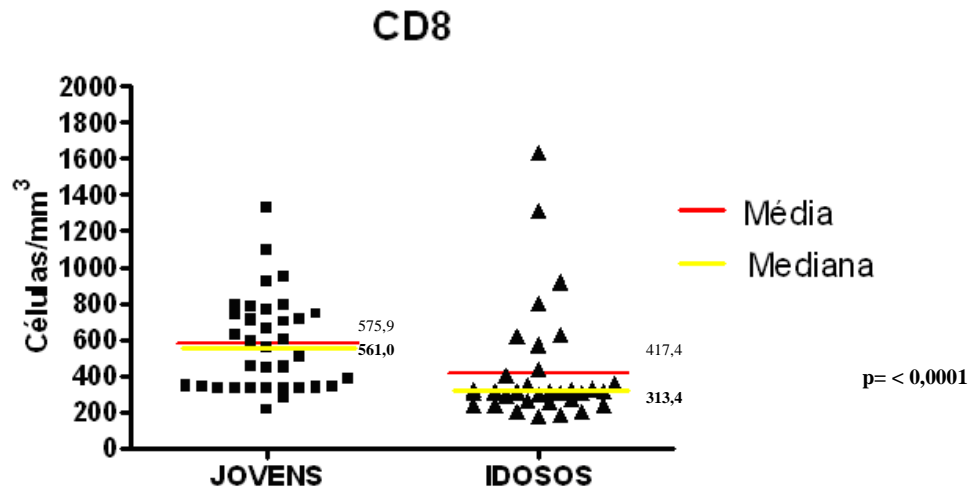


Gráfico 9 – Concentração de Linfócitos CD8 (células/mm³) no sangue venoso periférico de jovens e idosos com suas respectivas médias.

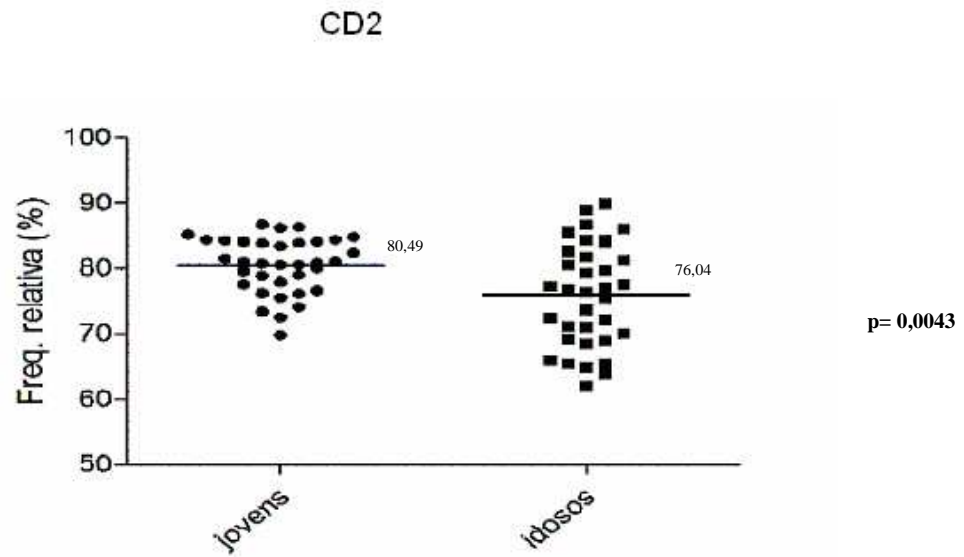


Gráfico 10 – Percentual de Linfócitos CD2 (%) no sangue venoso periférico de jovens e idosos com suas respectivas médias.

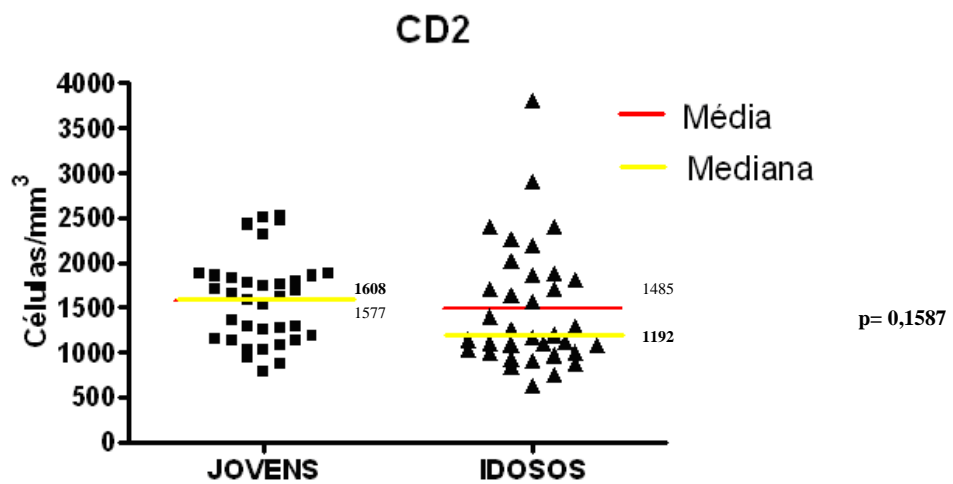


Gráfico 11 – Concentração de Linfócitos CD2 (células/mm³) no sangue venoso periférico de jovens e idosos com suas respectivas médias.

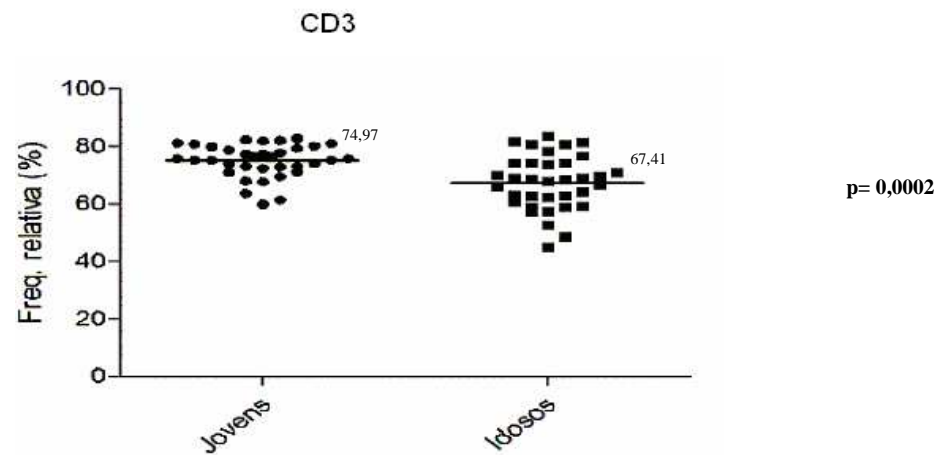


Gráfico 12 – Distribuição das médias dos valores relativos de linfócitos (CD3) em ambos os grupos

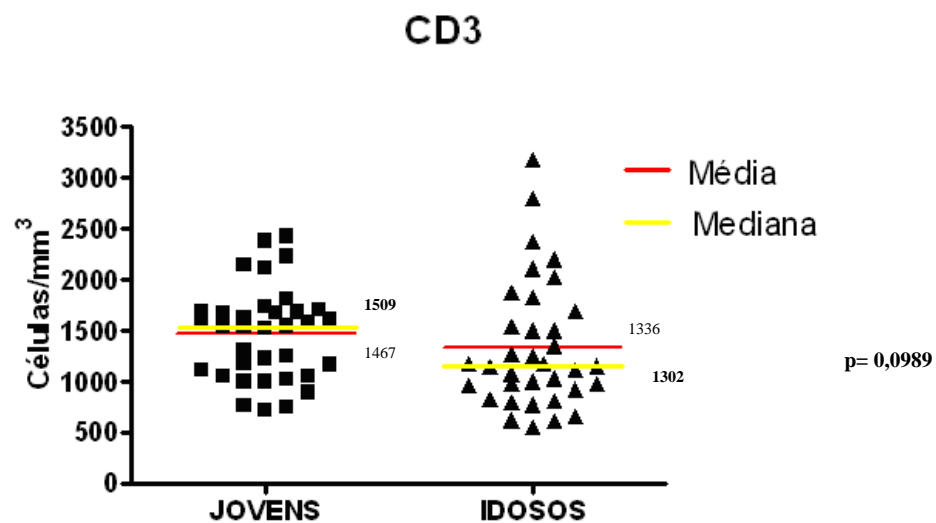


Gráfico 13 – Concentração de Linfócitos CD3 (células/mm³) no sangue venoso periférico de jovens e idosos com suas respectivas médias.

4.4 Análise dos parâmetros do Sistema complemento

Em relação ao sistema complemento (C3, C4 e Complemento total), observou-se que apenas a concentração sérica do componente C4 apresentou diferença estatisticamente

significativa na comparação entre os grupos. Já o C3 e o complemento total não apresentaram diferença significativa entre os grupos. (Tabela 3)

Os valores obtidos foram analisados com o teste t-Student, obtendo-se um $p=0,0078$. Observando a distribuição dos valores das concentrações de C4 no gráfico 14, foi verificado um aumento na concentração média de C4 no grupo dos idosos em relação ao grupo dos jovens.

Tabela 3 – Valores dos componentes do sistema complemento dos grupos estudados

	Jovens (n=35)	Idosos(n=35)	p
C3	141,1 ± 26,65	146,0 ± 35,19	0,6383
C4	22,97 ± 5,04	26,97 ± 7,0	0,0078
Complemento Total	94,36 ± 18,96	93,42 ± 28,59	0,8727

Os resultados foram reportados em valores da média ± desvio padrão.

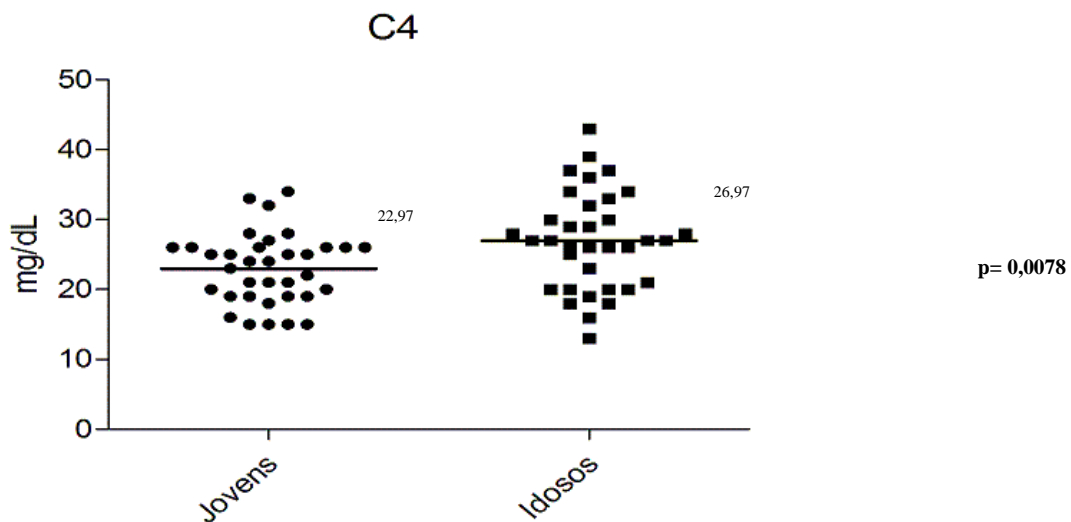


Gráfico 14 – Concentração sérica do componente C4 nos jovens e idosos com suas respectivas médias.

4.5 Análise dos parâmetros para imunoglobulinas

Comparando o grupo dos jovens e idosos, observou-se diferença significativa nas imunoglobulinas IgM e IgA. As demais imunoglobulinas (IgG e IgE) não apresentaram

diferença estatisticamente significativa entre os grupos, embora tenhamos observado uma tendência de valores séricos de IgG maiores nos pacientes idosos. Os valores das médias destas imunoglobulinas analisadas no estudo estão apresentados na Tabela 4.

Utilizando o teste de D'Agostino & Pearson, verificou-se que IgG foi a única imunoglobulina que apresentaram distribuição normal nos valores encontrados. Em relação a IgM e IgA utilizou-se o teste de Mann Whitney, onde para IgM foi encontrado um $p= 0,0098$ e para IgA $p= 0,0013$. Dessa forma, foi obtido concentrações de IgA maiores em idosos e concentrações de IgM maiores nos adultos jovens. Pode-se melhor visualizar as concentrações destas imunoglobulinas, em ambos os grupos, nos gráficos 15, 16, 17 e 18.

Tabela 4 – Valores das Imunoglobulinas dos grupos estudados

Níveis Séricos	Mínimo		Máximo		Média ± DP		P
	Jovens	Idosos	Jovens	Idosos	Jovens	Idosos	
IgA (mg/dL)	114,0	129,0	662,0	476,0	257,0 ± 109,3	329,3 ± 94,38	0,0013
IgM (mg/dL)	42,0	25,0	364,0	216,0	138,2 ± 73,77	94,46 ± 47,35	0,0098
IgG (mg/dL)	892,0	840,0	1770,0	1880,0	1356,0 ± 227,1	1446,0 ± 254,8	0,1201
IgE (UI/mL)	5,5	4,4	3100,0	2041,0	372,9 ± 693,6	220,4 ± 358,8	0,4244

Os resultados foram reportados em valores da média ± desvio padrão

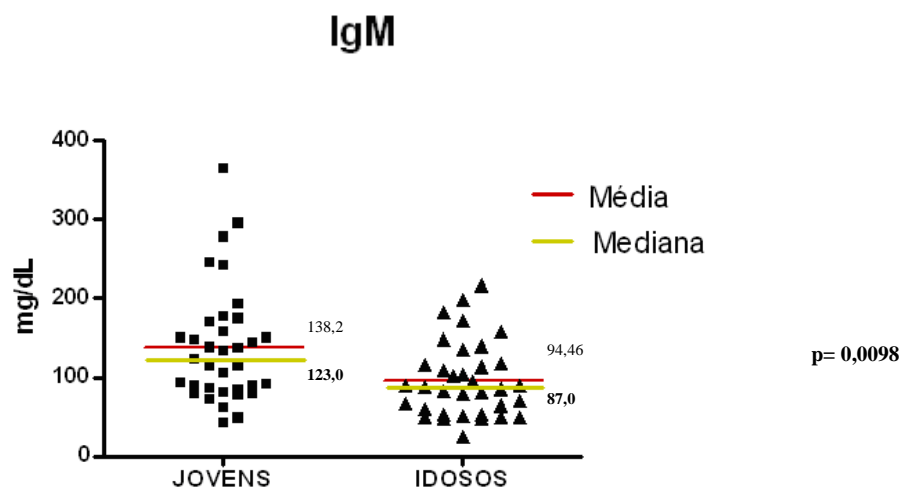


Gráfico 15 – Concentração de IgM sérica nos jovens e idosos com suas respectivas médias.

CORRELAÇÃO ENTRE IgM SÉRICA E IDADE

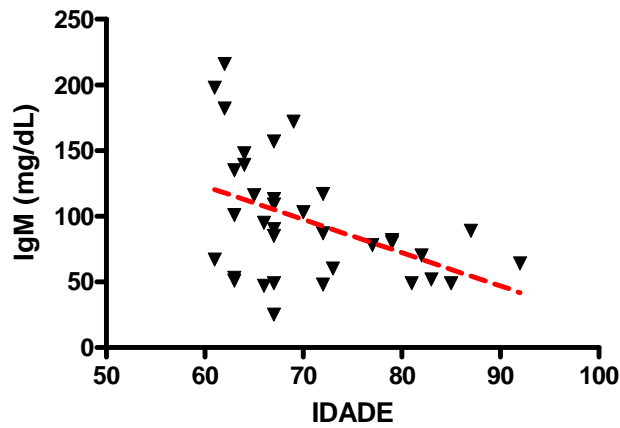


Gráfico 16 – Concentração de IgM x Idade no grupo dos idosos.

IgA

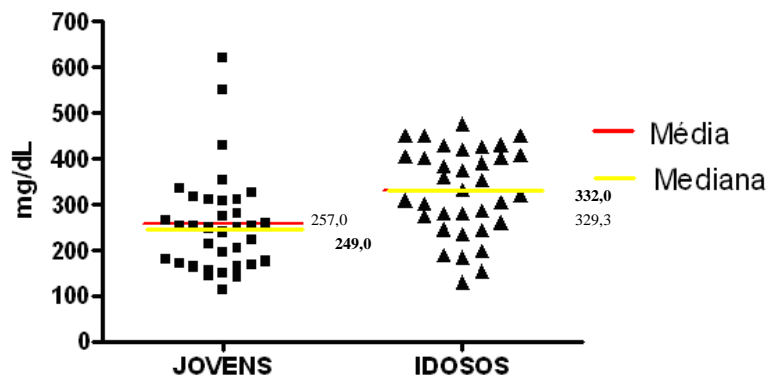


Gráfico 17 – Concentração de IgA sérica nos jovens e idosos com suas respectivas médias.

CORRELAÇÃO ENTRE IgA SÉRICA E IDADE

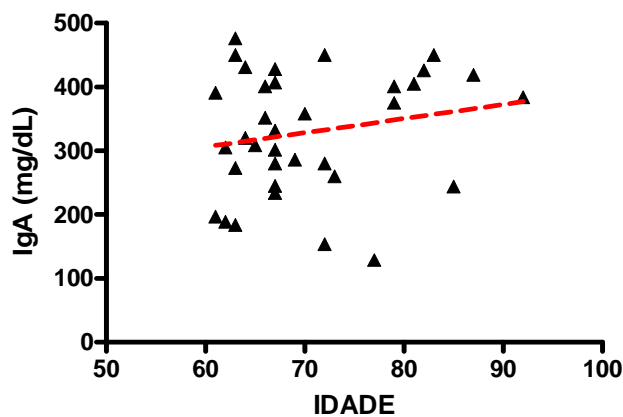


Gráfico 18 – Concentração Concentração de IgA x Idade no grupo dos idosos.

4.6 Análise dos níveis de interleucina 6 (IL-6)

Os valores de IL-6 não apresentaram distribuição normal, segundo o teste de D'Agostino & Pearson.

Os idosos quando comparados com o jovens apresentaram uma concentração significativamente maior de interleucina 6 (IL-6), onde a média encontrada para o grupo dos jovens foi de 2,150 pg/mL e média do grupo de idosos foi de 2,586 pg/mL. Pela análise estatística, foi encontrado diferença significativa entre os grupos com $p=0,0322$. (Gráfico19)

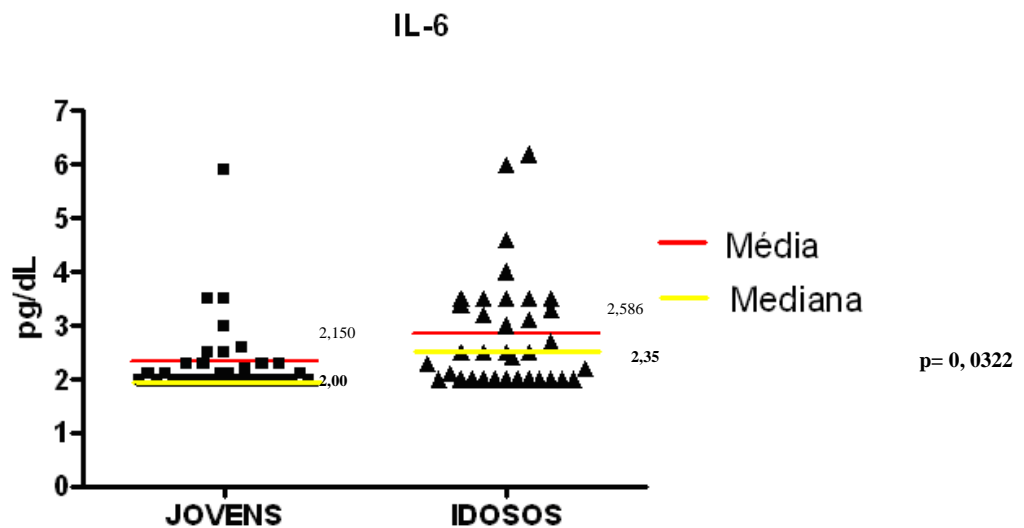


Gráfico 19 – Concentração de IL-6 sérica nos jovens e idosos com suas respectivas médias.

4.7 Análise dos testes de imunidade celular (teste de triagem PPD)

Utilizando o teste de D'Agostino & Pearson, verificou-se que no teste de PPD não apresentou distribuição normal nos valores encontrados.

As médias encontradas em ambos os grupo foram semelhantes. No grupo dos jovens a média encontrada foi de 2,543 mm e no grupo dos idosos a média encontrada foi de 2,363 mm. Estes dados podem ser melhor visualizados no gráfico 20.

Analisando os dados separadamente, observou-se mais idosos não-reatores do que jovens. Ou seja, dos 35 jovens, 27 (77,14%) foram classificados como não-reatores e dos 35

idosos, 31 (88,57%) foram classificados como não-reatores. Como reatores-fracos foram classificados 7 (20%) jovens, nos idosos apenas 2 (5,71%) pacientes e, como reatores-fortes foram classificados 1 (2,85%) jovem e 2 (5,71%) idosos. Estes dados podem ser melhores observados na tabela 5.

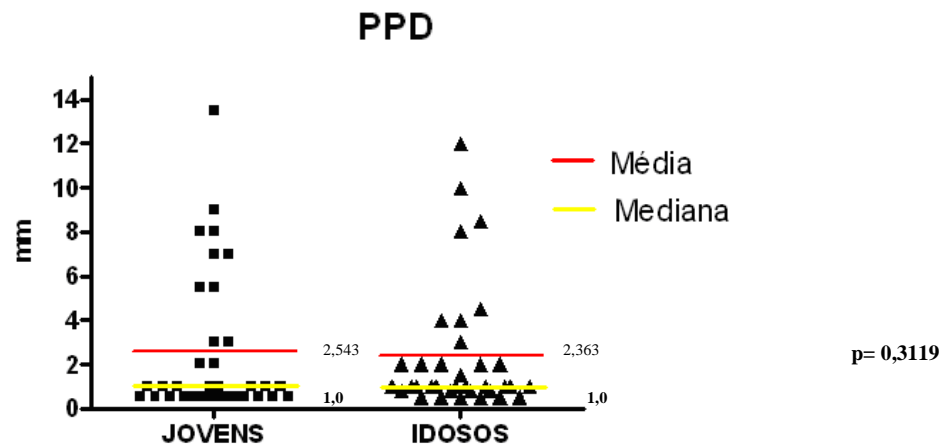


Gráfico 20 – Distribuição dos valores de PPD nos jovens e idosos com suas respectivas médias.

Tabela 5- Resultados do teste intradérmico (PPD) em ambos os grupos.

Resultados	Jovens (n=35)	Idosos (n=35)
Não Reator	27 (77,14%)	31 (88,57%)
Reator Fraco	7 (20%)	2 (5,71%)
Reator Forte	1 (2,85%)	2 (5,71%)

5 DISCUSSÃO

5.1 Avaliação da imunidade inata

5.1.1 Análise do Leucograma e Velocidade de hemossedimentação (VHS)

- *Leucograma*

A avaliação tanto dos valores relativos (percentuais) quanto dos valores absolutos são importantes para termos uma melhor visão dos leucócitos no sistema imunológico na senescência, estando assim, dentro de nossos objetivos de estudo.

Segundo Azul, Carvalho Filho e Décourt (1981), há com o envelhecimento uma discreta, porém progressiva redução no número de leucócitos devido principalmente à diminuição da contagem de linfócitos. Porém, os resultados encontrados neste estudo foram contrários ao citado.

No presente estudo, a média dos resultados dos valores de leucócitos globais demonstraram que há um discreto aumento no número de leucócitos no grupo de idosos, quando comparado com os adultos jovens. No entanto, este aumento não apresentou diferença estatisticamente significativa.

Já outros autores, Yoshikaw e Norman (1996) e Freitas, Gorzoni e Py (2006), afirmam que não há alteração significativa no número de leucócitos com o envelhecimento. Ou seja, estes resultados são semelhantes ao deste estudo.

O neutrófilo é considerado um elemento chave da imunidade inata, atuando na primeira linha de defesa contra bactérias e fungos, através das atividades de fagocitose e citotoxicidade. (LORD *et al.*, 2001)

No presente estudo, ao compararmos os dois grupos, encontrou-se diferença estatisticamente significativa nos valores relativos dos neutrófilos. No entanto, para os valores absolutos, houve um discreto aumento, no grupo de idosos, mas estatisticamente não significativo. No trabalho realizado por Cakman, Kirchner e Rink (1997), semelhantemente aos nossos resultados, foi demonstrado que com o envelhecimento, os valores absolutos dos

neutrófilos estão aumentados. Já, em trabalhos anteriores, Chatta *et al.* (1993) e Born *et al.* (1995) mostraram que os valores dos neutrófilos não se alteram com o envelhecimento.

Estudos mostram que existe diferença entre a população de neutrófilos quantificáveis no sangue e aquela presente no local da infecção. Ainda não há técnicas “in vivo” para determinação do número de neutrófilos no local da infecção, logicamente, mais estudos se fazem necessários para desenvolver esta técnica. Podemos considerar que vários fatores podem influenciar no recrutamento de neutrófilos para o local (sítio) de infecção, pois o número de neutrófilos pode estar diminuído por outros fatores, além da redução do número destes na circulação, tais como, redução na resposta a citocinas, redução no extravasamento e quimiotaxia ou aumento da apoptose (LORD *et al.*, 2001)

Embora nossos resultados tenham demonstrado que houve aumento dos neutrófilos relativos (significativo) outros autores demonstraram que há um comprometimento funcional destas células.

Considerando que os valores absolutos são mais representativos da condição biológica e que estes são calculados a partir dos leucócitos totais (globais) e relativos (percentuais), talvez pudessem encontrar um aumento no número de neutrófilos absolutos se aumentássemos o número de idosos estudados.

O valor de neutrófilos aumentado pode ser devido a processos inflamatórios comuns nesta faixa etária, sem significar uma doença específica nem uma maior capacidade de defesa imunológica, uma vez que suas funções estão comprometidas.

O aumento da incidência de infecções bacterianas com o envelhecimento sugere que a função, mais do que a concentração destas células estejam comprometidas, impactando na maior susceptibilidade de infecções em idosos.

- *Velocidade de hemossedimentação*

Em relação ao VHS, o presente estudo encontrou valores mais elevados na população de idosos do que na dos adultos jovens. Estes resultados também foram descritos em outros trabalhos.

Cankurtaran *et al.* (2009), estudando idosos saudáveis e doentes, relataram que há um aumento nos valores de VHS com a idade, mas deixam claro que, como as condições clínicas nas pessoas idosas são geralmente obscuras, deve-se investigar os valores elevados do VHS, mesmo quando os pacientes são assintomáticos.

Um estudo mais antigo, realizado por Smith e Samadian (1994) também relatou que é aconselhável pesquisar, com cuidado, alguma condição patológica subjacente quando se encontra níveis elevados do VHS em pacientes idosos, antes de afirmar que o aumento é normal ou patológico.

Segundo Carvalho Filho e Papaléo Netto (2006), o VHS eleva-se com o envelhecimento, variando de amplos limites, entre 12 a 50mm/h sem causa definida. Porém, Duthie Jr. e Katz (2002) dizem que a elevação da taxa de sedimentação dos eritrócitos não deve ser considerada como parte natural do processo de envelhecimento antes de investigar uma causa para este aumento.

5.1.2 Análise dos parâmetros do sistema complemento

As frações do sistema do complemento mais avaliadas por sua concentração, atividades relacionadas à ativação e portanto poder de auxiliar em diagnósticos são componentes C3 e C4 (PARSLOW *et al.*, 2004).

No presente estudo, realizado com os idosos saudáveis, demonstramos que há um aumento estatisticamente significativo na concentração de C4 (sistema do complemento) quando comparamos indivíduos idosos com jovens.

Não encontramos nenhum trabalho que demonstre o aumento estatisticamente significativo deste componente do complemento (C4) em indivíduos idosos em comparação com adultos jovens. Na análise da literatura, foram encontrados vários estudos relacionados com idosos e o sistema do complemento associados com algum tipo de doença, mas poucos trabalhos avaliaram o sistema complemento em idosos saudáveis.

Um estudo realizado por Hodkinson *et al.* (2006) com idosos saudáveis não observou nenhuma alteração, estatisticamente significativa, na análise dos componentes C3 e C4 do sistema complemento, embora tenha demonstrado outras alterações no sistema imunológico desses indivíduos.

Ritchie (2004) estudaram em três grupos (crianças, adultos e idosos) os componentes C3 e C4 e demonstraram que há uma tendência no aumento da concentração do componente C4 no processo de envelhecimento. Estas observações, foram concordantes com os nossos resultados e poderiam estar relacionadas com o aumento de doenças infecciosas e processos inflamatórias nos idosos (PAWELEC, 2007). Assim, podemos considerar que o

aumento de C4 encontrado esteja relacionado com a elevação na concentração das proteínas da fase aguda em processos inflamatórios.

5.1.3 Análise dos níveis de interleucina 6

Os resultados no presente estudo demonstraram que há um aumento na concentração de interleucina 6 nos idosos quando comparados com os jovens. Outros trabalhos apresentaram resultados semelhantes. Por exemplo, o trabalho realizado por Solana, Pawelec e Tarazona (2006), mostrou aumento na concentração de IL-6, assim como os trabalhos Smith (2007) e por Pawelec (2007).

Em nenhum trabalho que tivemos acesso foi encontrado valores de concentrações de IL-6 diminuídos em idosos.

Dessa forma, este parâmetro encontrado pode explicar, em parte, o aumento da inflamação associada com o envelhecimento humano. (VASTO; MALAVOLTA; PAWELEC, 2006).

5.2 Avaliação da imunidade adaptativa

5.2.1 Análise dos níveis de linfócitos

Em 1978, Kishimoto *et al.*, analisando linfócitos de jovens e idosos, observou que no envelhecimento há um decréscimo de linfócitos no sangue periférico. A média obtida para adultos jovens foi de 2043 células/ mm³, enquanto que a média dos linfócitos no grupo de idosos foi de 1659 células/ mm³.

Também, segundo Azul, Carvalho Filho e Décourt (1981), a contagem de linfócitos no leucograma de idosos encontra-se diminuída.

Em nosso estudo, este decréscimo é também observado, tanto para valores relativos como para valores absolutos, com diferenças estatisticamente significativas. Tendo-

se encontrado a média de 2872 células/ mm³ para adultos jovens e de 2441 células/ mm³ para os idosos, superiores aos obtidos por Kishimoto acima citado.

Segundo Dowling e Hodgkin, (2009), durante a vida, o timo produz e libera um contínuo suprimento de novas células T “naives”, educadas para reagir a antígenos estranhos e não reagir aos antígenos próprios. Este contínuo suprimento é essencial para manter a diversidade de repertório de células T necessárias para proteger o organismo contra uma grande diversidade de patógenos que encontramos ao longo da vida.

No entanto, no processo de envelhecimento ocorre uma atrofia tímica que resulta na diminuição do número de células T ativas (ANDREW; ASPINALL, 2002). Considerando que a maioria dos linfócitos circulantes no sangue são células T, a redução desta subpopulação linfocitária resulta na diminuição dos linfócitos totais no sangue periférico.

5.2.2 Análise das subpopulações linfocitárias por citometria de fluxo

No presente estudo foi realizado a imunofenotipagem dos linfócitos para identificar possíveis alterações que acompanham o envelhecimento. Comparando-se os dois grupos, observou-se que há uma diminuição nos valores relativos de células que expressam CD2+ e CD3+ nos idosos, quando comparado com os jovens. Porém, nas células CD8+ esta diminuição foi observada tanto para os valores relativos quanto para os absolutos.

Os valores absolutos (células/mm³) são calculados indiretamente, a partir dos valores de linfócitos absolutos obtidos no hemograma e dos valores percentuais de cada uma das diversas subpopulações. Sabe-se que os valores absolutos das subpopulações linfocitárias representam melhor a condição biológica de cada indivíduo do que seus valores relativos (percentuais) sendo portanto utilizado na prática clínica.

Em relação ao linfócitos CD2+, o trabalho desenvolvido por Mazari e Lesourd (1998), em 11 idosos saudáveis, encontrou os seguintes valores relativos e absolutos para linfócitos CD2+: 91,5% e 1957 células/ mm³. No nosso trabalho, obtivemos no grupo de idosos os seguintes resultados: 76,04% e 1485 células/ mm³. Tal diferença pode ser devido a vários fatores, por exemplo: anticorpos monoclonais usados e/ou amostras de populações de origem diferentes.

Não encontramos nenhum trabalho que demonstre diferenças estatisticamente significativas para valores percentuais dos linfócitos entre indivíduos idosos em comparação com adultos jovens.

Um estudo realizado com idosos por Sansoni *et al.* (2008), analisou subpopulações de linfócitos e encontrou uma redução no número absoluto de linfócitos CD3+, CD4+ e CD8+. Em relação ao nosso estudo, valores reduzidos no número absoluto de linfócitos foram encontrados apenas na subpopulação de CD8+. Talvez, se o estudo tivesse apresentado um número maior de voluntários, provavelmente, esta diferença também teria sido encontrada nos linfócitos CD3+, uma vez que o *p* encontrado foi próximo ao estatisticamente significativo ($p=0,0989$).

Lesourd e Martins-Conde (2001), descreveram que a diminuição dos linfócitos CD8+, mesmo que modesta, é significativa e mais importante que aquela das células CD4+, sendo este achado apresentado por outros autores. Estas alterações devido ao envelhecimento é, em parte, responsável pela redução da resposta imunológica celular, menor atividade proliferativa e menor atividade citotóxica.

5.2.3 Análise dos parâmetros para imunoglobulinas

O estudo realizado com idosos por Sansoni *et al.* (2008) relatam que, com o envelhecimento, há um aumento na concentração de IgG e IgA. Com relação a estas imunoglobulinas, nosso estudo concorda com o aumento da concentração de IgA, mas em relação à concentração de IgG, não obtivemos aumento estatisticamente significativo. No entanto, analisando os resultados separadamente de ambos os grupos (idosos e adultos jovens), observamos que há uma tendência dos idosos terem concentrações de IgG maiores que os jovens, pois dos 35 voluntários idosos, 15 apresentaram concentração de IgG acima de 1500 ng/mL e nos grupos dos jovens este aumento foi encontrado em apenas 10 voluntários. Este fato poderia estar relacionado com a longevidade, uma vez que os mais velhos já tiveram um maior número de infecções bacterianas e virais que os jovens. (SANSONI *et al.*, 2008). Poderíamos acrescentar que o controle de produção dos anticorpos pelos idosos, provavelmente, não estaria funcionando adequadamente.

Já no artigo escrito por Weksler (2000), é relatado que as concentrações séricas das imunoglobulinas IgA, IgM e IgG em seres humanos estão aumentadas com o

envelhecimento. No entanto, nós observamos este aumento de concentração apenas na imunoglobulina IgA, pois o presente trabalho encontrou valores diminuídos na concentração de IgM.

Uma possível explicação para entender a diminuição na concentração de IgM pode ser encontrada no trabalho de Tagonski diz haver diminuição de novos anticorpos na imunossenescência, sendo isto decorrente de uma capacidade proliferativa diminuída das células B (TAGONSKI; JACOBSON; POLAND, 2007).

5.2.4 Análise dos testes de imunidade celular (Tuberculina - PPD)

Os resultados encontrados neste estudo, em relação ao teste intradérmico (PPD), realizados em idosos e adultos jovens demonstraram que, utilizando-se o valor da leitura da reação de hipersensibilidade tardia, não há diferença estatisticamente significativa. No entanto, quando analisamos a tabela 5, na qual classificamos os indivíduos como não reatores, reatores fracos e reatores fortes verificamos que: 22,85% dos jovens e 11,43% dos idosos foram classificados como reatores. Assim, podemos concluir que há uma redução da resposta celular dos idosos ao antígeno utilizado que, no nosso meio, é altamente presente devido à tuberculose e lepra. Contudo, poderíamos ter uma análise mais precisa se o número de voluntários fosse maior.

A maioria dos idosos e jovens (88,57% e 77,14%) foram classificados como não reatores. Porém, não podemos concluir com isso que estes indivíduos sejam anérgicos.

Em um trabalho realizado por McDonald et al. (1992), já mostraram que a prevalência de reatividade ao teste de tuberculina diminuía com o envelhecimento. Neste trabalho foram classificados como reatores 44,3% dos indivíduos com idade inferior a 80 anos (n=79), 30,4% entre 80 e 89 anos (n=227) e 14,1% com idades superiores a 90 anos (n=149).

A não diferença nos valores do teste com PPD entre idosos e jovens pode ser explicada pelo fato de que as células dendríticas dos dois grupos se comportem com respostas equivalentes quando estimuladas com PPD, GM-CSF (fator estimulante de colônias de granulócitos e macrófagos) e vírus de influenza inativado (LUNG et al., 2000).

6 CONCLUSÃO

Este trabalho foi realizado em indivíduos idosos saudáveis e avaliou o sistema imunológico destes indivíduos através de 16 diferentes testes laboratoriais, os quais analisaram tanto a imunidade inata quanto a adaptativa, em seus componentes e funcionamento.

Assim, podemos concluir que mesmo em indivíduos idosos normais, muitos parâmetros imunológicos diferem daqueles dos adultos jovens, podendo estes servirem como referências de normalidade para a população senil na nossa região. Evidentemente, o estudo com um maior número de idosos mostraria resultados mais representativos desta população.

Os resultados obtidos com a avaliação, tanto da imunidade inata quanto da imunidade adaptativa, podem justificar o desenvolvimento de doenças mais frequentes nos idosos: infecções, neoplasias e processos inflamatórios crônico-degenerativos. Dessa forma, o conhecimento das alterações destes parâmetros imunológicos poderão vir a contribuir como auxílio no diagnóstico de condições “patológicas” latentes, ainda sem manifestações clínicas, possibilitando medidas preventivas e identificando formas de melhor tratar as causas subjacentes da imunossenescência e suas conseqüências.

REFERÊNCIAS

- ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H.; POBER, J. S. **Cellular and molecular immunology**. 4. ed. New York: Saunders, 2000.
- AGOSTINHO, P. Perspectiva psicossomática do envelhecimento. **Rev. Port. Psicol.**, v. 6, n. 1, p. 31-36, 2004.
- ANDREW, D.; ASPINALL, R. Age-associated thymic atrophy is linked to a decline in IL-7 production. **Exp. Gerontol.**, v. 37, p. 455-463, 2002.
- AW, D.; SILVA, A. B.; PALMER, D. B. Immunosenescence: emerging challenges for an ageing population. **Immunology**, v. 120, p. 435-446, 2007.
- AZUL, L.G.C.C.; CARVALHO FILHO, E.T.; DÉCOURT, L.V. **Clínica do indivíduo idoso**. Rio de Janeiro: Guanabara. Koogan, 1981.
- BEERS, M. H.; BERKOW, R. **The merck manual of geriatrics**. 3th. ed. Whitehouse Station: Merck, 2006.
- BENLAGHA, K.; WEI, D. G.; VEIGA, J.; TEYTON, L.; BENDELAC, A. Characterization of early stages of thymic NKT cell development. **J. Exp. Med.**, v. 202, p. 485-492, 2005.
- BORN, J.; UTHGENANNT, D.; DODT, C.; NUNNUNGHOFF, D.; RINGVOLT, E.; WAGNER, T.; HORST-LORENZ, F. Cytokine production and lymphocyte subpopulations in aged humans. An assessment during nocturnal sleep. **Mech. Ageing Dev.**, v. 84, n. 2, p. 113-126, 1995.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Guia de vigilância epidemiológica**. 6. ed. Brasília, 2005. p. 738-739.
- CAKMAN, I., KIRCHNER, H., RINK, L. . Zinc supplementation reconstitutes the production of interferon-alpha by leukocytes from elderly persons. **J. Interferon Cytokine Res.**, v.17, p. 469-472, 1997.
- CALDAS, J. P. S.; MARBA, S. T. M.; BLOTTA, M. H. S. L.; CALIL, R.; MORAIS, S. S.; OLIVEIRA, R. T. D. Accuracy of white blood cell count, C-reactive protein, interleukin-6 and tumor necrosis factor alpha for diagnosing late neonatal sepsis. **J. Pediatr.**, v. 84, n. 6, p. 536-542. 2008.

CAMPOS, M. T. F. S.; MONTEIRO J. B. R.; ORNELAS, A. P. R. C. Factors that affect the aged people food intake and nutrition. **Rev. Nutr.**, v. 13, n. 3, p. 157-165, 2000.

CANKURTARAN, M.; ULGER, Z.; HALIL, M.; YAVUZ, B. B.; ONAL, I. K.; UNAL, S.; ARIOGUL, S. How to assess high erythrocyte sedimentation rate (ESR) in elderly? . **Arch. Gerontol. Geriatr.**, 2009. In press.

CARLOS, I. Z.; ZINI, M. M. C.; SGARBI, D. B. G.; ANGLUSTER, J.; ALVIANO, C. S.; SILVA, C. L. Disturbances in the production of interleukin - 1 - necrosis and tumor necrosis factor in disseminated murine sporotrichosis. **Mycopathologia**, v. 127, p. 189-194, 1994.

CARVALHO FIHO, E. T.; PAPALÉO NETTO, M. **Geriatrics**: fundamentos, clínica e terapêutica. 2 ed. São Paulo: Atheneu, 2006.

CHATTA, G. S. ; ANDREWS, R.G.; RODGER, E. ; SCHRAG, M.; HAMMOND, W. P.; DALE, D. C. Hematopoietic progenitors and aging:alterations in granulocytic precursors and responsiveness to recombinant human G-CSF, GM-CSF, and IL-3. **J. Gerontol.**, v. 48, n. 5, p. M207-M212, 1993.

COLONNA-ROMANO, G.; AQUINO, A.; BULATI, M.; DI LORENZO, G.; LISTI, F.; VITELLO, S.; LIO, D.; CANDORE, G.; CLESI, G.; CARUSO, C. Memo B cell subpopulations in the aged. **Rejuvenation Res.**, v. 9, p. 149-152, 2006.

COTRAM, R. S.; KUMAR, V.; COLLINS, T. Robbins Pathologic basis of disease. 6. ed. New York: Collins, 1999.

CRIGHTON, M. H.; PUPPIONE, A. A. Geriatric neutrophils: implications for older adults. **Semin. Oncol. Nurs.**, v. 22, n. 1, p. 3-9, 2006.

DOWLING, M. R.; HODGKIN, P. D. Why does the thymus involute? A selection-based hypothesis **Trends Immunol.**, v. 30, n. 7, p. 295-300, 2009.

DUDLEY, R. F. Chemiluminescence imunoassay: an alternative to RIA. **Lab. Med.**, v. 21, p. 216-221, 1990.

DUSSE, L. M. A. *et al.* Erythrocyte sedimentation rate evaluation by Westergren (original and modified) and Vacuette and Sedivette systems. **Rev. Bras. Anal. Clin.**, v. 34, n. 2, p. 103-105, 2002.

DUTHIE Jr., E. H.; KATZ, P. R. **Geriatrics prática**. 3. ed. Rio de Janeiro: Revinter, 2002.
DUCHATEAU, J. Immunosenescence and the lung. **Rev. Mal. Respir.**, v. 20, p. 735-741, 2003.

FREITAS, E. V.; GORZONI, M. L.; PY, L. **Tratado de geriatria e gerontologia**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006.

FULOP Jr., T.; FOUQUET, C.; ALLAIRE, P.; PERRIN, N.; LACOMBE, G.; STANKOVA, J, ROLA-PLESZCZYNSKI, M.; GAGNÉ, D.; WAGNER, J. R.; KHALIL, A.; DUPUIS, G. Changes in apoptosis of human polymorphonuclear granulocytes with aging. **Mech. Ageing Dev.**, v. 96, n. 1-3, p. 15-34, 1997.

GRUVER, A. L.; HUDSON, L. L.; SEMPOWSKI, G. D. Immunosenescence of ageing. **J. Pathol.**, v. 211, p. 144-156, 2007.

HALL, J.; JILG, W.; HOTTENTRAGER, B.; BONNAR, P.; FANG, C.; BAKER, L. Performance of a chemiluminescent immunoassay for HbsAg on the new high-throughput and fully automated ACS: Centaur system. **Clin. Lab.**, v. 44, n. 5, p. 346- 354, 1998.

HERZENBERG, L. A.; PARKS, D.; SAHAF, B.; PEREZ, O, ROEDERER, M. The history and future of the fluorescence. Activated cell sorter and flow cytometry: a view from Stanford. **Clin. Chem.**, v. 48, n. 10, p. 1819-1827, 2002.

HODKINSON, C. F.; O'CONNOR, J. M.; ALEXANDER, H. D.; BRADBURY, I.; BONHAM, M. P.; HANNIGAN, B. M.; GILMORE, W. S.; STRAIN, J. J.; WALLACE, J. M. Whole blood analysis of phagocytosis, apoptosis, cytokine production, and leukocyte subsets in healthy older men and women: The ZENITH Study. **J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.**, v. 61, n. 9, p. 907-917, 2006.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. **Projeção da população do Brasil**. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br>>. Acesso em: 22 maio 2007.

INTERNATIONAL COUNCIL FOR STANDARDIZATION IN HAEMATOLOGY. ICSH recommendations for measurement of erythrocyte sedimentation rate. **J. Clin. Pathol.**, v. 46, n.3, p. 198-203, 1993.

ITURRY-YAMAMOTO, G. R.; PORTINHO, C. P. Sistema complemento: ativação, regulação e deficiências congênitas e adquiridas. **Rev. Assoc. Med. Bras.**, v. 47, n. 1, p. 41-51, 2001.

JANEWAY, C. A.; TRAVERS, P.; WALPORT, M.; SHLOMCHIK, M. J. **Immuno biology: the immune system in health and disease**. 6. ed. New York: Garland Science Publishing, 2005.

KANAAN, S.; GARCIA, M. A. T. Alterações laboratoriais e hormonais em geriatria, **J. Bras. Med.**, v. 89, n. 5/6, p. 12-24, 2005.

KISHIMOTO, S.; TOMINO, S.; INOMATA, K.; KOTEGAWA, S.; SAITO, T.; KUROKI, M.; MITSUYA H; HISAMITSU, S. Age-related changes in the subsets and functions of human T lymphocytes. **J. Immunol.**, v. 121, n. 5, p. 1773-1780, 1978.

KOCH, S.; SOLANA, R.; ROSA, O. D.; PAWELEC, G. Human cytomegalovirus infection and T cell immunosenescence: a mini review. **Mech. Ageing Dev.**, v. 127, p. 538-543, 2006.

KRAUS, D.; MASTRO, A. M.; HANDTE, G.; SMICKLAS-WRIGHT, H.; MILES, M.P.; AHLUWALIA, N. Immune function did not decline with aging in apparently healthy, well-nourished women. **Mech. Ageing Dev.**, v. 112, n. 1, p. 43-57, 1999.

LESOURD, B. ; CONDE-MARTINS, F. Interaction, nutrition et immunité au cours du vieillissement. **Rev. Franç. Lab.**, n. 334, p. 41-46, 2001.

LIMA, O. A.; SOARES, J. B.; GALIZZI, J.; GRECO, J. B.; CANÇADO, J. R. **Métodos de laboratório aplicados à clínica**. 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1992.

LORD, J. M.; BUTCHER, S.; KILLAMPALI, V.; LASCELLES D.; SALMON, D. Neutrophil ageing and immunosenescence. **Mech. Ageing Dev**, v. 122, n. 14, p. 1521-1535, 2001.

LUNG, T. L. ; SAURWEIN-TEISSL, M.; PARSON W. ; SCHONITZER, D.; GRUBECK-LOEBENSTEIN, B. Unimpaired dendritic cells can be derived from monocytes in old age and can mobilize residual function in senescent Tcells. **Vaccine**, v. 18, n. 16, p. 1606-1612, 2000.

MAZARI, L.; LESOURD, B. M. Nutritional influences on immune response in healthy aged persons. **Mech. Ageing Dev.**, v. 104, p. 25-40, 1998.

McDONALD, R. J.; MULVIHILL, M. N.; HSU, M. A.; LIBOW, L. S.; NEUFELD, R. R. Tuberculosis surveillance in a long- term care facility. **Arch. Gerontol. Geriatr.**, v. 15, n. 1, p. 29-34, 1992.

MICHELON, L.; CORDEIRO, Q.; VALLADA, H. Depression. **Rev. Bras. Med.**, v. 65, p. 15-25, 2008.

MOTTA, V. T. **Bioquímica clínica para o laboratório: princípios e interpretações**. 4. ed. São Paulo: EDUCS, 2003.

NOVAES, M. R. C. G.; ITO, M. K.; ARRUDA, S. F.; RODRIGUES, P.; LISBOA, A. Q. Micronutrients supplementation during the senescence. **Rev. Nutr.**, v. 18, n. 3, p. 367-376, 2005.

PACIFICO, L.; MANCUSO, G.; PROPERZI, E.; RAVAGNAN, G.; PASQUINO, A. M.; CHIESA, C. Comparison of nephelometric and hemolytic techniques for determination of antistreptolysin O antibodies. **Am. J. Clin. Pathol.**, v. 103, n. 4, p. 396-399, 1995.

PARSLOW, T. G. *et al.* **Imunologia Médica**. 10. ed. Rio de Janeiro: Guanabara- Koogan, 2004.

PATTERSON, W.; WERNESS, P.; PAYNE, W. J.; MATSSON, P.; LEFLAR, C.; MELANDER, T.; QUAST, S.; STEJSKAL, J.; CARLSON, A.; MACERA, M. Random and continuous- access immunoassays with chemiluminescent detection by Access® automated analyzer. **Clin. Chem.**, v. 40, p. 2042-2045, 1994.

PAWELEC, G. Immunosenescence comes of age. **EMBO Rep.**, v. 8, n. 3, p. 220-223, 2007.

PEAKMAN, M.; VERGANI, D. **Basic and clinical immunology**. London: Churchill Livingstone, 1997.

PINTO, A. L. T.; WINDT, M. C. V. S.; CÉSPEDES, L. (Org.). **Vade Mecum**. 5. ed. São Paulo: Saraiva, 2008. p. 1055-1063.

RIFAI, N.; TRACY, R. P.; RIDKER, P. M. Clinical efficacy of an automated high-sensitivity C-reactive protein assay. **Clin. Chem.**, v. 45, p. 2136-2141, 1999.

RITCHIE, R. F. Reference distributions for complement proteins C3 and C4: a comparison of a large cohort to the world's literature. **J. Clin. Lab. Anal.**, v. 18, p. 9-13, 2004.

SANSONI, P.; VESCOVINI, R.; FAGNONI, F.; BIASINI, C.; ZANNI, F.; ZANLARI, L.; TELERA, A.; LUCCHINI, G.; PASSERI, G.; MONTI, D.; FRANCESCHI, C.; PASSERI, M. The immune system in extreme longevity. **Exp. Gerontol.**, v. 43, n. 2, p. 61-65, 2008.

SANTOS, F. S. Update on the immunosenescence: humoral and cell-mediated immunity. **Rev. Bras. Med.**, v. 60, n. 10, p. 782-787, 2003.

SMITH, E. M.; SAMADIAN, S. Use of the erythrocyte sedimentation rate in the elderly. **Br. J. Hosp. Med.**, v. 51, p. 394-397, 1994.

SMITH, R. M. Immunity, trauma and the elderly. **J. Care Injury**, v. 38, p. 1401-1404, 2007.

SOARES, A. L.; SANTOS, E. A. Erythrocyte sedimentation rate: comparison between the Microtest X technique (micro-sedimentation) and the Westergren reference method. **Rev. Bras. Hematol. Hemoter.**, v. 31, n.1, p. 47-48, 2009.

SOLANA, R.; PAWELEC, G.; TARAZONA, R. Aging and innate immunity. **Immunity**, v. 24, p. 491-494, 2006.

SPEZIALI, E.; SANTIAGO, A. F.; FERNANDES, R. M.; VAZ, N. M.; MENEZES, J. S.; FARIA, A. M. C. Specific immune responses but not basal functions of B and T cells are impaired in aged mice. **Cell. Immunol.**, v. 256, n. 1/2, p. 1-5, 2009.

STATENS SERUM INSTITUT. **Tuberculina PPD RT 23 para Teste de Mantoux MS 10254380001**: Instrução de Uso do Fabricante. 2001.

STEENHAGEN, C. H. V. A.; MOTTA, L. B. Deglutition and aging: focus on facilitating and postural maneuvers utilized in rehabilitation for dysphagic patients. **Rev. Bras. Geriatr. Gerontol.**, v. 9, n. 3, p. 89-100, 2006.

TAGONSKI, P. V.; JACOBSON, R. M.; POLAND, G. A. Immunosenescence: Role and measurement in influenza vaccine response among the elderly. **Vaccine**, n. 25, p. 3066-3069, 2007.

THOMSEN, L. P. R. Notions about free radicals, oxidative stress and performance of antioxidants in three neurological illnesses related to the aging. **J. Bras. Gerontol.**, v. 5, n. 19, p. 119-123, 2004.

THUILLIER, F.; DEMARQUILLY, C.; SZYMANOWICZ, A.; GAILLARD, C.; BONIFACE, M.; BRAIDY, C.; DAUNIZEAU, A.; GASCHT, D.; GRUSON, A.; LAGABRIELLE, J. F.; LASNIER, E.; LEMDANI, M.; MACCHI, V.; POULIN, G.; DE SAINTE HERMINE, C.; SANCHO, J.; SCHELLENBERG, F.; SEVIN, O.; VAUBOURDOLLE, M. Nephelometry or turbidimetry for the determination of albumin, ApoA, CRP, haptoglobin, IgM and transthyretin: which choice? **Ann. Biol. Clin. (Paris)**, v. 66, n. 1, p. 63-78, 2008.

VASTO, S.; MALAVOLTA, M.; PAWELEC, G. Age and immunity. **Immun. Ageing**, v. 3, n. 2, p. 1-6, 2006.

WEKSLER, M. E. Changes in the B-cell repertoire with age. **Vaccine**, v. 18, p. 1624-1628, 2000.

WEST, C. D. The complement profile in clinical medicine. Inherited and avquired conditions lowering the serum concentrations of complement component and control proteins. **Complement Inflamm.**, v. 6, p. 49-64, 1989.

WHICHER, J. T.; RITCHIE, R. F.; JOHNSON, A. M.; BAUDNER, S.; BIENVENU, J.; BLIRUP-JENSEN, S.; CARLSTROM, A.; DATI, F.; WARD, A. M.; SVENDSEN, P. J. New international reference preparation for proteins in human serum. **Clin. Chem.**, v. 40, n. 6, p. 934-938, 1994.

WORD HEALTH ORGANIZATION. **Envelhecimento ativo**: uma política de saúde. Brasília: OPAS, 2005.

YOSHIKAWA, T. T.; NORMAN, D. C. Approach to fever and infection in the nursing home. **J. Am. Geriatr. Soc.**, v. 44, p. 44-82, 1996.

ZEDIAK, V. P.; BHANDoola, A. Aging and T cell development: interplay between progenitors and their environment. **Semin. Immunol.**, v. 17, p. 337-346, 2005.

ZORRILLA, E. P.; LUBORKSY, L.; MCKAY, J. R.; ROSENTHAL, R.; HOULDIN, A.; TAX, A.; MCCORKLE, R.; SELIGMAN, D.; SCHMIDT, K. The relationship of depression and stressors to immunological assays: ameta-analytic review. **Brain Behav. Immun.**, v. 15, n. 3, p. 199-226, 2001.

ANEXOS

Questionário Anexo a pesquisa Centro de Atenção ao Idoso

Nome do examinador: _____

Numero Questionário da Comunidade: _____

Número do questionário Clínico: _____

Bloco de questões referentes à identificação/demografia	
Q1) Número do questionário _____	Q1()
Nome do paciente _____ _____	
Q2) Número do prontuário _____	Q2()
Q3) Idade do paciente _____	Q3()
Q4) Data de nascimento dd/mm/aaaa	Q4()
Q5) Data do atendimento dd /mm/aaaa	Q5()
Endereço completo Rua: Número e complemento: Bairro: CEP: Telefones de contato:	
Doenças: _____ _____ _____ _____ _____ _____ _____ _____	
Q6) Número de doenças	Q6()

Medicamentos: _____ _____ _____ _____ _____ _____ _____ _____ _____ _____	
Q7) Número de medicamentos _____	Q7()
Q8) Possui: Q8.1)Doença de Parkinson/Parkinsonismo (1) sim (2) não (2 ou mais critérios: tremor de repouso, rigidez e bradicinesia; e/ou faz uso de medicamentos para DP)	Q8.1()
Q8.2)Diabetes mellitus (1) sim (2) não Glicemia capilar > 140 mg/dl e/ou faz uso de insulina/hipoglicemiantes orais e/ou auto-relato em dieta	Q8.2()
Q8.3)ICC (1) sim (2) não Evidencia clinico-ecocardiografica de classe III /IV	Q8.3()
Q8.4)AVC (1) sim (2) não Evidência clinica-imaginologica de AVC	Q8.4()
Q8.5)HAS (1) sim (2) não Evidência clínica e/ou faz uso de anti-hipertensivos	Q8.5()
Casos equívocos serão discutidos pelo grupo e definido um consenso.	
Q9) Usa : Q9.1) Antidepressivos (1) sim (2) não Q9.2) Antiparkinsonianos (1) sim (2) não Q9.3) Anticolinesterásico (1) sim (2) não Q9.4) Imunossupressores (1) sim (2) não Q9.5) Beta-bloqueador (1) sim (2) não Q9.6) Corticóide (1) sim (2) não Q9.7) Anticonvulsivantes (1) sim (2) não Q9.8) Vitaminas (1) sim (2) não	Q9.1() Q9.2() Q9.3() Q9.4() Q9.5() Q9.6() Q9.7() Q9.8()
Q10) Tabagismo: (1) atual (2) ex-tabagista (3) nunca fumou	Q10()
Mini-Exame do Estado Mental	
Agora faremos algumas perguntas para saber como está sua memória. Sabemos que com o tempo as pessoas vão tendo mais dificuldades para se lembrar das coisas. Não se preocupe com o resultado das perguntas. Q11) Qual o DIA DA SEMANA em que estamos? (1) certo	Q11()

(0) errado	
Q12) Qual o DIA DO MÊS em que estamos? (1) certo (0) errado	Q12()
Q13) Qual o MÊS em que estamos? (1) certo (0) errado	Q13()
Q14) Qual o ANO em que estamos? (1) certo (0) errado	Q14()
Q15) Que horas são aproximadamente? (1) certo (0) errado	Q15()
Q16) Que local é este que estamos? Instrução: Apontar com o indicador para o local específico (chão) que você se encontram. Exemplo: sala, quarto, cozinha, entre outros. (1) certo (0) errado	Q16()
Q17) E esse local, onde ele se encontra? Instrução: Apontar com o indicador para cima local mais geral que você se encontram. Exemplo: minha casa, casa da minha filha, entre outros. (1) certo (0) errado	Q17()
Q18) Qual o bairro? Opções: Local próximo ou rua ou pontos de referência. (1) certo (0) errado	Q18()
Q19) Qual a cidade? (1) certo (0) errado	Q19()
Q20) Qual o estado? (1) certo (0) errado	Q20()
Q21) Preste atenção: GELO, LEÃO, PLANTA. Gostaria que o sr(a) repetisse essas 03 (três) palavras. Falar pausadamente e claro as palavras e, após a repetição, avisar que as palavras serão solicitadas posteriormente. 21.1) GELO (1) certo (0) errado 21.2) LEÃO (1) certo (0) errado 21.3) PLANTA (1) certo (0) errado	Q21.1() Q21.2() Q21.3()
Q22) Cálculos de subtração: 22.1) 100-7 (1) certo (0) errado 22.2) 93-7 (1) certo (0) errado 22.3) 86-7 (1) certo (0) errado 22.4) 79-7 (1) certo (0) errado 22.5) 72-7 (1) certo (0) errado	Q22.1 () Q22.2 () Q22.3 () Q22.4 () Q22.5 ()
Q23) Gostaria que o sr(a) lembrasse as 03 (três) palavras que pedi que o sr(a) repetisse antes. 23.1) GELO (1) certo (0) errado 23.2) LEÃO (1) certo (0) errado 23.3) PLANTA (1) certo (0) errado	Q23.1 () Q23.2 () Q23.3 ()

<p>Q24) Qual o nome desse objeto? Apontar o objeto solicitado. 24.1) Caneta (1) certo (0) errado 24.2) Relógio (1) certo (0) errado</p>	<p>Q24.1 () Q24.2 ()</p>
<p>Q25) Repita a frase: “Nem aqui, nem ali, nem lá” Falar pausadamente e claro. (1) certo (Frase e seqüência corretas) (0) errado</p>	<p>Q25 ()</p>
<p>Q26) Preste atenção: Gostaria que o sr(a): “Pegasse esse papel com sua mão direita, dobrasse no meio com as duas mãos e jogasse no chão”. 26.1) Pegasse esse papel com sua mão direita (1) certo (0) errado 26.2) Dobrasse no meio com as duas mãos (1) certo (0) errado 26.3) E jogasse no chão. (1) certo (0) errado</p>	<p>Q26.1 () Q26.2 () Q26.3 ()</p>
<p>Q27) Leia o que está escrito nesse papel e faça o que está escrito/pedindo. Mostre a tarjeta com a ordem: FECHE OS OLHOS (1) certo (0) errado</p>	<p>Q27 ()</p>
<p>Q28) Escreva uma frase/um pensamento completo. Apresente o papel e a caneta para a execução do comando. (1) certo (0) errado</p>	<p>Q28 ()</p>
<p>Q29) Copie essa figura – Mostre a figura abaixo. Apresente o papel e a caneta para a execução do comando. (1) certo (0) errado</p>	<p>Q29 ()</p>
<p>Q30) Total do itens CERTO (q11 – q29): _____</p>	<p>Q30 ()</p>
<p>Q31) Anos de escolaridade _____</p>	<p>Q31 ()</p>
<p>Q32) MEEM alterado (1) sim (Escolaridade \geq 8 anos – MEEM < 24 Escolaridade 4-7 anos – MEEM < 18 Escolaridade < 4 anos – MEEM < 13) (2) não</p>	<p>Q32 ()</p>
<p>Perda de Peso</p>	
<p>De um ano para cá, o(a) Sr(a) acha que está: a) mais magro b) mais gordo c) do mesmo jeito</p> <p>Se resposta (a), avaliar se foi ou não intencional e responder a pergunta seguinte:</p> <p>Q33) Perda de peso não intencional no último ano? (1) sim (2) não</p>	<p>Q33 ()</p>

<p>Peso atual _____Kg</p> <p>Peso habitual _____Kg</p> <p>Q34) Houve perda de >4,5Kg ou > 5% do peso em 1 ano? (1) sim (2) não</p> <p>Altura _____cm</p> <p>Q35) IMC _____</p>	<p>Q34 ()</p> <p>Q35 ()</p>
<p>Medidas das circunferências</p> <p>Q36) Circunferência abdominal _____cm</p> <p>Q37) Circunferência cintura _____cm</p> <p>Q38) Circunferência quadril _____cm</p>	<p>Q36 ()</p> <p>Q37 ()</p> <p>Q38 ()</p>
<p>Avaliação Fadiga</p>	
<p>Q39) Para realizar as atividades do (a) senhor (a) no dia-a-dia, sente que esta precisando fazer: (1) mais esforço (2) menos esforço (3) do mesmo jeito</p> <p>Q40) Se resposta “mais esforço”, qual a frequência: (1) Nunca/Raramente (2) Poucas vezes (3) Na maioria das vezes (4) Sempre</p>	<p>Q39 ()</p> <p>Q40 ()</p>
<p>Q41) O senhor deixou de fazer muitas atividades que antes fazia ou gostava por indisposição ou fraqueza? (1) sim (2) nao</p> <p>Q42) Se a resposta for “sim”, qual a frequência: (1) Nunca/Raramente (2) Poucas vezes (3) Na maioria das vezes (4) Sempre</p>	<p>Q41 ()</p> <p>Q42 ()</p>
<p>Q43) O(a) sr(a) tem se sentido mais fraco (indisposto) para realizar as coisas do dia-a-dia? (1) Sim (2) Não (8) Não se aplica (9) Não sabe (0) Não respondeu</p>	<p>Q43 ()</p>
<p>Q44) Na última semana, com que freqüência se sentiu assim: fraco (indisposto) para fazer as coisas do dia-a-dia? (1) Raramente (episódio isolado, <1 dia durante a semana) (2) Algumas vezes (1-2 dias durante a semana) (3) Quantidade razoável de vezes (3-4 dias durante a semana) (4) Quase todos os dias (>4dias durante a semana)</p> <p>(8) Não se aplica (9) Não sabe (0) Não respondeu</p>	<p>Q44 ()</p>

Q45)								Q45 ()	
Fraqueza (preensão palmar)									
1ª medida _____ Kgf 2ª medida _____ Kgf 3ª medida _____ Kgf Media _____ Kgf <u>Estratificado por gênero e IMC</u> Homem IMC ≤ 24 -----≤ 29 IMC 24.1- 26 -----≤ 30 IMC 26.1 – 28 -----≤ 30 IMC >28 -----≤ 32 Mulher IMC ≤ 23 -----≤ 17 IMC 23.1 – 26 -----≤ 17,3 IMC 26.1 – 29 -----≤ 18 IMC >29 -----≤ 21									
Q46) Critério da preensão palmar positivo para fragilidade (1) sim (2) não								Q46 ()	
Atividade Física									
Minnesota									
ATIVIDADE	VOCÊ REALIZOU ESTA ATIVIDADE		ÚLTIMAS DUAS SEMANAS		MÉDIA DE VEZES POR SEMANA	TEMPO POR OCASIÃO			
	NÃO	SIM	1º SEMANA	2º SEMANA		HORAS	MINUTOS		
Seção A: Caminhada									
Caminhada Recreativa									
Caminhada para o trabalho									
Uso de escadas quando o elevador está disponível									
Caminhada ecológica									
Caminhada com mochila									
Ciclismo recreativo / pedalando por prazer									
Dança – salão, quadrilha, e/ou discoteca, danças regionais.									
Dança – aeróbica, balé									
Seção B: Exercício de Condicionamento									
Exercícios domiciliares									

Exercícios em clube/academia							
Combinação de caminhada/ corrida leve							
Corrida							
Musculação							
Canoagem em viagem de acampamento							
Natação em piscina (pelo menos de 15 metros)							
Natação na praia							
Seção C: Esportes							
Boliche							
Voleibol							
Tênis de mesa							
Tênis individual							
Tênis de duplas							
Basquete, sem jogo (bola ao cesto)							
Jogo de basquete							
Basquete como juiz							
Futebol							
Seção D: Atividades no jardim e horta							
Cortar a grama dirigindo um carro de cortar grama							
Corta a grama andando atrás do cortador de grama motorizado							
Corta a grama empurrando o cortador de grama manual							
Tirando o mato e cultivando o jardim e a horta							
Afofar, cavando e cultivando a terra no jardim e horta							
Trabalho com ancinho na grama							
Seção E: Atividade de reparos domésticos							
Carpintaria e oficina							
Pintura interna de casa ou colocação de papel parede							
Carpintaria do lado de fora da casa							
Pintura exterior da casa							
Seção F: Caça e Pesca							
Pesca na margem do rio							
Caça a animais de pequeno porte							
Caça a animais de grande porte							
Seção G: Outras atividades							
Caminhar como exercício							
Tarefas domésticas de moderadas a intensas							
Exercícios em bicicleta ergométrica							
Exercícios calistênicos							

Parâmetros da atividade física de fragilidade (estratificado por gênero)

<p>Homem: <383 Kcal por semana: frágil Mulher: <270 Kcal por semana: frágil</p> <p>Q47) Critério da atividade física positivo para fragilidade (1) sim (2) não</p>	Q47 ()
<p>Velocidade de Marcha</p>	
<p>T1 _____ s T2 _____ s T3 _____ s</p> <p><u>Estratificado por gênero e IMC</u></p> <p>Homem h ≤ 173cm ----- ≥ 7s h > 173cm ----- ≥ 6s</p> <p>Mulher h ≤ 159cm ----- ≥ 7s h > 159cm ----- ≥ 6s</p> <p>Q48) Critério da velocidade da marcha positivo para fragilidade (1) sim (2) não</p>	Q48 ()
<p>Exame Físico</p> <p>Ausulta cardíaca:</p> <p>Ausulta pulmonar:</p>	
<p>Q49) Número de critérios para Fragilidade:</p> <p>(0) Nenhum (1) Um critério (2) Dois critérios (3) Três critérios (4) Quatro critérios (5) Cinco critérios</p>	Q49 ()
<p>Motivo exclusão: _____ _____ _____ _____ _____ _____ _____</p>	
<p>Q50) Conclusão:</p> <p>(1) NÃO-FRÁGIL (ou 1 critério) (2) PRÉ-FRÁGIL (2 critérios) (3) FRÁGIL (3 ou mais critérios)</p>	Q50 ()

