

BRUNA LUZ CORREA

**PERFIL DE RISCO IMUNOLÓGICO E RESPOSTA HUMORAL AO
CITOMEGALOVÍRUS E ASSOCIAÇÃO COM O ESTADO COGNITIVO
FUNCIONAL EM IDOSOS**

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre, pelo programa de Pós Graduação em Gerontologia Biomédica, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul.

Orientador: Prof. Dr. Moisés Evandro Bauer

Porto Alegre
2012

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

C824a Correa, Bruna Luz

Perfil de risco imunológico e resposta humoral ao citomegalovírus e associação com o estado cognitivo funcional em idosos / Bruna Luz Correa. - Porto Alegre, 2012.

52 f. : il. tab.

Orientador: Prof. Dr. Moisés Evandro Bauer.

Dissertação (Mestrado) – Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. Instituto de Geriatria e Gerontologia. Mestrado em Gerontologia Biomédica.

1. GERIATRIA. 2. IDOSO. 3. IMUNOLOGIA. 3. CITOMEGALOVIRUS.
I. Bauer, Moisés Evandro. II. Título.

C.D.D. 618.97
C.D.U.613.98(043.3)
N.L.M. WT 100

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DA LITERATURA	3
2.1 Caracterização do problema.....	3
2.2 Envelhecimento e Sistema Imunológico.....	4
2.3 Perfil de Risco Imunológico.....	6
2.4 Diminuição do repertório T.....	7
2.4.1 Células T específicas para CMV: fator preditivo de risco imunológico.....	7
2.5 Perfil de risco imunológico e estado cognitivo funcional.....	10
3. OBJETIVOS	13
3.1 Objetivo Geral.....	13
3.2 Objetivos Específicos	13
4. ARTIGO CIENTÍFICO SUBMETIDO A PUBLICAÇÃO: THE IMMUNE RISK PHENOTYPE IS ASSOCIATED WITH CMV AND POOR COGNITIVE AND FUNCTIONAL STATES OF ELDERLY IN BRAZIL.....	14
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	37
REFERÊNCIAS	39
ANEXOS	45
ANEXO A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	45
ANEXO B - Mini exame de estado mental (MEEM)	47
ANEXO C - Avaliação instrumental de vida diária (Escala de PFEIFFER).....	49
ANEXO D - Parecer do comitê de ética da pucrs 1.....	50
ANEXO E - Parecer do comitê de ética da pucrs 2.....	51

RESUMO

Introdução: O fenótipo risco imunológico (IRP) tem sido demonstrado pelo aumento de células T CD8+ e baixa contagem de T CD4+, e o comprometimento cognitivo têm sido associado com aumento da morbidade e mortalidade em indivíduos muito velhos. Evidências recentes sugerem que infecções virais persistentes da família *Herpesviridae* como o citomegalovírus (CMV) são mais propensos a desenvolverem estas alterações nas células T específicas. Este estudo visa identificar o IRP e investigar possíveis associações com infecções virais, e com o estado cognitivo e funcional em idosos do Brasil. **Material e Métodos:** 360 idosos com idades entre 60-103 anos foram recrutados a partir do sistema público de saúde em Porto Alegre, Brasil. O sangue periférico foi recolhido e os subconjuntos de linfócitos (células T CD4 +, CD8 +, células NK, NK T, B e CD8+CD28-) foram avaliados por citometria de fluxo. A sorologias para CMV e para o vírus de Epstein-Barr (EBV) foram determinadas por ELISA. A função cognitiva foi avaliada através da lista de palavras e praxia construtiva do Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease (CERAD), do teste de memória verbal e lógica de Wechesler, e do Mini Exame de Estado Mental (MEEM). O questionário de Atividade Funcionais PFEFFER foi utilizado para determinar as atividades da vida diária. **Resultados:** 59 indivíduos foram definidos com IRP. Títulos aumentados de IgG para CMV ($p < 0,01$), mas não para o EBV foram encontrados no grupo IRP+ grupo quando comparados ao grupo Non-IRP. Idosos com IRP+ apresentaram um maior déficit de memória tardia ($p < 0,05$) e maior dependência e incapacidade funcional ($p = 0,01$) em relação ao grupo Non-IRP. Indivíduos com IRP e com déficit cognitivo não demonstraram efeitos sinérgicos sobre as populações de linfócitos ou sorologias virais. **Conclusões:** O IRP foi identificado em 16% dos moradores de comunidades brasileira. Nossos dados ainda indicam uma importante associação do CMV com IRP e ambos com o estado cognitivo e funcional deficiência/dependência durante o envelhecimento.

Palavras-chave: Perfil de Risco Imunológico, CMV e Estado Cognitivo Funcional.

ABSTRACT

Introduction: The immune risk phenotype (IRP), as shown by increased CD8+ and low CD4+ T cell counts, and cognitive impairment have been associated with increased morbidity and mortality in very old subjects. Recent evidence suggests that persistent viral infections of the herpesviridae family such as cytomegalovirus (CMV) are likely to be involved with these specific T cell changes. This study aims to identify the IRP and investigate possible associations with viral infections, cognitive and functional states of elderly in Brazil. **Material and Methods:** 360 elders aged between 60-103 years were recruited from the public health care system in Porto Alegre, Brazil. Peripheral blood was collected and lymphocyte subsets (CD4+, CD8+, NK, NK T, B and CD8+CD28-) assessed by multi-color flow cytometry. CMV and Epstein-Barr virus (EBV) serologies were determined by ELISAs. Cognitive function was evaluated by the word list memory and constructional praxis from the standard neuropsychological battery of Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease and Mini Mental Status Examination (MMSE) inventory. PFEFFER Functional Activities Questionnaire was used to determine activities of daily living. **Results:** 59 individuals were defined with IRP (CD4/CD8 ratio < 1). Increased IgG titers to CMV ($p < 0.01$) but not to EBV were found in the IRP+ group as compared to non-IRP. The IRP+ elders had a greater late-memory deficit ($p < 0.05$) and more functional disability and dependency ($p = 0.01$) when compared with the non-IRP group. Subjects with both IRP and cognitive impairment did not show synergist effects upon lymphocytes or viral serologies. **Conclusions:** The IRP was identified in 16% of the Brazilian community dwellers. Our data further indicate the association of CMV with IRP and both cognitive and functional disability/dependency during aging.

Key-words: Immune Risk Phenotype, CMV and Functional Cognitive Status.

INTRODUÇÃO

A população de idosos vem crescendo rapidamente no mundo. No Brasil, em particular, pesquisas populacionais revelam um envelhecimento acelerado de cerca de três vezes maior do que países industrializados [1, 2]. A média de idade para população brasileira atinge em média 68,9 anos \pm 2,5 anos, o que revela um aumento na expectativa de vida no país [3]. Esta nova realidade requer novas estratégias para o atendimento de saúde, prevenção e tratamento de doenças do envelhecimento. Atualmente, o Sistema Único de Saúde não dispõe de estratégias ou políticas eficazes para o atendimento a saúde desta população senescente, revelada pelo aumento de doenças infecciosas e tumores [4, 5].

O envelhecimento está associado com uma reestruturação das funções do sistema imune (imunossenescência) tanto na imunidade humoral quanto na imunidade mediada por células, resultando em maior suscetibilidade a infecções e ao câncer, além da diminuição na capacidade de responder a vacinas [6, 7]. A maioria dos estudos sobre imunossenescência têm focado principalmente o envelhecimento relacionado às funções das células T, mais recentemente, foi demonstrado que uma taxa aumentada de células T CD8+ em relação às CD4+ está associada com maior risco imunológico, ou seja, maior susceptibilidade e morbidade a patologias relacionadas à idade [8, 9].

Pesquisadores a partir de estudos longitudinais com idosos suecos (OCTA/NONA) sugerem que a melhor forma discriminar o envelhecimento saudável do patológico é através da determinação do Perfil de Risco Imunológico (IRP) definido através da razão $T\ CD4/CD8 < 1$ e baixa proliferação T inespecífica [10, 11]. Estes estudos revelam que idosos que apresentam estas características de risco apresentavam uma elevada mortalidade ao longo de quatro anos do estudo, independente do seu estado de saúde em geral [10, 12]. Além disso, ao longo do estudo, o risco imunológico foi associado ainda a uma maior atividade inflamatória (e.g. aumento de IL-6), a diminuição de células B (CD19+), aumento das células T CD8 efetoras/memória, principalmente, a expansão de células CD8+ contra o CMV e o aumento de soropositividade ao CMV, sendo estes últimos os responsáveis pelo acúmulo de células senescentes no organismo, o que parece ser o ponto central da imunossenescência [9, 13].

O citomegalovírus (CMV) e Epstein-Barr (EBV), ambos da família de herpesvírus, no requerem uma atenção específica no envelhecimento. Em OCTA/NONA foram observados em idosos uma grande expansão de clones de células T CD8+ específicas para CMV, além da soropositividade para CMV naqueles idosos com fenótipo de risco imunológico [14]. Essa expansão clonal com especificidade restrita leva a uma diminuição do repertório de células T que também está associado ao perfil de risco imunológico [15].

Outro fator relevante associado ao risco imunológico observados nestes estudos é a associação do IRP ao dano cognitivo destes idosos. Idosos com importante dano cognitivo sobrevivem significativamente menos quando comparados com os sujeitos com IRP apenas [16]. Os resultados de OCTA/NONA apoiam estes achados demonstrando a existência de um duplo risco de mortalidade em indivíduos com declínio cognitivo e IRP, independente da idade, sexo e várias outras doenças prevalentes em idosos [16], o que sugerem que as interações entre o sistema nervoso e imune estão relacionadas com um maior desgaste fisiológico (i.e. carga alostática) no envelhecimento. A identificação de risco imunológico em idosos, apesar de ser alvo para muitos estudos, nenhum até o presente momento analisou conjuntamente a associação entre o estado cognitivo, perfil imunológico e sorologia para EBV e CMV. A associação de dano cognitivo e IRP podem caracterizar o perfil do idoso frágil o qual é mais suscetíveis às comorbidades relacionadas à idade [17].

Estudos sobre o IRP em idosos ocorrem principalmente em países desenvolvidos e não foram ainda descritos em países como o Brasil, o qual apresenta características ambientais, socioeconômicas e de estilo de vida muito distintas. Neste estudo, foi analisada uma população de idosos brasileiros, pela primeira vez, onde buscou se compreender melhor a relação do perfil de risco imunológico com o declínio cognitivo no envelhecimento. A relevância deste tema poderá contribuir para elaboração de novas políticas de atenção a saúde, diminuindo custos com internação, além de aumentar a qualidade de vida, promovendo a prevenção de doenças na população senescente.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Estudos longitudinais prévios (OCTA/NONA) demonstraram que no envelhecimento as interações entre o perfil de risco imunológico (IRP) e a infecção latente por CMV apresentam impacto para morbidade e mortalidade de idosos. A partir disso, o tema tem sido objeto de investigação intensa e recorrente nos estudos de imunossenescência.

Neste estudo, caracterizamos o perfil risco imunológico (IRP) em idosos baseado na razão CD4/CD8 relacionados com a intensidade da resposta humoral para CMV e EBV e comparamos com o seu estado cognitivo e funcional. Este estudo é inédito no país e visa determinar o perfil imunológico de idosos brasileiros.

Nossos dados revelaram que a população de idosos estudados apresenta uma tendência semelhante às médias de outras populações estudadas onde estima-se que aproximadamente de 20% dos idosos apresentam alto risco imunológico, apesar de os mesmos apresentarem uma expectativa de vida, estilo de vida, condições socioeconômicas e fatores ambientais muito diferentes de todos os estudos, como os estudos longitudinais referendados de OCTA/NONA.

Com base nas características particulares da população estudada, neste estudo não foram utilizados alguns critérios de exclusão, como o uso de medicações, patologias associadas à idade e fatores emocionais como estresse e depressão, fato que delimitaria número de idosos.

Contudo, os dados encontrados concentram-se que somente IRP não pode ser um fator preditivo de morbidade e mortalidade, mas que a investigação e as associações pela infecção latente pelo CMV pode estabelecer uma interpretação mais apurada sobre o real estado imunológico, e com isso estado de saúde em geral no envelhecimento. Este estudo consiste a etapa inicial de coleta de dados e análises que precede outras análises mais detalhadas quanto a um amplo painel de subpopulações celulares, avaliação de marcadores pró-inflamatórios e demais repostas celulares *in vitro* ao CMV.

Este estudo apresenta algumas limitações, incluindo indivíduos menos idosos que os estudos longitudinais OCTA/NONA que descreveram o IRP. Ao considerarmos a idade como um ponto principal para as associações dos fatores que aceleram a imunossenescência, que outros investigadores já revelaram que idosos muito velhos morrem relativamente mais cedo por apresentarem maiores níveis de CMV, IRP,

aumento do declínio cognitivo e aumento de doenças crônicas sustentando a hipótese de que estes fatores em conjunto, estão relacionados ao risco e alta mortalidade no envelhecimento. Neste contexto, a possibilidade de não ter sido observado diferenças significativas em nossos resultados pode estar relacionados diretamente com homogeneidade da população, em particular a idade dos sujeitos do estudo.

Em resumo, este estudo caracterizou o perfil de risco imunológico de idosos do sistema de saúde pública e verificou o se o mesmo era um fator preditivo confiável para a saúde dos mesmos, além de, analisar a sua associação com a capacidade funcional e cognitiva pela primeira vez no país. Nossos dados revelam que a associação dos níveis de CMV com o IRP em conjunto podem ser considerados como fator preditivo á saúde de idosos, porém necessitando uma análise mais detalhada para reforçar a hipótese. Contribuindo para o monitoramento desses indivíduos, melhorando a qualidade de vida de idosos, promovendo a prevenção de doenças, e a redução de internações e custos com saúde pública.