**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO**

PAULO DE OLIVEIRA DUARTE

Estudo dos centenários de Ribeirão Preto - Brasil

**RIBEIRÃO PRETO
2015**

PAULO DE OLIVEIRA DUARTE

Estudo dos centenários de Ribeirão Preto - Brasil

Tese apresentada à Faculdade de Medicina de
Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo
para obtenção do Título de Doutor em
Ciências.

Área de Concentração: **Clínica Médica.**

Orientadora: Profa. Dra. Nereida Kilza da Costa Lima

RIBEIRÃO PRETO

2015

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

FICHA CATALOGRÁFICA

Duarte, Paulo de Oliveira.

Estudo dos centenários de Ribeirão Preto - Brasil./
Paulo de Oliveira Duarte / Orientadora: Nereida Kilza da Costa
Lima . Ribeirão Preto, 2015.

106p.: 7il.; 30 cm

Tese de Doutorado, apresentada à Faculdade de Medicina
de Ribeirão Preto/USP. Área de Concentração: Clínica Médica.

1. Longevidade; 2. Muito Idosos; 3. Hipertensão Arterial;
- 4 Demência; 5. Genes associados à longevidade.

FOLHA DE APROVAÇÃO

Aluno: Paulo de Oliveira Duarte

Título: Estudo dos centenários de Ribeirão Preto - Brasil.

Tese apresentada à Faculdade de Medicina de
Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo
para obtenção do Título de Doutor em Ciências
Médicas.

Área de Concentração: Clínica Médica.

Aprovado em: ____/____/____

Prof. Dr. _____
Instituição: _____
Assinatura: _____

Prof. Dr. _____
Instituição: _____
Assinatura: _____

Prof. Dr. _____
Instituição: _____
Assinatura: _____

Prof. Dr. _____
Instituição: _____
Assinatura: _____

Prof. Dr. _____
Instituição: _____
Assinatura: _____

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à minha **família**, a **Deus** e aos **pacientes**.

Aos dois amores da minha vida: **Mariana**, esposa dedicada, amiga inteligente e mãe admirável. E à pequena **Helena**, nossa linda filha, sentido novo a minha existência. Sem elas não chegaria até aqui.

À minha amada **mãe**, pelos valores e princípios ensinados e, principalmente, praticados: a fé, o amor, o caráter, a lealdade, a justiça.

Aos meus irmãos **Rúbia**, **Rafael** e **Gutinho**, presentes mesmo na distância. E a toda família pelo afeto, torcida e apoio nos momentos alegres e difíceis.

Dedico a **Deus**, fonte de toda sabedoria e aos meus sogros **Maria Helena Garcia da Freiria** (in memoriam) e **Antônio Célio da Freiria** por me adotarem como filho desde que cheguei em Ribeirão Preto.

Dedico também a cada um dos voluntários **centenários** e seus **familiares**, pelo desprendimento e altruísmo. Verdadeiras lições de vida. Obrigado pelos dias memoráveis e por me tornarem uma pessoa melhor. Que este estudo sirva de instrumento para a melhoria das condições de vida dos muito idosos em nosso país.

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora **Profa. Dra. Nereida Kilza da Costa Lima**, modelo de profissional, docente exemplar, que me acompanha desde os tempos de iniciação científica na graduação. Obrigado pelo carinho, apoio, pela paciência e lisura na condução de todo o estudo.

À minha esposa e coautora deste estudo **Mariana Garcia da Freiria Duarte**, pelo auxílio na coleta dos dados e organização da agenda de visitas.

Aos **Profs. Dr. Eduardo Ferriolli e Dr. Julio César Moriguti**, pelo prazer da convivência, ensinamentos constantes e por viabilizarem a realização deste projeto através do Núcleo de Apoio à Pesquisa (NAPENV) da Universidade de São Paulo.

À **Prof. Elza Tiemi Sakamoto Hojo**, pela ajuda no delineamento da análise molecular e pela disponibilização das instalações do laboratório de genética para realização deste estudo.

Aos Pós-Graduandos do Laboratório de Genética: **Giovana da Silva Leandro e João Paulo Lopes da Silva**, pelo companheirismo e pela ajuda imprescindível na análise da expressão dos genes de interesse.

A toda **equipe da Divisão de Geriatria do Departamento de Clínica da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (FMRP-USP)**, pelo apoio ao longo dos anos e aprendizado conjunto, em especial os **Drs. Eduardo Borges de Oliveira e Silvio Ramos Bernardes da Silva Filho**, pela torcida e captação de alguns pacientes nos Ambulatórios de Geriatria.

Ao **Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo**, aos **professores, médicos assistentes, residentes, alunos e colaboradores do HCFMRP-USP**, que tiveram papel fundamental na minha formação.

Agradeço a toda equipe do **Instituto Oncológico de Ribeirão Preto (InORP)**, com quem tenho o prazer de trabalhar há três anos. Aos **Drs. Aurélio Julião de Castro Monteiro, Diocésio Alves Pinto de Andrade, André Filipe Junqueira dos Santos e Gustavo Davoli**, que muito me incentivaram na conclusão desta tese.

Agradeço também às instituições formativas pelas quais passei ao longo da minha vida: **Colégios Bueno Brandão, Nossa Senhora, Marista Dom Silvério de Belo Horizonte e a Universidade de Ribeirão Preto**, por me abrir as portas ao conhecimento da Medicina, em especial aos **Profs. Drs. José Eduardo Dutra de Oliveira, Dra. Maria Auxiliadora Martins, Dra. Jaciara Machado Vianna e Dr. Pedro Herbert Casimiro Onofre**.

Aos queridos amigos do **Grupo de Jovens FACES de Belo Horizonte – Família Agostiniana** - irmãos de fé e de caminhada.

A essa cidade tão acolhedora, **Ribeirão Preto**, a quem homenageio no título desta tese e que muitas alegrias tem me proporcionado - esposa e filha - a maior delas.

E a todos os membros da banca examinadora, pela disponibilidade e paciência em analisar este estudo, enriquecendo-o com suas críticas e sugestões.

RESUMO

Duarte, P.O. **Estudo dos centenários de Ribeirão Preto - Brasil**. 106f. 2015. Tese (Doutorado). Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2015.

Introdução: Centenários são indivíduos que atingiram um século de vida, ou seja, viveram cerca de 20 anos a mais do que a expectativa de vida média da população de países desenvolvidos e 25 anos a mais do que em países em desenvolvimento, como o Brasil. Eles fazem parte do segmento populacional que mais cresce no mundo, sendo estimados aproximadamente 3,8 milhões de idosos nessa faixa etária até a metade deste século. O entendimento das bases da longevidade e do envelhecimento saudável ainda permanece como grande desafio das ciências biológicas no século 21. **Objetivos:** **1)** Conhecimento das características físicas, cognitivas, psíquicas, funcionais e nutricionais da população de centenários presentes na cidade de Ribeirão Preto-SP. **2)** Comparar os diversos resultados obtidos entre os centenários com e sem síndrome demencial, desnutridos e não-desnutridos e com independência ou dependência funcional para Atividades Básicas de Vida Diária (ABVDs) pela escala de KATZ. **3)** Analisar a expressão gênica transcricional (por qPCR em tempo real) dos genes de interesse *IGF1*, *IGF2*, *IGF1R*, *APOE-4*, *FOXO1* e *FOXO3*, em linfócitos de sangue periférico dos idosos centenários. **Casuística e Métodos:** Trata-se de um estudo transversal de base populacional com idosos centenários residentes em Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil. Foram obtidas as medidas de peso, altura e pressão arterial, bem como a bioimpedância elétrica. Foi realizada avaliação geriátrica global, por meio de diversas escalas consagradas e análise do desempenho físico e do risco nutricional desses centenários. Numa segunda oportunidade, os pacientes receberam a visita, em jejum, para a coleta de exames laboratoriais, que foram enviados para análise da expressão genética dos genes de interesse. **Resultados e Conclusões:** Dos 59 centenários residentes na cidade, foram avaliados 33, com média de idade de 101 anos, sendo 27 (81,8%) do sexo feminino, 12 deles (36%) com capacidade cognitiva preservada, assim como independência para ABVDs. Quatorze (58,3%) dos pacientes que responderam a Escala de Depressão Geriátrica não apresentaram sintomas de depressão e demonstraram autopercepção de saúde satisfatória. Do ponto de vista nutricional, 33,3% deles puderam ser classificados como desnutrição instalada, por meio da Mini Avaliação Nutricional (MAN), aumentando para 84,8%, se somados aqueles em risco nutricional. O desempenho físico dos idosos, medido por meio da *Short Physical Performance Battery*, está significativamente correlacionado, de maneira inversa, ao Fator de Necrose Tumoral, à Interleucina-6, PCR ultra sensível, alfa 1 glicoproteína ácida, velocidade de hemossedimentação e Homocisteína, assim como, de maneira direta, à albumina e ao HDL Colesterol. Os centenários apresentaram elevadas taxas de deficiência de vitamina D e aumento de Homocisteína. Os resultados mostraram que na população estudada não houve diferença significativa na expressão dos genes *IGF1R*, *IGF1*, *FOXO1*, *FOXO3* e *APOE-4* na comparação entre os grupos demência e não-demência, entre os grupos independência e dependência para ABVDs e entre os desnutridos e não-desnutridos. Houve tendência de diferença na expressão do gene *IGF1* entre os grupos demência e não-demência ($p=0.07$).

Palavras-chave: Longevidade, Muito idosos, Hipertensão Arterial, Centenários, Genes associados à longevidade.

ABSTRACT

DUARTE, P.O. **Ribeirão Preto - Brazil, centenarians study**. 106f. 2015. Thesis (Doctoral). Ribeirão Preto Medical School, University of São Paulo, Ribeirão Preto, 2015.

Introduction: Centenarians are individuals who have reached one century of life. They live about 20 years longer than the population average life expectancy of developed countries and 25 years longer than developing countries like Brazil. They are part of the fastest growing population segment in the world and it is estimated about 3.8 million seniors in this age group by mid-century. Understanding the longevity basis and the healthy aging remain as great challenges of life sciences in the 21st century. **Objectives:** 1) The knowledge of physical, cognitive, psychological, functional and nutritional status of Ribeirão Preto centenarians. 2) Compare results between centenarians with and without dementia, malnourished or not, and independent for basic activities daily living (BADL) or not. 3) Analyze the transcriptional gene expression (by real-time PCR) of genes *IGF1*, *IGF2*, *IGF1R*, *APOE-4*, *FOXO1* and *FOXO3* in peripheral blood lymphocytes of centenarians. **Casuistic and Methods:** This is a cross-sectional population-based study of community-dwelling centenarians living in Ribeirão Preto, São Paulo, Brazil. Ages were confirmed by birth certificate. Weight, height and blood pressure measurements were obtained, as well the bioimpedance, the global geriatric assessment through various consecrated scales, the physical performance and nutritional risk of centenarians. A second chance, patients received one visit for the collection of fasting laboratory tests and sending the genetic material for analysis of gene expression. **Results and Conclusions:** Thirty three centenarians with an average age of 101 years, 27 (81.8%) of them were females, 12 (36%) of them with no dementia and independent for BADLs. Fourteen (58.3%) of volunteers who responded the Geriatric Depression Scale showed no symptoms of depression and 14 had the same self-perception of satisfactory health. Regarding nutrition state, 33.3% of patients could be classified as installed malnutrition by the Mini Nutritional Assessment, rising to 84.8% if we add those at nutritional risk. The performance measured by Short Physical Performance Battery was inversely correlated to the Tumor Necrosis Factor, Interleukin-6, ultra sensitive PCR, alpha-1 acid glycoprotein, ESR and homocysteine, and as a direct manner correlated to albumin and HDL Cholesterol. The centenarians showed high levels of vitamin D deficiency and hyperhomocysteinemia. The results showed no significant difference in the *IGF1R*, *IGF1*, *FOXO1*, *FOXO3* and *APOE-4* expression between Dementia and No dementia groups, between Independent and Dependent groups for BADL and between Malnourished and no malnourished groups. There is a tendency of difference in the expression of *IGF1* gene between Dementia and No dementia groups ($p=0.07$).

Key-words: Longevity, Very old, Centenarians, Hypertension, Dementia, longevity genes

LISTA DE FIGURAS

Figura 1-	Representação da cascata de fosforilação que culmina na regulação da translocação e atividade das proteínas FOXO. (Adaptado de CHUNG et al., 2010)	23
Figura 2-	Estadiômetro para medida da altura	31
Figura 3-	Integridade da amostra de RNA do voluntário centenário C01 isolada de células mononucleares de sangue periférico - <i>RNA integrity number</i> (RIN).....	38
Figura 4:	<i>Box-plots</i> das variáveis Interleucina-6 (IL-6), Proteína C Reativa (PCR), Albumina e Homocisteína, cujas diferenças foram significativas entre os grupos de centenários demenciados e não-demenciados (Teste de Mann-Whitney)	55
Figura 5:	<i>Box-plots</i> das variáveis Interleucina-6 (IL-6), Velocidade de Hemossedimentação (VHS), Insulinemia e Homocisteína, cujas diferenças foram significativas entre os grupos de centenários desnutridos e não-desnutridos (Teste de Mann-Whitney)	58
Figura 6:	<i>Box-plots</i> das variáveis Interleucina-6 (IL-6), Velocidade de Hemossedimentação (VHS), <i>Low Density Lipoprotein</i> (LDL) colesterol e Homocisteinemia, cujas diferenças foram significativas entre os grupos de centenários dependentes e independentes para Atividades Básicas de Vida Diária (ABVD) pela escala de KATZ (Teste de Mann-Whitney)	60
Figura 7-	Densitometria da eletroforese microfluídica das amostras de RNA total. Como exemplo, amostras do RIN de oito centenários: C01 a C08	61

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Descrição geral - Estudo dos centenários de Ribeirão Preto.....	46
Tabela 2 -	Descrição geral - Estudo dos centenários de Ribeirão Preto - dividido por sexo.....	47
Tabela 3 -	Descrição geral - Estudo dos centenários de Ribeirão Preto - Dados clínicos	49
Tabela 4 -	Correlações entre parâmetros clínicos e laboratoriais dos centenários	52
Tabela 5 -	Comparações de testes laboratoriais entre demência e não- demência (Teste de Mann-Whitney).....	54
Tabela 6 -	Comparações de parâmetros clínicos e laboratoriais entre demência e não-demência (Teste de Mann-Whitney)	56
Tabela 7 -	Comparações de testes laboratoriais entre desnutridos e não- desnutridos (Teste de Mann-Whitney).....	57
Tabela 8 -	Comparações de testes laboratoriais entre dependentes e Independentes para Atividades Básicas de Vida Diária (Escala de Katz) - (Teste de Mann-Whitney).....	59
Tabela 9 -	Comparações da expressão gênica entre os subgrupos demência e não-demência (Teste de Mann-Whitney)	62
Tabela 10 -	Comparação da expressão gênica entre desnutrido e não- desnutrido (Teste de Mann-Whitney).....	63
Tabela 11 -	Comparação da expressão gênica entre os grupos dependente e independente (capacidade funcional Katz) (Teste de Mann- Whitney).....	64

LISTA DE ABREVIATURAS

ABVD-	Atividades básicas de vida diária
ACT-	Água Corporal Total
AGA-	Avaliação geriátrica ampla
AIVD-	Atividades instrumentais de vida diária
α1 GPA-	alfa 1 glicoproteína ácida
APOE-4	Apolipoproteína E4
AVD-	Atividades de vida diária
BIA-	Bioimpedância elétrica
CC-	Circunferência da cintura
CES-D-	<i>Center for Epidemiological Studies - Depression</i>
CID-10-	Classificação Internacional de Doenças
CP-	Circunferência da panturrilha
CQ-	Circunferência do quadril
CT-	Cicly Treshold
DEPC-	Dietilpirocarbonato
DNA-	Ácido desoxirribonucleico (do inglês: <i>deoxyribonucleic acid</i>)
DSM-IV-	Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais
DEXA-	Absortometria radiológica de Raio X de dupla energia
EDG	Escala de depressão geriátrica
EWGSOP-	<i>European Working Group on Sarcopenia</i>
FMRP-USP-	Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo
FoxO-	<i>Forkhead transcription factor</i>
GCT-	Gordura corporal total
GDS-	<i>Geriatric Depression Scale</i>

GH-	Hormônio de crescimento
HCFMRP-USP-	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo
HDL-	<i>High density lipoprotein</i>
HOMA-IR-	<i>Homeostasis Model Assessment - Insulin Resistance</i>
IBGE-	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IGF-1-	<i>Insulin Growth Factor-1</i>
IGF1R-	<i>Insulin-like growth factor 1 receptor</i>
IL-	Interleucina
IMC-	Índice de massa corporal
IMM-	Índice de massa magra
IMME	Índice de massa muscular esquelética
LDL-	<i>Low density lipoprotein</i>
LLFS-	<i>Long Life Family Study</i>
LLS-	<i>Leiden Longevity Study</i>
MAN-	Mini avaliação nutricional
MEEM-	Mini-exame do estado mental
MG-	Massa gordurosa
MM-	Massa magra
MME	Massa muscular esquelética
NECS-	<i>New England Centenarian Study</i>
OPAS- -	Organização Pan-Americana de Saúde
PAD-	Pressão arterial diastólica
PAS-	Pressão arterial sistólica
PBMCs-	<i>Peripheral blood mononuclear cells</i>

PBS-	Tampão fostato-salina (do inglês phosphate buffere saline)]
PCR-	Proteína C reativa
PDK-	AKT/piruvato desidrogenase quinase
PI3K-	Fosfatidil inositol 3-quinase
Pnad-	Pesquisa Nacional por Amostra de Domicílios
RIN-	<i>RNA integrity number</i>
RNA-	Ácido ribonucleico (do inglês <i>ribonucleic acid</i>)
RQ-	Quantificação relativa
RT-PCR-	<i>Real-time polymerase chain reaction</i>
RT-qPCR-	PCR quantitativa em tempo real
SPPB-	<i>Short physical performance battery</i>
SUS-	Sistema Único de Saúde
TNF-	Fator de necrose tumoral
TSH-	Hormônio estimulante da tireoide
VHS-	Velocidade de hemossedimentação
VHS 1^a-	Velocidade de hemossedimentação de 1 ^a hora

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	20
2. OBJETIVOS.....	26
2.1. Objetivo geral	27
2.2. Objetivos específicos	27
3. CASUÍSTICA E MÉTODOS.....	28
3.1. Delineamento do estudo e participantes	29
3.2. Medidas antropométricas	30
3.3. Bioimpedância elétrica	32
3.4. Avaliação clínica	33
3.5. Avaliação laboratorial.....	35
3.6. Avaliação genética.....	36
3.7. Análise estatística	42
4. RESULTADOS	44
4.1. Análise descritiva dos dados clínicos	45
4.2. Correlações entre parâmetros clínicos e laboratoriais.....	51
4.3. Comparação dos parâmetros laboratoriais entre centenários demenciados e não-demenciados	53
4.4. Comparação dos parâmetros laboratoriais entre centenários desnutridos e não-desnutridos.....	56
4.5. Comparação dos parâmetros laboratoriais entre centenários independentes e dependentes para atividades básicas de vida diária	58
4.6. Análise genética	60
4.6.1. Avaliação da integridade das amostras de RNA.....	60
4.6.2. Expressão gênica transcricional	61
5. DISCUSSÃO.....	65
6. CONCLUSÕES.....	77
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	80
8. ANEXOS.....	92

ANEXO DE PUBLICAÇÃO

1- INTRODUÇÃO

Centenários são indivíduos que atingiram um século de vida, ou seja, viveram cerca de 20 anos a mais que a expectativa de vida média da população de países desenvolvidos, e 25 anos a mais que em países em desenvolvimento, como o Brasil. Eles fazem parte do segmento populacional que mais cresce no mundo, sendo estimado aproximadamente 3,8 milhões de idosos nessa faixa etária até a metade deste século (UNITED NATIONS POPULATION DIVISION, 2000).

O idoso centenário é um importante modelo de estudo do envelhecimento bem sucedido em nossa população. Espécies de vida mais longa possuem vários mecanismos para compensar os danos relacionados ao envelhecimento (stress oxidativo, encurtamento dos telômeros, e outros), mais eficazes do que os das espécies de vida mais curta (WILLCOX, D.C.; WILLCOX B.J.; POON, 2010).

O entendimento das bases da longevidade e, mais importante, do envelhecimento saudável, ainda permanecem como grandes desafios das ciências biológicas no século 21. Entender como os fatores ambientais, genéticos e suas interações contribuem para o alcance desse fenótipo, maximizando as possibilidades de se evitarem doenças e aumentando a saúde da população, é um conhecimento desejado desde a idade média e persiste até os dias atuais. Esse conhecimento pode permitir a implementação de intervenções para melhorar a saúde humana ainda mais (BERNSTEIN et al., 2004; WILLCOX, D.C.; WILLCOX B.J.; POON, 2010).

O Brasil é um dos países do mundo que mais rapidamente está envelhecendo, sendo cada vez mais comum encontrar pessoas centenárias. O número de centenários no país triplicou em apenas uma década, segundo os dados da Pesquisa Nacional por Amostra de Domicílios (Pnad) e do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). De acordo com o Censo de 2010, foram contabilizados mais de 24.236 centenários no Brasil, sendo 7.247 homens e 16.989 mulheres, corroborando com o denominado processo da feminização do envelhecimento. Desses, 59 eram de Ribeirão Preto-SP, sendo 53 mulheres e seis homens.

Os determinantes da longevidade excepcional são multifatoriais e envolvem processos complexos, a maioria dos quais, ainda não são entendidos

completamente. Importantes avanços têm sido conquistados na compreensão dos mecanismos que influenciam o envelhecimento e a expectativa de vida (MARQUES; MARKUS; MORRIS, 2010; WILLCOX, D. C. et al., 2006).

Existe ampla evidência de que fatores genéticos estão envolvidos na longevidade extrema, tanto em humanos quanto em outros animais (BROER et al., 2015). Dados de dois estudos, o *New England Centenarian Study* e *Okinawa Centenarian Study*, demonstram que os irmãos e filhos de centenários possuem probabilidade, significativamente maior, de viverem além dos 90 anos do que grupos controles nascidos na mesma época; confirmando a importância da herança genética na determinação da sobrevida dos seres humanos (PERLS; TERRY, 2003a; WILLCOX, D. C. et al., 2006).

Inúmeros mecanismos biológicos estudados têm sido envolvidos ou associados ao processo de envelhecimento. Embora não completamente entendidos, esses mecanismos incluem as vias de sinalização da insulina, *IGF-1* (insulin-like growth factor-1) e lipoproteínas, dano oxidativo, reparo do DNA (ácido desoxirribonucleico), supressão tumoral, processos inflamatórios e disfunção mitocondrial (CARTER et al., 2007; SEBASTIANI et al., 2012).

Dentre as diversas vias relatadas, a via de sinalização da insulina *IGF-1* foi uma das primeiras a demonstrar interferência na sobrevida de modelos animais e por isso é uma das mais estudadas (COHEN; DILLIN, 2008). Ela envolve eventos de fosforilação em cascata por meio da via de fosfatidil inositol 3-quinase (PI3K) / AKT/piruvato desidrogenase quinase (PDK) que, finalmente, regula a translocação nuclear e a atividade da proteína FOXO (forkhead transcription factor) (Figura 1).

Figura 1: Representação da cascata de fosforilação que culmina na regulação da translocação e atividade das proteínas FOXO. (Adaptada de CHUNG et al., 2010).

As proteínas FOXO exercem importante papel na longevidade e supressão tumoral celular por regular genes alvos envolvidos na resistência ao estresse oxidativo, metabolismo celular, parada do ciclo celular e apoptose. A família Fox traduz uma variedade de estímulos ambientais, incluindo insulina, GH (hormônio de crescimento), nutrientes e estresse oxidativo na expressão de genes específicos (CALNAN; BRUNET, 2008).

Vias de sinalização da insulina regulam negativamente a FOXO. Portanto, quando a sinalização da insulina ou IGF é baixa, a FOXO é ativada e ocorre aumento no tempo de vida celular. Alelos da *FOXO3A* foram associados à longevidade em estudos de populações europeias e asiáticas. Eles aumentariam a expressão e atividade da FOXO3A promovendo melhor saúde e aumentando a sobrevivência humana (FLACHSBART et al., 2009; LI et al., 2009).

Existem mais de cem genes candidatos identificados e analisados para possível associação com a longevidade. Embora muitos desses genes candidatos

tenham sido estudados, apenas dois têm seus resultados amplamente replicados em pesquisas de diferentes populações: Os genes *APOE-4* (apolipoproteína E) e *FOXO3* (SCHACHTER et al., 1994; SEBASTIANI et al., 2012; WILLCOX et al., 2008).

O alelo $\epsilon 4$ da *APOE* é bem conhecido por aumentar o risco de doenças cardiovasculares e doença de Alzheimer. Ele foi encontrado em menor frequência em nonagenários e centenários, quando comparado a adultos jovens, sugerindo que os indivíduos com esse alelo não vivem tanto quanto aqueles que não o possuem. Ao contrário, a frequência do alelo $\epsilon 2$ está aumentada nos indivíduos longevos e pode oferecer efeito protetor para as doenças cardiovasculares e doença de Alzheimer (SCHACHTER et al., 1994).

Estudos de biologia molecular em idosos centenários têm identificado outros genes potencialmente atribuídos ao aumento da expectativa de vida nesses pacientes. Entretanto, as pesquisas genéticas relacionadas ao envelhecimento ainda estão em amadurecimento, exatamente pelo caráter complexo e multifatorial do processo. Avanços no entendimento dessa área requerem abordagens interdisciplinares (MARQUES; MARKUS; MORRIS, 2010).

Pessoas longevas, geralmente têm como característica menor prevalência das principais doenças crônicas como as cardiovasculares, acidente vascular cerebral, doença pulmonar obstrutiva crônica, diabetes, neoplasias, doença de Alzheimer ou atraso expressivo no aparecimento dessas doenças; mecanismo conhecido como compressão de morbidade (WILLCOX, B. J. et al., 2006).

Várias classificações na literatura tentam organizar a heterogeneidade de centenários em grupos, com base no seu estado de saúde: excepcional (todas as funções intactas e classificadas como excelentes), normal (manutenção das funções cognitivas e físicas), *frail* (comprometimento da função cognitiva ou física) e *fragile* (deteriorização de ambas as funções cognitiva e física) (GONDO et al., 2006), ou na história clínica: os sobreviventes (que sobreviveram à doença), os retardatários (que desenvolveram a doença tardiamente) e *escapers* (chegaram aos 100 anos sem doenças) (EVERT et al., 2003).

Estudo dinamarquês com gêmeos fraternos e idênticos relatou que cerca de 25% da longevidade é atribuível a fatores hereditários. Em outras palavras, as

diferenças ambientais responderiam por, pelo menos, 75% das variações na idade de morte no conjunto dos gêmeos estudados (HERSKIND et al., 1996). Dessa forma, inúmeros fatores ambientais estão envolvidos com o aumento da expectativa de vida desses idosos longevos.

Estudo com centenários judeus da Europa Central e seus filhos encontrou aumento nos níveis de Colesterol HDL (high density lipoprotein) e baixos níveis de LDL (low density lipoprotein), menor prevalência de hipertensão arterial, doenças cardiovasculares e síndrome metabólica, nessa população (BARZILAI et al., 2001).

No estudo dos centenários de New England (1.500 centenários de oito cidades da região de Boston), 85% eram mulheres e estavam melhor preparadas para enfrentar doenças ou conviver com elas do que os homens, que eram todos casados. Poucos casos de obesidade foram relatados. Entretanto, 20% dos centenários eram tabagistas. O nível de renda e a escolaridade não foram fatores determinantes da longevidade e 90% deles viveram independentemente até 92 anos de idade (PERLS; TERRY, 2003a).

Estudos em outros países mostraram que até 30% dos centenários têm ótima capacidade cognitiva e o tempo de incapacidade funcional desses indivíduos é o menor possível (CHRISTENSEN et al., 2008; PERLS; TERRY, 2003b). Entretanto, não existem dados disponíveis sobre essa população no Brasil, o que motiva a busca por informações sobre esse, ainda raro, fenótipo, a fim de se perseguir eventuais fatores protetores, do ponto de vista ambiental, psíquico, biológico e genético, que possam contribuir para o entendimento da longevidade na população brasileira e fornecer bases para a implementação de medidas de promoção para um envelhecimento ativo e bem sucedido.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Estudar a população de centenários de Ribeirão Preto-SP, Brasil, identificando fatores associados à melhor condição cognitiva, nutricional e funcional.

2.2 Objetivos específicos

1. Conhecimento das características físicas, cognitivas, psíquicas, funcionais e nutricionais da população de centenários residentes na cidade de Ribeirão Preto-SP, Brasil.
2. Comparar os diversos resultados obtidos entre os centenários com e sem síndrome demencial, desnutridos e não desnutridos e com funcionalidade preservada, ou não, para as atividades básicas de VIDA Diária (ABVDs).
3. Analisar a expressão gênica transcricional (por qPCR em tempo real) dos genes associados a via de sinalização de insulina e lipoproteínas *IGF1*, *IGF2*, *IGF1R*, *FOXO1*, *FOXO3* e *APOE-4* em linfócitos de sangue periférico dos idosos centenários e comparar as diferenças na expressão desses genes entre os centenários preservados, do ponto de vista cognitivo, funcional e nutricional, ou seja, caracterizados por um envelhecimento mais bem sucedido.

3. CASUÍSTICA E MÉTODOS

3.1 Delineamento do estudo e participantes

Trata-se de um estudo transversal de base populacional com idosos centenários residentes em Ribeirão Preto-SP, Brasil. A pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética e Pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (HCFMRP-USP), em 09/04/2012, Processo nº 903/2012 (Anexo A).

A meta foi avaliar o maior número possível de idosos encontrados em uma população de 59 centenários moradores na cidade, de acordo com o Censo 2010. Os participantes foram selecionados por meio de bancos de dados existentes nos seguintes sistemas:

1. Cadastro da Secretaria Municipal de Saúde de Ribeirão Preto, denominado "Hygia", para pacientes residentes na cidade e usuários do Sistema Único de Saúde (SUS) (Anexo B).
2. Cadastro de dois dos maiores planos de saúde privados existentes na cidade de Ribeirão Preto-SP (Unimed e São Francisco).

As famílias e/ou voluntários foram previamente contatados via telefone para conhecimento sobre a pesquisa e, então, convidados a participar.

Todos os pacientes foram avaliados em domicílio, visto que muitos apresentavam restrição de mobilidade, evitando ocasionar desconforto aos mesmos ou seus cuidadores, aumentando a adesão à participação.

Na primeira visita, os voluntários e/ou seus responsáveis legais foram esclarecidos acerca da natureza do estudo, dos testes clínicos e laboratoriais, aos quais seriam submetidos, sendo lido e assinado o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, de acordo com as normas exigidas pelo Comitê de Ética em Pesquisa do HCFMRP-USP (Anexo C).

Os pacientes tiveram a idade cronológica confirmada com a apresentação e checagem de, pelo menos, um documento original, que poderia ser: Certidão de Nascimento, Batismo ou de Casamento.

A ausência de comprovação documental da idade e quadro de adoecimento agudo foram os únicos critérios de exclusão do estudo.

O pesquisador precisou de duas visitas para a coleta de dados clínicos e uma visita para a coleta de sangue, com o auxílio da equipe de enfermagem do Laboratório Behring de Ribeirão Preto, parceiro na análise dos exames laboratoriais. Um tubo com anticoagulante EDTA e sangue do paciente era encaminhado pelo pesquisador, no mesmo dia da coleta, ao Laboratório de Citogenética e Mutagênese do Departamento de Genética da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (FMRP-USP), sob a coordenação da Prof^a Dr^a Elza Tiemi Sakamoto Hojo, para avaliação da expressão gênica transcricional (por qPCR em tempo real) dos genes de interesse.

3.2 Medidas antropométricas

As medidas antropométricas realizadas foram: peso, altura, circunferência da cintura (CC), do quadril (CQ) e da panturrilha (CP).

Peso: Para medição correta do peso foi orientado que a mesma fosse realizada pela manhã, com os idosos vestindo roupas leves, sem calçado, de preferência em jejum e com a bexiga vazia. Para a medida do peso corporal, foi utilizada balança digital, da marca G-tech, modelo Glass 3 Control, com capacidade de 180 kg. Em caso de incapacidades, o peso foi estimado pelas equações de Chumlea et al. (1988), que necessitam de várias medidas antropométricas:

Homem: $\text{Peso (kg)} = (0,98 \times \text{circunferência da panturrilha}) + (1,16 \times \text{altura do joelho}) + (1,73 \times \text{circunferência do braço}) + (0,37 \times \text{prega cutânea subescapular}) - 81,69$.

Mulher: $\text{Peso (kg)} = (1,27 \times \text{circunferência da panturrilha}) + (0,87 \times \text{altura do joelho}) + (0,98 \times \text{circunferência do braço}) + (0,4 \times \text{prega cutânea subescapular}) - 62,35$.

Estatura: Os idosos foram orientados a ficar descalços, na posição ereta, olhando para o horizonte. A estatura corporal foi medida entre a distância do vértex e a região plantar. O estadiômetro utilizado para as medidas foi uma barra vertical, inextensível, graduada a cada 0,5 cm, da marca Altura Exata (Figura 2).

Figura 2: Estadiômetro para medida da altura.

Para os pacientes acamados, foram aplicadas as equações para estimar a estatura a partir da altura do joelho, segundo Chumlea, Roche e Steinbaugh (1985).

Homem: Estatura (cm) = (2,02 x altura do joelho) - (0,04 x idade) + 64,19

Mulher: Estatura (cm) = (1,83 x altura do joelho) - (0,24 x idade) + 84,88

Índice de Massa Corporal (IMC): para o cálculo do IMC foi empregada a fórmula abaixo. O resultado foi expresso em kg/m².

$$\text{IMC} = \frac{\text{peso(kg)}}{\text{altura}^2(\text{m})}$$

Circunferência da Panturrilha (CP): Esta medida foi obtida com o avaliado sentado, com os pés afastados. Uma fita inelástica foi colocada ao redor da panturrilha e localizada a máxima circunferência (LOHMAN; ROCHE; MARTORELL, 1988).

Circunferência da Cintura (CC) e Quadril (CQ): a CC foi medida no menor diâmetro na altura da crista ilíaca e da última costela flutuante, que é a parte mais estreita do tronco, e a CQ foi medida na extensão máxima das nádegas (PITANGA, 2000).

3.3 Bioimpedância elétrica

Após as medidas de peso e estatura ou a aplicação das fórmulas de estimativas e, ainda, com o paciente em jejum (8 horas do período do sono), foi realizada a bioimpedância elétrica (BIA) tetra polar, 800 microamperes e 50 *kilohertz* (aparelho Biodinamics modelo 450). Os eletrodos foram posicionados no padrão ipsilateral do pulso e tornozelo e na linha distal do metacarpo e carpo no dimidio dominante (BAUMGARTNER et al., 1998). Ao todo, sete pacientes não se submeteram ao exame; sendo dois por óbito, antes da realização da parte física da pesquisa, três por uso de marca-passo (contraindicando o exame) e dois por impossibilidade técnica. Outros 26 centenários realizaram o exame sem nenhum problema. A massa muscular esquelética (MME) foi estimada a partir da BIA utilizando equações de estudos já realizados e validados em populações caucasianas, afro-americanas e hispânicas (JMcGEE; JENSEN, 2000), onde:

$$\text{MME(kg)} = [(\text{Estatura}^2 / \text{Resistência}) \times 0,401] + (\text{sexo} \times 3.825) - (\text{idade} \times 0.071)] + 5,102$$

em que a altura deve ser calculada em centímetros; resistência em ohms; para sexo masculino = 1 e feminino = 0 e idade em anos. A MME foi convertida em índice de massa muscular (IMM), dividindo-a por metros ao quadrado:

$$\text{IMME} = \text{MME}/\text{Estatura}^2$$

3.4 Avaliação clínica

Todos os pacientes foram submetidos à avaliação geriátrica ampla (AGA), com atenção para patologias pregressas, hábitos de vida, uso de medicamentos, rede de suporte social e de cuidados, internações prévias e avaliação cognitiva com a aplicação do Mini Exame do Estado Mental (MEEM), fluência verbal e teste do desenho do relógio (BRUCKI et al., 2003; FOLSTEIN et al., 1975; KIRBY et al., 2001; LONG; WOLPAW; LEUNG, 2015). A avaliação funcional foi obtida por meio de escalas de atividades básicas e instrumentais de vida diária (Escala de Lawton e Brody e Escala de Katz) (LAWTON; BRODY, 1969; KATZ; STROUD, 1989).

O parâmetro humor foi avaliado pela Escala de Depressão Geriátrica (EDG) (ALMEIDA; ALMEIDA, 1999a) e a avaliação nutricional pela aplicação da Mini Avaliação Nutricional (MAN) (GUIGOZ; LAUQUE; VELLAS, 2002) com o paciente ou o seu cuidador principal. Também foram realizadas medidas da pressão arterial na posição sentada, sempre que possível, por três vezes no braço direito e três vezes no braço esquerdo para verificar se havia diferença significativa de pressão entre os membros (>10mmHg). A pressão arterial foi medida com o esfigmomanômetro aneroide *Tycos*. Foi calculada a média das três medidas do membro superior direito, posto que em nenhum caso houve diferença de medida entre os membros.

A presença de fragilidade foi avaliada com base na análise de cinco parâmetros descritos por Fried et al. (2001), que podem caracterizar os fenótipos da síndrome: 1) perda de peso não intencional ($\geq 4,5\text{kg}$ ou $\geq 5\%$ do

peso corporal do ano anterior); 2) exaustão avaliada por autorrelato de fadiga, indicado por duas questões da *Center for Epidemiological Studies - Depression* (CES-D); 3) diminuição da força de preensão, medida com dinamômetro na mão dominante e ajustada ao sexo e IMC; 4) baixo nível de atividade física, medido pelo dispêndio semanal de energia em quilocalorias, ajustado segundo o sexo (com base no autorrelato das atividades e dos exercícios físicos realizados, avaliados pelo Minnesota Leisure Time Activities Questionnaire); 5) lentidão, medida pela velocidade da marcha, indicada em segundos (distância de 4,6 m, ajustada segundo sexo e altura). Pessoas com três ou mais dessas características seriam classificadas como frágeis e as com uma ou duas, como pré-frágeis.

A aplicação do MEEM (BRUCKI et al., 2003; FOLSTEIN et al., 1975) (Anexo D), exame largamente utilizado como rastreio de demência e com boa reprodutibilidade interaplicadores; compreende cinco seções, em que busca avaliar orientação, registro, atenção e cálculo, memória e linguagem. É pontuado de zero a 30, e a menor pontuação indica pior desempenho cognitivo. Foram considerados como não portadores de demência os participantes selecionados para o grupo controle que obtiveram pelo menos 20 pontos no MEEM e que não apresentavam informações sugestivas de comprometimento funcional a partir de déficits cognitivos durante a entrevista, conforme recomendação dos critérios diagnósticos de síndrome demencial do DSM-IV (Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais) (GMITROWICZ; KUCHARSKA, 1994) (Anexo E).

Foi aplicado o questionário da MAN, constituído por 18 questões que se dividem em duas partes. Na primeira parte estão contidas seis perguntas relativas à avaliação da ingestão alimentar e perda ponderal nos últimos três meses, mobilidade, ocorrência de estresse psicológico ou doença aguda recente, alterações neuropsicológicas e IMC. A segunda parte aborda questões acerca de medidas antropométricas, como circunferências de braço e panturrilha; investigação alimentar, como o número de refeições consumidas, ingestão de líquidos e alimentos; autonomia para se alimentar; avaliação

global, com perguntas relacionadas ao estilo de vida e aos medicamentos utilizados, e autoavaliação relativa à saúde e nutrição do idoso. Com isso, soma-se a pontuação: menos de 17 pontos, desnutrido, de 17 a 23,5, sob risco de desnutrição e de 24 a 30, estado nutricional normal (McGEE e JENSEN, 2000) (Anexo F).

Dos 33 pacientes avaliados, o questionário foi aplicado de forma completa em 30 idosos. Na maioria dos casos, com o auxílio do cuidador. Foi aplicado também o teste de desempenho físico *Short Physical Performance Battery* (SPPB), já validado para a população brasileira (NAKANO, 2007). Este instrumento é composto por três testes que avaliam, na seqüência, o equilíbrio estático em pé, a velocidade de marcha em passo habitual, medida em dois tempos em determinado percurso de ida e volta e, indiretamente, a força muscular dos MMII por meio do movimento de levantar-se da cadeira e sentar-se nela cinco vezes consecutivas e sem o auxílio dos membros superiores. Entretanto, como se tratava de estudo com pacientes com risco de quedas presumivelmente maior, foi excluída a 3ª análise de equilíbrio do teste original, que avalia um pé a frente do outro em linha reta por 10 segundos chegando, portanto, a uma soma que variava de 0 a 10 pontos na classificação do desempenho físico (Anexo G).

3.5 Avaliação laboratorial

Foram realizadas coletas de sangue com o paciente em jejum de 10 horas para dosagens de Glicemia, Insulinemia, Lipidograma completo, TSH (hormônio estimulante da tireoide), Sódio, Potássio, Cálcio total, Albumina, Ureia, Creatinina, Hemograma completo, Proteína C Reativa (PCR) ultra sensível, alfa 1 glicoproteína ácida (α 1 GPA), Velocidade de hemossedimentação (VHS), Interleucinas (IL) 1, 6, TNF- α (fator de necrose tumoral-alfa), Vitaminas D e B12, Ácido Fólico e Homocisteína. Os exames foram processados no Laboratório Behring de Ribeirão Preto-SP (Anexo H).

3.6 Avaliação genética

Coleta de sangue e separação de células mononucleares do sangue periférico (PBMCs)

As amostras de sangue de cada paciente foram encaminhadas ao Laboratório de Citogenética e Mutagenese do Departamento de Genética da FMRP-USP. Foram coletados 20 mL de sangue periférico por punção venosa em tubos *vacutainer* com EDTA® (Sigma, St. Louis, MO, EUA). Após a coleta, as amostras foram mantidas sob refrigeração até o momento da separação das PBMCs (peripheral blood mononuclear cells), realizada no mesmo dia da coleta. O isolamento das células mononucleares foi realizado por meio de centrifugação por gradiente de densidade utilizando *Ficoll-Paque* (d=1,077 g/mL) (GE Healthcare, Piscataway, NJ, EUA), de acordo com procedimento previamente descrito por Böyum (1968), com modificações.

Durante a separação celular, foi adicionado a cada amostra de sangue volume igual de solução salina 0,9% estéril (1:1). As amostras foram, então, depositadas gentilmente sobre uma solução *Ficoll-Paque* na proporção 2:1. Os tubos com as amostras foram centrifugados por 15 minutos a 400 x g, em temperatura ambiente. Após a centrifugação, um anel de células mononucleares foi obtido, localizado na interface entre o *Ficoll-Paque* e o plasma sanguíneo. Essas células foram colhidas com o auxílio de pipeta *Pasteur* e submetidas à lavagem com solução salina 0,9% estéril e posterior centrifugação a 100 x g por sete minutos. O *pellet* foi ressuspenso em 200 µL de solução salina, tratada previamente com dietilpirocarbonato (DEPC, Sigma, St. Louis, MO, EUA). Em seguida, as células foram submetidas à separação de fases orgânicas.

Extração de RNA, quantificação e avaliação de sua integridade

As amostras de RNA, obtidas de PBMCs, foram extraídas com a utilização do reagente TRIzol (Invitrogen), que consiste de uma solução monofásica de fenol e isotiocianato de guanidina, permitindo realizar a

precipitação sequencial de RNA (ácido ribonucleico), DNA e proteínas, a partir de uma única amostra, de acordo com procedimento previamente descrito (CHOMCZYNSKI, 1993). Para tal, foi utilizado 1 mL do reagente para cada 5 mL de amostra de sangue total; que foram, então, divulsionadas vigorosamente e incubadas por cinco minutos à temperatura ambiente, para permitir completa dissociação de complexos de nucleoproteínas. Em seguida, foram adicionados 200 µL de salina DEPC e 200 µL de clorofórmio para cada 1 mL de TRIzol às amostras, seguido de agitação vigorosa por aproximadamente 15 segundos e incubação por cinco minutos à temperatura ambiente. Para a separação da solução em três fases (aquosa, interface e orgânica), os tubos foram centrifugados a 12000 x g por 15 minutos a 4°C, sendo que o RNA se conservou exclusivamente na fase aquosa, que foi transferida para um novo tubo.

A precipitação do RNA procedeu-se com a adição de 800 µL de isopropanol para cada 1 mL de TRIzol, seguida de homogeneização por inversão e incubação a -20°C *overnight*. Após esse período, as amostras foram centrifugadas a 12000 x g por 10 minutos a 4°C e o sobrenadante descartado. Posteriormente, para retirada de impurezas do RNA foram realizadas três lavagens com 1 mL de etanol 75% DEPC gelado para cada 1 mL de TRIzol. Durante cada uma das lavagens, as amostras foram misturadas por 1 min seguido de centrifugação a 7500 x g por 5 min a 4°C. Após a etapa das lavagens e da evaporação de todo o etanol, o RNA foi eluído em 20 µL de água, previamente tratada com DEPC, e imediatamente armazenado em freezer a -80°C.

Todas as amostras de RNA foram quantificadas e avaliadas quanto à sua pureza, utilizando o espectrofotômetro *NanoVue Plus®* (GE Life Sciences), nos comprimentos de onda 230 nm, 260 nm e 280 nm. Sendo que os valores considerados ideais para a razão A260/A280 variaram entre 1,8 e 2,1, demonstrando ausência de contaminação por proteínas. Também foi analisada a contaminação por compostos orgânicos, tais como fenol e/ou guanidina, por meio da razão A260/A230, não podendo os valores serem inferiores a 1,7 ou

superiores a 2,2. Somente as amostras que apresentaram razões dentro das faixas aceitáveis foram utilizadas.

A integridade da molécula de RNA foi avaliada pelo *kit* RNA 6000 Nano (Agilent, Technologies, Santa Clara, CA, EUA), no aparelho *Agilent 2100 Bioanalyzer* (Agilent), seguindo as instruções do fabricante. O gel para separação das amostras de RNA e as próprias amostras (150 ng de RNA) foram aplicados em *nano chips* contendo microcanais interconectados, os quais foram usados para a separação dos fragmentos por eletroforese. Este sistema calcula o número de integridade do RNA (RIN, do inglês *RNA Integrity Number*) com escala de 0 a 10. No presente estudo, foram utilizadas somente amostras com valor de integridade $\geq 7,0$ (Figura 3). Segundo as recomendações da *Agilent*, as amostras que apresentassem RIN menores que 7,0 deveriam ser descartadas.

Figura 3: Densitometria da amostra de RNA do voluntário centenário C01 isolada de células mononucleares de sangue periférico - RNA *integrity number* (RIN) = 8,9.

Extração de DNA

O DNA genômico foi extraído de acordo com o protocolo de extração *Gentra® Puregene® Blood Kit* (Qiagen, Valencia, CA, EUA), adaptado para sangue periférico congelado (-80°C). Para tal, foi utilizado 300 µL de sangue periférico congelado de cada amostra, adicionando-se 20 mL de solução de lise de glóbulos vermelhos, incubando-se por 10 minutos à temperatura ambiente e subsequente centrifugação a 3.000 x g por 5 min. Após a centrifugação, retirou-se todo o sobrenadante; adicionando-se, posteriormente, 1 mL de tampão fosfato-salino (PBS, do inglês phosphate buffered saline) e centrifugado a 2000 x g por 3 minutos. Após a centrifugação, o sobrenadante foi descartado e o *pellet* homogeneizado. Imediatamente, foram adicionados 400 µL de solução de lise de glóbulos brancos, seguido de homogeneização por inversão e incubação, em temperatura ambiente *overnight*. Após esse período, acrescentaram-se 200 µL de solução de precipitação de proteínas a cada amostra, homogeneizando vigorosamente por 20 segundos e centrifugando-se a 3000 x g por 5 minutos. Logo após, o sobrenadante foi descartado e adicionaram-se 500 µL de isopropanol absoluto gelado a cada amostra, com posterior agitação por inversão e centrifugação a 2000 x g por 5 minutos.

Após a centrifugação, o sobrenadante foi descartado e realizada lavagem em cada amostra, utilizando-se 500 µL de etanol 70%, seguido de centrifugação a 2.000 x g por três minutos a 4°C. O etanol foi descartado, sendo o *pellet* seco em temperatura ambiente, deixando o tubo aberto e invertido por 20 minutos. O DNA foi eluído em 25 µL de tampão TE (10 mM Tris; 1 mM EDTA, ácido etilenodiamino tetra-acético) e estocado a 4°C. Após o período de 24 horas, as amostras foram quantificadas no aparelho de espectrofotometria *NanoVue Plus®* (*GE Healthcare Life Sciences*). Ao final, o material foi estocado a -20°C até o momento de uso. A integridade do DNA genômico extraído foi avaliado por meio de eletroforese em gel de agarose (1%), corado com brometo de etídeo.

Transcrição reversa (RT-PCR) para obtenção do cDNA

Para a remoção de possíveis moléculas de DNA nas amostras de RNA, utilizou-se o *kit Deoxyribonuclease I Amplification Grade (Invitrogen)*, com volume final de 10 µL para cada amostra seguindo as proporções: 1 µL de *DNase Reaction Buffer 10x (Invitrogen)*, 1 µL de *DNase I Ampgrade 1U/µL (Invitrogen)*, 1 µg de RNA total e água livre de nucleases para completar o volume. As amostras foram armazenadas em temperatura ambiente por 15 minutos, seguindo com adição de 1 µL de EDTA (25 mM) para inativação da DNase, e então aquecidas por 10 minutos a 65°C, finalizando a reação.

Após a etapa de purificação do RNA, foram realizadas as reações de RT-PCR (real-time polymerase chain reaction) para obtenção de cDNA. Para tal, foi utilizado o *kit superScript® III Reverse Transcriptase (Invitrogen, Carlsbad, USA)*, adicionando-se 0,5 µL de oligo(dT)12-18 *primer* (0.5 µg/µl) aos RNAs provenientes da reação com DNase. As amostras foram incubadas por 10 minutos a 70°C e transferidas para o gelo ao fim da reação. Logo após, foram acrescentados 4 µL *5x First-strand Buffer*, 2 µL de *DTT* (0,1 M), 1 µL de *dNTP* (10 Mm) e 1 µL de *superScript® III RT* (200 U/ µL) em cada amostra. Essas amostras foram, então, divulsionadas e incubadas a 50°C por 50 minutos, seguido de inativação da reação, incubando-as novamente a 70°C por 15 minutos. O produto da reação foi estocado a -20°C.

Para a confirmação da reação de transcrição reversa, realizou-se PCR convencional utilizando o *kit Taq DNA polymerase recombinant (Invitrogen)*. As reações foram compostas por 2,5 µL de 10x *PCR reaction buffer*, 1,0 µL de $MgCl_2$ (50 mM), 0,5 µL de dNTP (10 mM), 0,5 µL do iniciador B2M *forward* (5' CTCTGCTCCTCCTGTTTCGAC 3') e 0,5 µL do *reverse* (5' ACGACCAAATCCGTTGACTC 3'), 0,5 µL de *Taq DNA polymerase recombinant* (5 U/µL) e 1,0 µL do cDNA, por fim, o volume da reação foi completado para 25 µL com água livre de nucleases (Ambion, Grand Island, NY, EUA). O programa utilizado consistiu de um primeiro passo por 5 minutos a 94°C, 34 ciclos de 1 minuto a 94°C, 1 minuto a 60°C e 1 minuto a 72°C e um passo final de 7 minutos a 72°C.

Os produtos da amplificação foram submetidos à eletroforese em gel de agarose a 2% (80V por 1 hora) e corados com *Gel Red*® 40x (Invitrogen). Foi possível observar no gel uma banda entre as faixas de 100 pb e 150 pb, correspondente ao tamanho do produto para os iniciadores do gene endógeno *B2M* testado; confirmando, assim, o sucesso da transcrição reversa. As amostras foram estocadas a -20°C.

Avaliação da expressão gênica por PCR quantitativa em tempo real (RT-qPCR)

A avaliação da expressão gênica foi realizada por meio de PCR quantitativa em tempo real (RT-qPCR), utilizando-se a metodologia *Prime Time*® *qPCR Assay*, que inclui *ZEN Double-Quencher Probes* e *primers* (IDT, Integrated DNA Technologies, Coralville, IA). Para tal, foi realizada a quantificação relativa (RQ, do inglês *Relative Quantification*), que permite determinar mudanças na expressão de genes de uma amostra em relação a uma amostra designada como calibrador.

As reações de RT-PCR foram preparadas de acordo com as seguintes proporções: 1,5 µL de água livre de RNase, 5 µL de *Taqman Universal PCR Master Mix 2X*, 1,0 µL de *10X PrimeTime Assay* (iniciadores/sonda) e 2,5 µL do cDNA proveniente da reação de transcrição reversa (diluído 1:4). O preparo e o armazenamento dos reagentes foram realizados de acordo com o protocolo do fabricante, com volume final da reação de 10 µL.

Os genes *GUSB* e *TBP* foram avaliados para a escolha do controle endógeno. O gene *TBP* foi escolhido como normalizador da expressão gênica, levou-se em consideração o gene que apresentou menor oscilação entre as amostras e por isso foi selecionado para as análises.

Os valores numéricos de *Ct* (*Cycle Threshold*), que indicam o número fracional de ciclos, em que as quantidades de alvos amplificados atingem um limiar fixo foram usados nos cálculos. O *Ct* é inversamente proporcional à quantidade de alvo amplificado na amostra. Todas as reações foram realizadas em triplicatas separadas para cada gene e a média das triplicatas foi calculada e subtraído o *Ct* do gene endógeno:

$$\Delta C_t = C_t (\text{gene}) - C_t (\text{endógeno}) \quad (1)$$

O ΔC_t foi subtraído da amostra escolhida como calibrador, resultando no $\Delta\Delta C_t$:

$$\Delta\Delta C_t = \Delta C_t - \Delta C_t (\text{calibrador}) \quad (2)$$

A quantidade de alvos normalizados para uma referência endógena em relação a um calibrador foi dada por:

$$RQ = 2^{-\Delta\Delta C_t} \quad (3)$$

Neste ensaio, as reações foram montadas em placas de 96 poços (*MicroAmp® Optical 96 Well Reaction Plate - Applied Biosystems*, Foster City, USA), com as amostras amplificadas para os diferentes genes ocupando o mesmo poço em todas as placas; diminuindo, assim, a variabilidade entre a posição das amostras. As placas foram devidamente seladas com o *MicroAmp® Optical Adhesive Covers (Applied Biosystems*, Foster City, USA) e centrifugadas a 100 x g, por 1 minuto e, então, colocadas no aparelho para amplificação e detecção, o *StepOne™ Real-Time PCR System (Applied Biosystems*, Foster City, USA), utilizando-se o seguinte programa: incubação (2 minutos a 50°C), ativação da polimerase (10 minutos a 95°C), seguido por 40 ciclos de desnaturação do cDNA (15 segundos a 95°C), anelamento dos iniciadores (1 minuto a 60°C), finalizando com o resfriamento (10 minutos a 4°C).

3.7 Análise estatística

Foi realizada análise descritiva dos dados gerais da amostra estudada. A comparação entre os diversos subgrupos de idosos, separados pela presença

ou ausência de síndrome demencial, desnutrição e dependência funcional, se deu por meio da análise não paramétrica de Mann-Whitney, que permite a comparação entre dois grupos independentes.

As comparações entre os três grupos foram realizadas por meio do teste de Kruskal-Wallis, teste não paramétrico que permite a análise de mais de dois grupos sem que haja suposições quanto à distribuição dos dados.

A fim de relacionar as medidas quantitativas, foi proposto o coeficiente de correlação de Spearman (ρ) para quantificar essa relação. Esse coeficiente varia entre os valores -1 e 1. O valor 0 (zero) significa que não há relação, o valor 1 aponta relação perfeita e o valor -1 também indica relação perfeita, mas inversa, ou seja, quando uma das variáveis aumenta a outra diminui. Quanto mais próximo estiver de 1 ou -1, mais forte é essa relação entre as duas variáveis.

O nível de significância considerado neste estudo foi de 5%.

4. RESULTADOS

4.1. Análise descritiva dos dados clínicos

Foram encontrados 41 idosos centenários na cidade de Ribeirão Preto-SP, Brasil. Desses, quatro se recusaram a participar do estudo, dois não tinham comprovação documental da idade e dois faleceram antes do início da coleta. Portanto, foram avaliados 33 centenários, que representaram 55,9% da população de idosos centenários estimados para a referida cidade, segundo dados do Censo de 2010. Encontrou-se média de idade de 101 anos e maior prevalência do sexo feminino, correspondendo a mais de 80% da amostra. A seguir será descrita a análise exploratória dos dados coletados.

A Tabela 1 mostra média, mediana, desvio-padrão e os quartis dos valores obtidos para as variáveis quantitativas: idade, números de comorbidades, medicações utilizadas, *scores* nos exames cognitivos MEEM, Fluência Verbal e Teste do Desenho do Relógio, medidas de CP, *scores* do SPPB (valor máximo:10) e pressões arteriais sistólicas (PAS) e diastólicas (PAD) (média das 3 medidas). Observou-se baixo número de comorbidades relatadas, assim como de medicamentos em uso: mediana de 4 em ambos os casos. Mais de 75% dos pacientes apresentaram circunferência de panturrilha abaixo de 31 cm (limite considerado normal). Percebemos ainda um baixo desempenho físico medido pelo *Short Physical Performance Battery* (SPPB).

Tabela 1: Descrição geral - Estudo dos centenários de Ribeirão Preto.

Variáveis	N	Média	DP	Mínimo	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Máximo
Idade	33	101	1,9	100	100	100	101	109
Nº Comorbidades	33	3,8	1,8	1	2	4	5	7
Nº Medicamentos	33	5,1	3,4	0	2	4	9	12
MEEM	32	13,0	9,5	0	5	13	22	28
Fluência Verbal	32	6,4	6,4	0	0	4,5	13	18
Teste Relógio	28	2,1	3,1	0	0	0	2,5	9
Circ. Panturrilha	29	29,0	2,5	25	27	29	30	34
SPPB Total	33	2,6	2,8	0	0	2	4	9
PAS	29	140,7	28,6	93,3	126,6	135,3	149,3	240
PAD	29	67,5	13,7	20,6	60	68	73,3	90

MEEM: Mini exame do Estado Mental; Circ. Panturrilha: Circunferência da Panturrilha; SPPB: *Short Physical Performance Battery*; PAS: Pressão arterial sistólica; PAD: Pressão arterial diastólica.

A Tabela 2 mostra média, mediana, desvio-padrão e os quartis dos valores obtidos para as variáveis quantitativas e divididas por sexo: peso, estatura, IMC, valores encontrados na BIA e força de preensão palmar. Observou-se baixa mediana para IMC, índice de massa magra (IMM) e força de preensão palmar (FPP) em ambos os sexos.

Tabela 2: Descrição geral - Estudo dos centenários de Ribeirão Preto - Divididos por sexo.

Peso								
Sexo	n	Média	Desvio Padrão	Mínimo	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Máximo
F	25	46,7	9,7	32,35	42	45	50,9	86
M	6	62,7	4,7	57,9	58,3	62,2	66,8	69
Estatura								
Sexo	n	Média	Desvio Padrão	Mínimo	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Máximo
F	25	148,1	6,0	133	144	148	152	160
M	6	161,8	4,6	156	157	162,5	165	168
IMC								
Sexo	n	Média	Desvio Padrão	Mínimo	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Máximo
F	25	21,4	4,97	16,21	18,75	19,7	23,11	41,4
M	6	24	1,87	22,3	22,5	23,4	25,3	27,1
BIA MMKg								
Sexo	n	Média	Desvio Padrão	Mínimo	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Máximo
F	21	26,7	5,9	12,8	23,8	26,5	29,4	41,2
M	5	38,8	3,89	33,5	36	40,5	41	42,9
IMM								
Sexo	n	Média	Desvio Padrão	Mínimo	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Máximo
F	21	12,1	2,7	7,2	10,3	11,6	13,4	19,9
M	5	14,9	1,61	12,9	14,6	14,8	15	17,4
MM%								
Sexo	n	Média	Desvio Padrão	Mínimo	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Máximo
F	20	57,4	8,7	39,6	51,15	56,7	62,05	76,2
M	5	63,0	3,6	57,5	62,2	63,7	64,2	67,5
MG Kg								
Sexo	n	Média	Desvio Padrão	Mínimo	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Máximo
F	21	20,2	6,9	10,7	17,7	20,2	21,4	44,8
M	5	22,7	2,1	19,5	21,9	23,4	23,9	24,8
MG%								
Sexo	n	Média	Desvio Padrão	Mínimo	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Máximo
F	21	42,9	8,6	23,8	40,5	43,6	48,7	60,4
M	5	37,0	3,6	32,5	35,8	36,3	37,8	42,5
ACT								
Sexo	n	Média	Desvio Padrão	Mínimo	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Máximo
F	21	21,6	3,8	11,3	20	21,3	23,4	30,7
M	5	28,0	2,5	24,9	25,9	28,9	29,3	30,9
FPP								
Sexo	n	Média	Desvio Padrão	Mínimo	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Máximo
F	19	10,5	4,4	3,3	7,3	9,3	15	17,3
M	6	15,3	8,7	0	10,6	18,6	20,6	23,6

F: Feminino; M: Masculino; IMC: Índice de massa corporal; BIA: Bioimpedância elétrica; IMM: Índice de massa Magra; MG: Massa gordurosa; ACT: Água corporal total, FPP: Força de preensão palmar.

A Tabela 3 mostra a frequência e os percentuais encontrados para as variáveis sexo, escolaridade, demência, desnutrição, funcionalidade (Katz e Lawton), CP, tabagismo, atividade física, audição, visão, quedas no último ano, fraturas, desempenho físico, internações no último ano, assistência à saúde, depressão, e autopercepção de saúde.

Observou-se, na amostra estudada, predominância do sexo feminino (81,2%), baixa escolaridade (78,8% com escolaridade até 4 anos) e ausência de síndrome demencial em 36,4%, mesmo número encontrado para independência para ABVDs. Do ponto de vista nutricional, 33,3% dos pacientes puderam ser classificados como desnutrição instalada, aplicando a MAN. Se somados a estes os pacientes em risco nutricional, este número aumentaria para 84,8%. Poucos pacientes apresentaram visão e audição preservadas, 16,7 e 9,4%, respectivamente. Apenas sete (21,2%) eram acamados, entretanto 15 (45,5%) não conseguiram ficar 10 segundos em posição ortostática com um pé ao lado do outro e 24 (72,7%) não foram capazes de levantar cinco vezes da cadeira sem utilizar os braços; e somente quatro (12,1%) apresentaram velocidade de marcha satisfatória (4 metros em até 6,2 segundos), baseada na SPPB.

Dos pacientes que souberam responder, 14 (58,3%) não relataram sintomas de depressão, por meio da aplicação da EDG, e os mesmos 14 apresentaram autopercepção de saúde satisfatória.

Tabela 3: Descrição geral - Estudo dos centenários de Ribeirão Preto - Dados clínicos.

Variáveis	Frequência	Percentual
<i>Sexo</i>		
F	27	81,8
M	6	18,2
<i>Escolaridade</i>		
Analfabeto	12	36,4
1 a 4 anos	14	42,4
5 a 8 anos	4	12,1
9 ou mais anos	3	9,1
<i>Demência</i>		
Sim	21	63,6
Não	12	36,4
<i>MAN-categórica</i>		
Desnutrido	10	33,3
Não desnutrido	20	66,7
<i>KATZ</i>		
Dependência Total	17	56,1
Dependência Parcial	4	12,1
Independência	12	36,4
<i>LAWTON - Adaptada</i>		
Dependência Total	21	63,6
Dependência Parcial	10	30,3
Independência	2	6,1
<i>Circ. Pant. Categ.</i>		
Normal	7	25
Anormal	21	75
<i>Tabagismo</i>		
Nunca	28	84,8
Prévio	4	12,1
Atual	1	3,0
<i>Visão</i>		
Boa	5	16,7
Ruim	25	83,3
<i>Audição</i>		
Boa	3	9,4
Ruim	29	90,6

continua

conclusão		
<i>Quedas em 1 ano</i>		
Sim	14	43,7
Não	18	56,3
<i>Fraturas?</i>		
Sim	2	7,4
Não	25	92,6
<i>Equilíbrio pés ao lado</i>		
Alterado	15	45,5
Normal	18	54,5
<i>Equilíbrio pé a frente</i>		
Alterado	16	48,5
Normal	17	51,5
<i>Tempo de marcha - 4 metros</i>		
Não conseguiu	14	42,42
>8,7s	11	33,33
6,21 a 8,70	4	12,12
4,82 a 6,2	3	9,09
<4,82	1	3,03
<i>Lev Cadeira 5x</i>		
Não conseguiu	24	72,7
>16,7	5	15,2
13,7a 16,69	0	0,0
11,2 a 13,69	3	9,1
<11,19	1	3,1
<i>Acamado</i>		
Sim	7	21,2
Não	26	78,8
<i>Internações em 1 ano</i>		
Sim	14	46,7
Não	16	53,3
<i>Plano de Saúde Privado</i>		
Não	8	26,7
Sim	22	73,3
<i>EDG alterado</i>		
Não	14	58,3
Sim	10	41,7
<i>Autopercepção de saúde</i>		
Boa	14	60,9
Ruim	9	39,1

F: Feminino; M: Masculino; MAN: Mini avaliação nutricional; EDG: Escala de depressão geriátrica.

4.2 Correlações entre parâmetros clínicos e laboratoriais

A Tabela 4 demonstra as análises de correlações estudadas entre parâmetros clínicos e laboratoriais de interesse nos voluntários centenários. Verificou-se que o desempenho físico dos idosos, medido pela SPPB, foi significativamente correlacionado, de maneira inversa, a: TNF, IL-6, PCR ultra sensível, α 1 GPA, VHS e Homocisteína, assim como, de maneira direta, à Albumina e ao HDL Colesterol. Resultado semelhante foi observado na avaliação de independência instrumental, por meio da Escala de Lawton, também correlacionada, de maneira inversa, à IL-6, PCR ultra sensível, VHS e Homocisteína. Neste caso, não foi detectada correlação entre Lawton e TNF ou α 1 GPA. As dosagens de vitaminas B12 e D não se correlacionaram a nenhuma das variáveis analisadas.

Tabela 4: Correlações entre parâmetros clínicos e laboratoriais dos centenários.

	IMC	IMM	SPPB	PAS	PAD	CP	AIVDs	
TNFα	0,01	0,05	-0,44	-0,08	-0,07	-0,13	-0,25	→ Spearman
	0,95	0,84	0,02	0,69	0,75	0,52	0,19	→ valor p
	28	23	30	26	26	26	30	→ n
IL-6	-	-0,09	-0,53	-0,21	-0,21	-0,28	-0,70	→ Spearman
	0,06	0,69	<0,01	0,29	0,30	0,17	<0,01	→ valor p
	0,78	23	30	26	26	26	30	→ n
Vit B12	-	-0,33	-0,03	-0,18	-0,13	-0,14	0,01	→ Spearman
	0,11	0,13	0,89	0,37	0,52	0,50	0,96	→ valor p
	0,58	23	30	26	26	26	30	→ n
25OH-VitD	0,30	0,19	0,05	-0,16	-0,17	0,15	0,17	→ Spearman
	0,13	0,39	0,80	0,43	0,42	0,47	0,40	→ valor p
	27	23	28	25	25	25	28	→ n
Albumina	0,22	0,23	0,40	0,24	0,33	0,32	0,44	→ Spearman
	0,23	0,27	0,02	0,23	0,08	0,10	0,01	→ valor p
	30	25	32	28	28	28	32	→ n
PCR	-	-0,04	-0,47	-0,15	0,02	-0,15	-0,53	→ Spearman
	0,05	0,88	<0,01	0,49	0,91	0,48	<0,01	→ valor p
	0,80	22	29	25	25	25	29	→ n
α1 GPA	0,27	0,38	-0,40	0,05	0,02	0,01	-0,16	→ Spearman
	0,17	0,07	0,03	0,79	0,93	0,96	0,39	→ valor p
	28	23	30	26	26	26	30	→ n
VHS 1ª	-	-0,55	-0,49	-0,23	-0,10	-0,54	-0,43	→ Spearman
	0,35	<0,01	<0,01	0,26	0,64	<0,01	0,02	→ valor p
	0,07	23	30	26	26	26	30	→ n
Insulina	0,14	0,27	0,24	0,35	0,04	0,24	0,13	→ Spearman
	0,51	0,25	0,22	0,10	0,86	0,27	0,52	→ valor p
	25	20	27	23	23	23	27	→ n
HOMA-IR	0,14	0,32	0,26	0,38	0,07	0,27	0,15	→ Spearman
	0,49	0,16	0,18	0,07	0,76	0,21	0,46	→ valor p
	25	20	27	23	23	23	27	→ n
Colesterol Tot	0,09	0,21	0,20	0,30	0,41	0,11	0,44	→ Spearman
	0,64	0,33	0,29	0,14	0,04	0,60	0,02	→ valor p
	28	23	30	26	26	26	30	→ n
HDL	-	0,18	0,43	0,13	0,31	0,09	0,30	→ Spearman
	0,04	0,42	0,02	0,52	0,13	0,67	0,10	→ valor p
	0,85	23	30	26	26	26	30	→ n
LDL	-	-0,09	0,24	0,32	0,39	-0,15	0,32	→ Spearman
	0,16	0,67	0,19	0,12	0,05	0,45	0,09	→ valor p
	0,42	23	30	26	26	26	30	→ n
Homocisteína	0,09	0,03	-0,61	-0,21	-0,02	-0,04	-0,43	→ Spearman
	0,66	0,89	<0,01	0,31	0,91	0,84	0,02	→ valor p
	28	23	30	26	26	26	30	→ n

TNF α : fator de necrose tumoral alfa, IL6: Interleucina 6, PCR: proteína C reativa, α 1 GPA: alfa 1 glicoproteína ácida, VHS 1ª: velocidade de hemossedimentação de 1ª hora, IMC: Índice de Massa Corporal, IMM: Índice de Massa Magra, SPPB: *Short Physical Performance Battery*, PAS: Pressão arterial Sistólica, PAD: Pressão Arterial Diastólica, CP: Circunferência de Panturrilha, AIVDs: Atividades Instrumentais de Vida Diária; HOMA-IR: *Homeostasis Model Assessment - Insulin Resistance*.

4.3 Comparação dos parâmetros laboratoriais e clínicos entre centenários demenciados e não-demenciados

A Tabela 5 detalha a comparação entre os grupos de idosos centenários sem demência, e, portanto, com características de envelhecimento mais bem sucedido, em relação aos que apresentavam síndrome demencial, por meio da análise de comparação não paramétrica de Mann-Whitney. As análises descritivas mostram o número de idosos alocados em cada grupo e com os parâmetros laboratoriais de comparação disponíveis, com médias, desvio-padrão, separação em quartis, medianas e valores p. Foi observada diferença significativa entre os grupos nos parâmetros IL-6 ($p<0,01$), Albumina ($p=0,03$), PCR ($p=0,03$), VHS ($p=0,02$) e Homocisteína ($p<0,01$), representando o menor estado inflamatório dos idosos cognitivamente preservados em relação aos demenciados. Em relação aos parâmetros clínicos, observou-se tendência de PAS superior no grupo não-demenciado (mínima de 127 mmHg, média de 144 mmHg e máxima de 183 mmHg) em relação ao grupo demenciado (mínima de 93 mmHg, média de 129 mmHg e máxima de 240 mmHg) com valor p de 0,05. Em relação à PAD não houve diferença significativa (Tabela 6).

Tabela 5: Comparações de testes laboratoriais entre demência e não demência (Teste de Mann-Whitney).

TNF									
DEMÊNCIA	Nº	Média	Desvio Padrão	Mínimo	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Máximo	p
SIM	18	10,53	6,49	5,7	8	9,5	11,2	35,4	0,20
NÃO	12	8	2,85	4	5,7	8,2	9,55	12,6	
IL-6									
DEMÊNCIA	Nº	Média	Desvio Padrão	Mínimo	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Máximo	p
SIM	18	10,99	24,61	2	3,2	4,6	7,7	109	<0,01
NÃO	12	3,03	2,4	2	2	2,15	2,7	10,5	
Vit B12									
DEMÊNCIA	Nº	Média	Desvio Padrão	Mínimo	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Máximo	p
SIM	18	429,56	269,6	150	216	410,5	582	1298	0,72
NÃO	12	433,33	165,61	150	341,5	390	532,5	755	
25OH-VitD									
DEMÊNCIA	Nº	Média	Desvio Padrão	Mínimo	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Máximo	p
SIM	18	14,19	8,94	4	6,92	12,35	17,7	34,1	0,85
NÃO	10	14,25	7,06	7,22	9	11,59	19,2	27,4	
Albumina									
DEMÊNCIA	Nº	Média	Desvio Padrão	Mínimo	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Máximo	p
SIM	20	3,73	0,4	3	3,45	3,8	4,1	4,3	0,03
NÃO	12	4,07	0,46	3,1	3,95	4,2	4,35	4,6	
PCR									
DEMÊNCIA	Nº	Média	Desvio Padrão	Mínimo	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Máximo	Valor p
SIM	17	11,25	15,44	0,5	2,18	5,4	11,8	63,6	0,03
NÃO	12	3,27	5,9	0,2	0,49	2,12	2,68	21,7	
α1 GPA									
DEMÊNCIA	Nº	Média	Desvio Padrão	Mínimo	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Máximo	p
SIM	18	103,09	31,91	52,6	79	99	121	165	0,69
NÃO	12	95,8	14,35	67	87,95	96,1	101,75	123	
VHS 1ª									
DEMÊNCIA	Nº	Média	Desvio Padrão	Mínimo	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Máximo	p
SIM	18	46,89	24,52	4	30	41	63	90	0,02
NÃO	12	23	16,66	1	6,5	22,5	37,5	50	
Homocisteína									
DEMÊNCIA	Nº	Média	Desvio Padrão	Mínimo	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Máximo	p
SIM	18	25,77	8,43	14,5	21,1	23,65	28,3	46,8	<0,01
NÃO	12	18,7	4,02	12	16,5	18,2	21,7	26,6	

TNF: Fator de necrose tumoral; IL-6: Interleucina-6; PCR: Proteína C reativa; α1 GPA; VHS 1ª: Velocidade de hemossedimentação de 1ª hora; HOMA-IR: Homeostasis Model Assessment - Insulin Resistance; HDL: High density lipoprotein; LDL: Low density lipoprotein.

Figura 4: *Box-plots* das variáveis Interleucina-6 (IL-6), Proteína C Reativa (PCR), Albumina e Homocisteína, cujas diferenças foram significativas entre os grupos de centenários demenciados e não-demenciados (Teste de Mann-Whitney).

Tabela 6: Comparações entre demência e não-demência (Teste de Mann-Whitney).

	Demenciados			Não-Demenciados			p
	Min	Med	Max	Min	Med	Max	
PAS (mmHg)	93	129	240	127	144	183	0.05
PAD (mmHg)	55	67	90	21	70	89	0.45
IMC (kg/m ²)	16.2	19.7	41.4	19.1	23.1	27.1	0.02
Col. Total (mg/dL)	95	163	222	133	178	211	0.46
HDL (mg/dL)	32	45	64	39	51	72	0.10
LDL (mg/dL)	44	101	142	70	98	128	1.00
TG (mg/dL)	39	109	189	66	96	156	0.47
Glicose (mg/dL)	62	78	142	71	90	116	0.20
Insulina (μUI/mL)	2.1	6.7	52.5	2.9	8.0	38.0	0.13
HOMA-IR	0.3	1.3	18.4	0.5	2.2	7.9	0.10
Homocisteína (mmol/L)	14.5	23.7	46.8	12.0	18.2	26.6	<0.01

PAS: pressão arterial sistólica; PAD: pressão arterial diastólica; IMC: índice de massa corporal; Col. Total: colesterol total; HDL: *high density lipoprotein*; LDL: *low density lipoprotein*; TG: triglicerídeos; HOMA-IR: *Homeostasis Model Assessment - Insulin Resistance*; Min: valor mínimo; Med: mediana; Max: valor máximo.

4.4 Comparação dos parâmetros laboratoriais entre centenários desnutridos e não desnutridos

A Tabela 7 detalha a comparação entre os grupos de idosos centenários com e sem desnutrição, por meio da análise não paramétrica de Mann-Whitney. As análises descritivas mostram o número de idosos alocados em cada grupo total e com os parâmetros laboratoriais de comparação disponíveis, com médias, desvios-padrão, separação em quartis, medianas e valores p. Foi encontrada diferença entre grupos nos parâmetros IL-6 (p=0,03), VHS (p=0,05), Insulinemia (p=0,04), Índice HOMA-IR (*Homeostasis model assessment - insulin resistance*) (p=0,03) e homocisteinemia (p=0,03). Observaram-se maiores valores de parâmetros inflamatórios nos desnutridos e maior valor da insulina sérica, hormônio anabólico, nos não-desnutridos.

Tabela 7: Comparações de testes laboratoriais entre desnutridos e não-desnutridos (Teste de Mann-Whitney).

TNF										
MAN	N Obs	n	Média	Desvio Padrão	Mínimo	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Máximo	Valor p
Desnutrido	10	7	9,61	1,5	6,9	8,6	9,7	11,2	11,2	
Não desnutrido	20	20	8,11	2,55	4	6,1	8,05	9,6	12,6	0,12
IL-6										
MAN	N Obs	n	Média	Desvio Padrão	Mínimo	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Máximo	Valor p
Desnutrido	10	7	7,07	3,89	2	3,4	9,4	10,4	10,5	
Não desnutrido	20	20	3,33	1,71	2	2	2,7	3,5	7,7	0,03
Vit B12										
MAN	N Obs	n	Média	Desvio Padrão	Mínimo	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Máximo	Valor p
Desnutrido	10	7	373,57	177,64	176	195	434	517	625	
Não desnutrido	20	20	438,8	257,26	150	307	376	517,5	1298	0,85
25OH-VitD										
MAN	N Obs	n	Média	Desvio Padrão	Mínimo	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Máximo	Valor p
Desnutrido	10	8	14,59	8,35	4	8,86	13,6	18,45	30,9	
Não desnutrido	20	18	14,52	8,45	4,43	8	12,05	20,6	34,1	0,96
Albumina										
MAN	N Obs	n	Média	Desvio Padrão	Mínimo	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Máximo	Valor p
Desnutrido	10	9	3,73	0,43	3	3,5	3,7	3,9	4,6	
Não desnutrido	20	20	3,97	0,41	3,1	3,7	4,1	4,25	4,5	0,12
PCR										
MAN	N Obs	n	Média	Desvio Padrão	Mínimo	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Máximo	Valor p
Desnutrido	10	7	14,72	22,27	0,96	2,41	4,73	17	63,6	
Não desnutrido	20	19	5,11	7,63	0,2	0,71	2,22	5,4	28,3	0,10
Alfa 1 GPA										
MAN	N Obs	n	Média	Desvio Padrão	Mínimo	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Máximo	Valor p
Desnutrido	10	7	105,14	32,73	58,9	90	98,4	118,4	165	
Não desnutrido	20	20	95,79	24,75	52,6	79,2	93,85	101,75	156	0,46
VHS 1ª										
MAN	N Obs	n	Média	Desvio Padrão	Mínimo	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Máximo	Valor p
Desnutrido	10	7	49,29	19,32	30	32	45	63	85	
Não desnutrido	20	20	30,7	21,47	1	13,5	30	41	90	0,05
Insulinemia										
MAN	N Obs	n	Média	Desvio Padrão	Mínimo	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Máximo	Valor p
Desnutrido	10	7	4,56	2,44	2,08	2,38	3,99	7,44	7,86	
Não desnutrido	20	17	13,21	14,24	2,91	5,34	7,48	11,65	52,5	0,04
HOMA-IR										
MAN	N Obs	n	Média	Desvio Padrão	Mínimo	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Máximo	Valor p
Desnutrido	10	7	0,88	0,53	0,32	0,42	0,73	1,39	1,71	
Não desnutrido	20	17	3,28	4,46	0,53	1,19	1,39	2,8	18,4	0,03
Colesterol Total										
MAN	N Obs	n	Média	Desvio Padrão	Mínimo	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Máximo	Valor p
Desnutrido	10	7	153,77	14,73	133,5	141	151,5	169,8	174,8	
Não desnutrido	20	20	172,34	33,76	94,9	148,8	182,85	194,2	222,2	0,10
HDL										
MAN	N Obs	n	Média	Desvio Padrão	Mínimo	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Máximo	Valor p
Desnutrido	10	7	45	5,6	37	39	46	50	52	
Não desnutrido	20	20	51,6	8,91	39	44	51	56	72	0,09
LDL										
MAN	N Obs	n	Média	Desvio Padrão	Mínimo	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Máximo	Valor p
Desnutrido	10	7	89,6	9,06	79,7	80,1	88,1	97,7	104	
Não desnutrido	20	20	104,08	23,72	43,9	90,5	110,45	119,6	141,5	0,09
Homocisteína										
MAN	N Obs	n	Média	Desvio Padrão	Mínimo	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Máximo	Valor p
Desnutrido	10	7	29,16	11,38	19,9	22,1	23,7	44,5	46,8	
Não desnutrido	20	20	20,26	5,11	12	17,8	18,85	23	32,7	0,03

MAN: Mini avaliação nutricional; TNF: Fator de necrose tumoral; IL-6: Interleucina-6; PCR: Proteína C reativa; $\alpha 1$ GPA; VHS 1ª: Velocidade de hemossedimentação de 1ª hora; HOMA-IR: Homeostasis Model Assessment - Insulin Resistance; HDL: High density lipoprotein; LDL: Low density lipoprotein.

Figura 5: *Box-plots* das variáveis Interleucina-6 (IL-6), Velocidade de Hemossedimentação (VHS), Insulinemia e Homocisteína, cujas diferenças foram significativas entre os grupos de centenários desnutridos e não-desnutridos (Teste de Mann-Whitney).

4.5 Comparação dos parâmetros laboratoriais entre centenários independentes e dependentes para atividades básicas de vida diária

A Tabela 8 detalha a comparação entre os grupos de idosos centenários com e sem dependência funcional para ABVDs pela análise não paramétrica de Mann-Whitney. As análises descritivas mostram o número de idosos alocados em cada grupo total com os parâmetros laboratoriais de comparação disponíveis, com médias, desvio-padrão, separação em quartis, mediana e valor p. Foi encontrada diferença significativa entre os grupos nos parâmetros IL-6 ($p < 0,01$), VHS ($p < 0,01$), Colesterol LDL ($P = 0,04$) e Homocisteína ($p = 0,03$), representando o menor estado inflamatório dos idosos funcionalmente preservados.

Tabela 8: Comparações de testes laboratoriais entre dependentes e independentes para Atividades Básicas de Vida Diária (Escala de Katz) - (Teste de Mann-Whitney).

IL-6										
KATZ	N Obs	n	Média	Desvio Padrão	Mínimo	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Máximo	Valor p
DEPENDENTE	21	18	11,19	24,6	2	2,7	4,7	9,4	109	<0,01
INDEPENDENTE	12	12	2,73	1,08	2	2	2,3	3,05	5,7	
Vit B12										
KATZ	N Obs	n	Média	Desvio Padrão	Mínimo	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Máximo	Valor p
DEPENDENTE	21	18	462,72	277,33	150	216	450,5	584	1298	0,44
INDEPENDENTE	12	12	383,58	129,61	150	333	356,5	418	672	
250H-Vit D										
KATZ	N Obs	n	Média	Desvio Padrão	Mínimo	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Máximo	Valor p
DEPENDENTE	21	18	14,98	8,9	4	7,22	13,65	19,2	34,1	0,54
INDEPENDENTE	12	10	12,83	6,92	6,2	8	9,74	14,9	26	
Albumina										
KATZ	N Obs	n	Média	Desvio Padrão	Mínimo	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Máximo	Valor p
DEPENDENTE	21	20	3,82	0,46	3	3,5	3,9	4,2	4,6	0,54
INDEPENDENTE	12	12	3,93	0,43	3,1	3,65	4,05	4,2	4,5	
PCR										
KATZ	N Obs	n	Média	Desvio Padrão	Mínimo	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Máximo	Valor p
DEPENDENTE	21	17	11,06	15,56	0,22	1,27	5,4	11,8	63,6	0,09
INDEPENDENTE	12	12	3,54	5,82	0,2	1,01	2,2	2,96	21,7	
Alfa 1 GPA										
KATZ	N Obs	n	Média	Desvio Padrão	Mínimo	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Máximo	Valor p
DEPENDENTE	21	18	104,73	29,8	58,9	79,4	99	121	165	0,42
INDEPENDENTE	12	12	93,33	18,89	52,6	84,95	96,1	101,75	123	
VHS 1ª										
KATZ	N Obs	n	Média	Desvio Padrão	Mínimo	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Máximo	Valor p
DEPENDENTE	21	18	47,72	24,41	4	32	43,5	63	90	0,01
INDEPENDENTE	12	12	21,75	14,77	1	6,5	22,5	32,5	45	
Insulina										
KATZ	N Obs	n	Média	Desvio Padrão	Mínimo	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Máximo	Valor p
DEPENDENTE	21	17	9,38	11,57	2,08	3,99	7,44	8,94	52,5	0,78
INDEPENDENTE	12	10	12,02	12,88	2,91	4,3	6,85	9,74	38,32	
HOMA-IR										
KATZ	N Obs	n	Média	Desvio Padrão	Mínimo	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Máximo	Valor p
DEPENDENTE	21	17	2,41	4,19	0,32	0,73	1,39	1,98	18,4	0,78
INDEPENDENTE	12	10	2,61	2,78	0,53	0,8	1,22	2,8	7,92	
Colesterol total										
KATZ	N Obs	n	Média	Desvio Padrão	Mínimo	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Máximo	Valor p
DEPENDENTE	21	18	160,18	28,48	109	141	153,85	177,3	222,2	0,08
INDEPENDENTE	12	12	177,27	31,35	94,9	167,15	185,65	196,9	210,5	
HDL										
KATZ	N Obs	n	Média	Desvio Padrão	Mínimo	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Máximo	Valor p
DEPENDENTE	21	18	46,89	7,61	32	43	46,5	52	64	0,21
INDEPENDENTE	12	12	51,83	10,13	39	44	51	56,5	72	
LDL										
KATZ	N Obs	n	Média	Desvio Padrão	Mínimo	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Máximo	Valor p
DEPENDENTE	21	18	93,19	24,42	43,9	78,9	90,3	114,1	141,5	0,04
INDEPENDENTE	12	12	110,31	14,59	86,6	97,7	111,9	122,8	129,6	
Homocisteinemia										
KATZ	N Obs	n	Média	Desvio Padrão	Mínimo	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Máximo	Valor p
DEPENDENTE	21	18	25,16	8,26	15	21,1	22,4	27,6	46,8	0,03
INDEPENDENTE	12	12	19,62	5,76	12	16,25	18,2	22,3	32,7	

IL-6: Interleucina-6; PCR: Proteína C reativa; α 1 GPA; VHS 1ª: Velocidade de hemossedimentação de 1ª hora; HOMA-IR: Homeostasis Model Assessment - Insulin Resistance; HDL: High density lipoprotein; LDL: Low density lipoprotein.

Figura 6: *Box-plots* das variáveis Interleucina-6 (IL-6), Velocidade de Hemossedimentação (VHS), *Low Density Lipoprotein* (LDL) Colesterol e Homocisteinemia, cujas diferenças foram significativas entre os grupos de centenários dependentes e independentes para Atividades Básicas de Vida Diária (ABVD) pela escala de KATZ (Teste de Mann-Whitney).

4.6 Análise genética

4.6.1 Avaliação da integridade das amostras de RNA

Inicialmente, avaliou-se a qualidade da integridade do RNA total extraído e purificado, sendo esse passo determinante para o sucesso do ensaio de RT-qPCR. As amostras de RNA total apresentaram níveis de pureza adequados após a quantificação com relação A260/A280, variando entre 1,8 - 2,0 e, com relação

A260/A230, variando entre 1,8 - 2,1. Posteriormente, a integridade dessas amostras foi analisada pela determinação dos valores de RIN. Foram consideradas amostras de boa integridade aquelas que apresentaram RIN >7. Neste estudo, as mostras de RNA apresentaram ótimo perfil de qualidade. (Figura 7).

2100 expert_Eukaryote Total RNA Nano_DE72905301_2013-08-07_10-33-48.xad

Page 2 of 18

Assay Class: Eukaryote Total RNA Nano

Data Path: C:\...Eukaryote Total RNA Nano_DE72905301_2013-08-07_10-33-48.xad

Created: 8/7/2013 10:33:49 AM

Modified: 8/7/2013 10:57:42 AM

Electrophoresis File Run Summary (Chip Summary)

Sample Name	Sample Comment	Status	Result Label	Result Color
C01		✓	RIN: 8.90	
C02		✓	RIN: 9.20	
C03		✓	RIN: 8.90	
C04		✓	RIN: 9.10	
C05		✓	RIN: 8.90	
C06		✓	RIN:9	
C07		✓	RIN: 8.80	
C08		✓	RIN: 8.70	
SC01		✓	RIN: 7.10	
SC02		✓	RIN: 8.50	
SC03		✓	RIN: 7.90	
SC04		✓	RIN: 7.80	

Chip Lot #

Reagent Kit Lot #

Figura 7: Densitometria da eletroforese microfluídica das amostras de RNA total. Como exemplo, amostras do RIN de oito centenários: C01 a C08.

4.6.2 Expressão gênica transcricional

Os níveis de expressão dos genes de *interesse IGF1, IGF2, IGF1R, APOE-4, FOXO1 e FOXO3* em linfócitos de sangue periférico dos idosos centenários foram analisados entre os grupos demência e não-demência - critérios DSM-IV; desnutridos e não-desnutridos, por meio da classificação baseada na MAN, e centenários independentes e dependentes para ABVDs, por meio da escala de KATZ. Em nenhum dos centenários estudados foi detectada expressão do gene *IGF2*. Os resultados também mostraram que não houve diferença significativa na expressão dos genes *IGF1R, IGF1, FOXO1, FOXO3, e APOE-4* na comparação

entre subgrupos demência e não-demência (Tabela 9), assim como entre os subgrupos desnutridos e não-desnutridos (Tabela 10) e entre os grupos dependente e independente para ABVDs (Tabela 11). Verificou-se apenas tendência de diferença na expressão do gene *IGF1* entre os grupos demência e não-demência ($p=0.07$).

Tabela 9: Comparações da expressão gênica entre os subgrupos demência e não-demência (Teste de Mann-Whitney).

IGF1R										
Demência	N Obs	n	Média	Desvio Padrão	Mínimo	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Máximo	Valor p
SIM	21	16	1,6	1,69	0,16	0,36	1,13	2,03	6,32	0,79
NÃO	12	11	1,52	1,23	0,1	0,54	1,27	1,79	3,95	
IGF1										
Demência	N Obs	n	Média	Desvio Padrão	Mínimo	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Máximo	Valor p
SIM	21	16	1,25	1,57	0,07	0,33	0,5	1,45	5,52	0,07
NÃO	12	10	2,54	2,34	0,22	0,78	1,92	4,2	7,73	
FOXO1										
Demência	N Obs	n	Média	Desvio Padrão	Mínimo	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Máximo	Valor p
SIM	21	16	2,3	4,13	0,04	0,53	0,73	2,28	17,12	0,54
NÃO	12	11	2,12	2,01	0,04	0,47	1,57	3,78	5,99	
APOE-4										
Demência	N Obs	n	Média	Desvio Padrão	Mínimo	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Máximo	Valor p
SIM	21	13	2,35	1,83	0,06	0,85	2,16	4,3	4,92	0,16
NÃO	12	10	1,17	1,05	0,1	0,48	0,98	1,34	3,72	
FOXO3										
Demência	N Obs	n	Média	Desvio Padrão	Mínimo	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Máximo	Valor p
SIM	21	15	1,76	1,46	0,05	0,47	1,1	2,65	4,9	0,84
NÃO	12	11	1,8	1,76	0,01	0,08	1,21	2,92	4,78	

Tabela 10: Comparação da expressão gênica entre desnutrido e não-desnutrido (Teste de Mann-Whitney).

IGF1R										
MAN	N Obs	n	Média	Desvio Padrão	Mínimo	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Máximo	Valor p
Desnutrido	10	9	1,68	1,96	0,16	0,43	1,02	2,33	6,32	0,72
Não desnutrido	20	16	1,58	1,32	0,1	0,74	1,22	1,77	4,46	
IGF										
MAN	N Obs	n	Média	Desvio Padrão	Mínimo	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Máximo	Valor p
Desnutrido	10	9	1,45	1,89	0,07	0,34	0,51	1,24	5,52	0,45
Não desnutrido	20	15	2,01	2,14	0,22	0,49	0,96	3,27	7,73	
FOXO1										
MAN	N Obs	n	Média	Desvio Padrão	Mínimo	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Máximo	Valor p
Desnutrido	10	9	1,54	1,44	0,04	0,53	1,28	1,71	4,22	0,49
Não desnutrido	20	16	2,84	4,19	0,04	0,61	1,39	3,24	17,12	
APOE-4										
MAN	N Obs	n	Média	Desvio Padrão	Mínimo	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Máximo	Valor p
Desnutrido	10	8	1,85	1,83	0,06	0,49	1,22	3,24	4,88	0,86
Não desnutrido	20	13	1,64	1,42	0,1	0,49	1,01	2,79	4,3	
FOXO3										
MAN	N Obs	n	Média	Desvio Padrão	Mínimo	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Máximo	Valor p
Desnutrido	10	8	1,12	0,9	0,01	0,45	1,03	1,66	2,65	0,42
Não desnutrido	20	16	1,8	1,61	0,04	0,25	1,33	2,87	4,78	

MAN: Mini avaliação nutricional; IGF1R: *Insulin-like growth factor 1 receptor*; IGF1: *Insulin Growth Factor-1*; FOXO1: *Forkhead transcription factor 1*; APOE-4: apolipoproteína E; FOXO3: *Forkhead transcription factor 3*.

Tabela 11: Comparação da expressão gênica entre os grupos dependente e independente para ABVDs (capacidade funcional Katz) (Teste de Mann-Whitney).

IGF1R										
KATZ	N Obs	n	Média	Desvio Padrão	Mínimo	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Máximo	Valor p
DEPENDENTE	21	17	1,75	1,72	0,16	0,43	1,16	2,33	6,32	0,71
INDEPENDENTE	12	10	1,26	1	0,1	0,54	1,08	1,64	3,62	
IGF1										
KATZ	N Obs	n	Média	Desvio Padrão	Mínimo	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Máximo	Valor p
DEPENDENTE	21	16	1,33	1,66	0,07	0,33	0,5	1,57	5,52	0,12
INDEPENDENTE	12	10	2,42	2,31	0,22	0,78	1,82	3,27	7,73	
FOXO1										
KATZ	N Obs	n	Média	Desvio Padrão	Mínimo	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Máximo	Valor p
DEPENDENTE	21	17	2,28	4	0,04	0,53	0,79	2,12	17,12	075
INDEPENDENTE	12	10	2,13	2,12	0,04	0,47	1,39	3,78	5,99	
APOE-4										
KATZ	N Obs	n	Média	Desvio Padrão	Mínimo	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Máximo	Valor p
DEPENDENTE	21	14	2,03	1,71	0,06	0,85	1,22	3,23	4,92	0,44
INDEPENDENTE	12	9	1,53	1,52	0,1	0,48	0,94	1,99	4,3	
FOXO3										
KATZ	N Obs	n	Média	Desvio Padrão	Mínimo	1º Quartil	Mediana	3º Quartil	Máximo	Valor p
DEPENDENTE	21	16	1,75	1,52	0,01	0,45	1,27	2,78	4,9	0,99
INDEPENDENTE	12	10	1,82	1,71	0,04	0,32	1,14	2,82	4,78	

IGF1R: Insulin-like growth factor 1 receptor; IGF1: Insulin Growth Factor-1; FOXO1: Forkhead transcription factor 1; APOE-4: apolipoproteína E; FOXO3: Forkhead transcription factor 3.

5. DISCUSSÃO

Na população centenária estudada, que representa 55,9% da população de centenários de uma cidade brasileira de médio porte, observou-se predominância do sexo feminino (81,2%), baixa escolaridade (78,8% com escolaridade até 4 anos) e ausência de síndrome demencial em 36,4%; o mesmo número encontrado para independência para ABVDs, dado que foi semelhante ao relatado no estudo dos centenários da Georgia - USA (DAVEY et al., 2010; HAZRA et al., 2015). Em Ribeirão Preto-SP, apenas dois dos seis homens centenários avaliados preencheram critérios para síndrome demencial; já com as mulheres foram encontrados critérios em 19 das 27 centenárias avaliadas, corroborando com achados de estudos com centenários japoneses e suecos que mostraram variação na prevalência de demência entre 40 e 63%, com predominância também entre as mulheres (HAGBERG et al., 2001).

A separação entre demenciados e não-demenciados foi bem estabelecida pela diferença de pontuação entre os testes utilizados (MEEM, Fluência Verbal e Teste do Desenho do Relógio), que conferem boa sensibilidade e especificidade, quando aplicados em conjunto. O grupo sem demência apresentava escolaridade mais alta do que o grupo com demência, apesar da baixa escolaridade, em geral. Já foi amplamente estudada a associação de menor escolaridade com demência (XU et al., 2015).

Não foi determinado o tipo de demência entre os idosos com síndrome demencial, pois não foi realizada imagem cerebral, que exigiria deslocamento dos mesmos do domicílio para centros de atenção secundária ou terciária. No entanto, algumas causas, potencialmente reversíveis, foram pesquisadas, identificando-se dois casos de hipotireoidismo (TSH acima de 10 mUI/ml), dois com hipertireoidismo (TSH abaixo de 0,25 mUI/ml), cinco com vitamina B12 baixa (abaixo de 211 pg/ml) e três com ácido fólico reduzido (abaixo de 5,38ng/ml). Todos os achados poderiam estar envolvidos com perdas cognitivas.

Do ponto de vista nutricional, 33,3% dos pacientes puderam ser classificados como desnutrição instalada com a aplicação da MAN. Se fossem somados a estes os pacientes em risco nutricional, esse número aumentaria para 84,8%. Em estudo brasileiro com mais de 10.000 idosos avaliados, a prevalência média de desnutrição pela MAN foi de 1% em pessoas idosas na comunidade

saudável, 4% nos pacientes que recebem cuidados em casa, 5% nos com Doença de Alzheimer, que vivem em casa, 20% em pacientes hospitalizados e 37% em idosos institucionalizados (GUIGOZ; LAUQUE; VELLAS, 2002). Em relação aos dados desta pesquisa, notou-se número de centenários desnutridos semelhante ao de idosos institucionalizados.

Estudo de coorte que reuniu mais de 800 idosos com média de idade de 81 anos e com seguimento a longo prazo revelou que o sobrepeso é um fator protetor em idosos com 70 anos ou mais. Esses idosos com sobrepeso apresentaram mortalidade 20% menor em relação ao grupo controle com IMC entre 20 e 25 Kg/m² (HR 0,80; IC95% 0,67-0,95) (DAHL et al., 2013)

A organização Pan-Americana de Saúde (OPAS) recomenda a seguinte classificação de IMC (Kg/m²) para a população idosa: ≤ 23 , baixo peso; IMC entre 23 e 28, eutrófico; IMC entre 28 e 30, sobrepeso e IMC ≥ 30 , obesidade. Foi encontrada baixa mediana para IMC: 20,4 Kg/m². Aproximadamente 75% dos idosos centenários apresentaram IMC abaixo de 23, sendo classificados como baixo peso. Winter et al. (2014) publicaram uma metanálise de 32 estudos entre 1990 e 2013, que incluíram 197.940 idosos com média de 12 anos de seguimento. Utilizando-se a faixa de IMC (Kg/m²) entre 23,0 a 23,9 como referência, houve aumento de 12% no risco de morte para idosos com IMC na faixa entre 21,0 a 21,9 e de 19% para idosos com IMC na faixa entre 20,0 a 20,9.

A sarcopenia é definida pelo "European Working Group on Sarcopenia in Older People" (EWGSOP) como uma síndrome caracterizada por uma progressiva e generalizada perda de massa e força muscular aumentando o risco de eventos adversos como incapacidade física, piora da qualidade de vida e morte. O EWGSOP recomenda a presença da baixa massa muscular associada à diminuição da função muscular (força ou performance) (CRUZ-JENTOFT et al, 2010). A prevalência de sarcopenia em idosos acima de 80 anos varia de 11 a 50% (Morley, 2008). No presente estudo, todos os idosos centenários (homens e mulheres) apresentaram índice de massa muscular (IMM), estimados à partir da BIA, abaixo do limite da normalidade: 6,76 Kg/m² para mulheres e 10,76 Kg/m² para homens. Estes valores devem ser analisados com cuidado porque são de referência à partir da análise dos dados do NHANES III para idosos americanos

acima de 60 anos. Entretanto, os centenários apresentaram baixa performance na avaliação de força pelo *hand-grip* e apenas cinco (15,2%) desempenho físico satisfatório pela SPPB, demonstrando a associação entre IMM (avaliada pela BIA) e função, no presente estudo. Deve-se levar em conta, ainda, que as medidas de MM e MG em idosos, pela BIA, podem ser afetadas pelo estado nutricional. Vilaça et al. (2011) demonstraram que em indivíduos desnutridos a correlação das medidas da BIA com as obtidas pela DEXA (Absortometria radiológica de Raio X de dupla energia) é pior do que em indivíduos saudáveis. Há tendência da BIA superestimar a MM e subestimar a MG em idosos desnutridos.

Com relação à presença de fragilidade, 32 (96,7%) dos centenários preencheram esse critério, com base na avaliação de cinco parâmetros, descritos por Fried et al. (2001), que caracterizam os fenótipos da síndrome: 1) Perda de peso não intencional ($\geq 4,5$ kg ou $\geq 5\%$ do peso corporal do ano anterior); 2) Exaustão avaliada por autorrelato de fadiga, indicado por duas questões da CES-D; 3) Diminuição da força de preensão, medida com dinamômetro na mão dominante e ajustada ao sexo e ao IMC; 4) Baixo nível de atividade física, medido pelo dispêndio semanal de energia em quilocalorias, ajustado segundo o sexo (com base no autorrelato das atividades e exercícios físicos realizados, avaliados pelo Minnesota Leisure Time Activities Questionnaire); 5) Lentidão, medida pela velocidade da marcha indicada em segundos (distância de 4,6 m, ajustada segundo sexo e altura). Pessoas com três ou mais dessas características seriam classificadas como frágeis e as com uma ou duas características como pré-frágeis.

Este estudo confirma que conter as perdas de peso, função e massa muscular associadas ao envelhecimento é, sem dúvida, um dos grandes desafios do século para saúde e qualidade de vida dos muito idosos do nosso país.

Poucos pacientes apresentaram visão e audição preservadas, 16,7 e 9,4%, respectivamente. Estudo chinês com 74 centenários da cidade de Shaoxin, submetidos à audiometria, encontrou em todos os pacientes diferentes graus de perda auditiva, sendo que mais de 90% sofriam de perda moderada a grave, corroborando com o fenômeno quase que inexorável da presbiacusia (DUPRE; LIU; GU, 2008).

Foi observado baixo número de comorbidades relatadas, assim como o de medicamentos em uso: mediana de 4 em ambos os casos. Do ponto de vista cardiovascular, 23 (69,7%) relataram ser hipertensos ou usar medicações para hipertensão arterial, seis (18,2%) para dislipidemia e apenas três (9,1%) para diabetes.

A maior pressão arterial na idade avançada ainda não foi definida como fator de risco ou fator protetor para a cognição. Encontrou-se menor pontuação do MEEM em pacientes com demência e hipertensão associadas em relação aos indivíduos com demência e pressão arterial normal (BARNE; YAFFE, 2011). Por outro lado, a PAD abaixo de 70 mmHg foi relacionada com maior risco de demência (QIU; WINBLAD; FRATIGLIONI, 2005).

Poortvliet et al. (2013) evidenciaram que pressão arterial mais baixa estava associada a maior risco de mortalidade em idosos com mais de 85 anos. Portanto, não está definido o benefício de se reduzir a pressão arterial em muito idosos com foco na prevenção de quadros demenciais. Os valores da PAD não diferiram entre os grupos no presente estudo, mas a PAS apresentou tendência a valores mais elevados no grupo com cognição preservada, o que poderia ser um fator protetor para a perfusão cerebral em muito idosos, portadores de artérias mais enrijecidas.

Entre os pacientes com demência, maior dislipidemia foi associada com menor pontuação no MEEM (LOBANOVA; QURESHI, 2014). O colesterol elevado foi relacionado a maior número de sintomas neuropsiquiátricos em pacientes com Doença de Alzheimer, principalmente nos homens, utilizando-se o corte de 200 mg/dL (HALL et al., 2013). Outro estudo relatou que o colesterol elevado era importante fator para predizer a progressão da Doença de Alzheimer (SAMTANI et al., 2012). No presente estudo, não foram encontradas diferenças entre os lipídeos nos grupos demenciados e não-demenciados.

Apesar de três pacientes referirem ser diabéticos, nenhum deles apresentou critérios diagnósticos para diabetes mellitus ou resistência insulínica, demonstrando serem condições de mal prognóstico para adultos portadores dessas patologias. Considerando que a maioria dos centenários apresenta baixo peso ou IMC dentro da faixa de normalidade, não surpreende que a mediana dos valores do HOMA-IR fosse normal nos dois grupos. Não foram observadas

diferenças entre a resistência à insulina dos demenciados e não-demenciados. Estudos anteriores, em idosos não centenários, mostraram associação entre resistência à insulina e demência (DE LA MONTE, 2009; KIM; FELDMAN, 2015).

Elevados níveis de Homocisteína são neurotóxicos e foram relacionados com menor espessura da substância cinzenta, quando avaliados indivíduos com Doença de Alzheimer, comprometimento cognitivo leve e saudáveis (MADSEN et al., 2015). A Homocisteína elevada também é associada com pior saúde cardiovascular (PERRY et al., 1995), que, por sua vez, é relacionada com maior atrofia cerebral nas regiões temporal e frontal (OULHAJ et al., 2010). Foram observados valores de Homocisteína mais elevados no grupo com demência, mas os dois grupos apresentaram valores altos, possivelmente por efeito do próprio envelhecimento.

O envelhecimento, por si só, é acompanhado de desregulação das citocinas, com aumento das pró-inflamatórias e redução das anti-inflamatórias, causando estado mantido de inflamação de baixa intensidade (MICHAUD et al., 2013). Na população idosa, elevados níveis de PCR de alta sensibilidade, TNF- α e IL-6, são fatores independentes para maior risco de eventos cardiovasculares e cerebrovasculares (CESARI et al., 2003; HARRIS et al., 1999; TRACY et al., 1997; VASAN et al., 2003; VOLPATO et al., 2001).

Avaliando sete estudos combinados, com 5.717 participantes e 746 casos de demência desencadeada por todas as causas, o nível aumentado de PCR de alta sensibilidade foi associado com risco 45% maior de demência e a IL-6 elevada aumentou o risco em 32% (KOYAMA et al., 2013). Neste estudo, a IL-6 e a PCR estavam mais elevadas nos demenciados e a mediana foi normal nos idosos com cognição preservada. Alguns autores encontraram aumento da citocina inflamatória IL-6 nos estágios terminais do envelhecimento, correlacionando-a com a síndrome da fragilidade (ERSHLER; KELLER, 2000; LENG et al., 2002).

O estudo *The Northern Manhattan Study* (ECONOMOS et al., 2013) mostrou níveis elevados de IL-6 associados com declínio cognitivo nos idosos de diferentes etnias. O *The Sidney Study* (TROLLOR et al., 2012) encontrou marcadores inflamatórios relacionados a déficit cognitivo em idosos da

comunidade, independentemente de depressão, fatores de risco cardiovasculares e metabólicos, ou genótipo *APOE-4*. Comparando idosos com e sem Doença de Alzheimer, verificou-se, em septuagenários, que os níveis de IL-6 eram mais elevados nos primeiros (MAES et al., 1999). Avaliando indivíduos com Doença de Alzheimer leve a moderada, alguns autores encontraram valores de IL-6 e TNF α mais elevados do que em saudáveis (ALVAREZ et al., 1996; BRUUNSGAARD et al., 1999), mas outros estudos não relataram essa relação (ANGELIS et al., 1998; RAVAGLIA et al., 2007).

Valores elevados de TNF α foram observados no líquido de pacientes com Doença de Alzheimer (TARKOWSKI et al., 2003). TNF α elevado também foi encontrado no plasma de indivíduos com doença de Alzheimer, em comparação com os controles (BERMEJO et al., 2008). No entanto, não foram observadas diferenças entre os centenários com e sem demência quanto ao TNF α .

A albumina sofre redução com o envelhecimento e também foi menor ao se compararem idosos com Doença de Alzheimer e não-demenciados (MAES et al., 1999). Foram observados resultados semelhantes nos centenários e também maior VHS nos indivíduos com síndrome demencial.

Os centenários sem demência apresentavam maior escolaridade, considerada um fator protetor. Entre os marcadores de risco cardiovascular, notou-se tendência à maior PAS entre os indivíduos com cognição preservada, além de baixo peso e Homocisteína mais elevada nos centenários com demência.

Verificou-se maior estado inflamatório entre os idosos demenciados, com maiores níveis de IL-6, PCR alta sensibilidade e VHS. Portanto, mesmo em centenários, maior inflamação pode estar relacionada com pior cognição, o que também tem sido encontrado em idosos mais jovens.

Diversos estudos como o *Longevity Gene Study* (BARZILAI et al., 2001), *Leiden Longevity Study* (LLS) (MOOIJAART et al., 2011), *New England Centenarian Study* (NECS) (TERRY et al., 2004) e o *Long Life Family Study* (LLFS) (NEWMAN; MURABITO, 2013) compararam os filhos de indivíduos longevos aos filhos de não longevos. Esses estudos observaram que os filhos de longevos possuem perfil lipídico mais favorável (BARZILAI et al., 2001; NEWMAN; MURABITO, 2013), menor prevalência de hipertensão arterial, doenças

metabólicas e cardiovasculares (NEWMAN; MURABITO, 2013; WESTENDORP et al., 2009), mortalidade por todas as causas e também por causas específicas, como câncer e doença arterial coronariana (TERRY et al., 2004), em relação aos controles.

Estudo de base populacional, realizado na Dinamarca com 207 centenários, que eram visitados em domicílio e, assim como neste estudo, entrevistados e examinados, relatou taxa de 72% de doenças cardiovasculares, 52% de hipertensão arterial e 51% de demência (ANDERSEN-RANBERG; SCHROLL; JEUNE, 2001).

Almeida, O. P. e Almeida, S. A. (1999b) demonstraram que as versões brasileiras da EDG-15 e EDG-10 oferecem medidas válidas para o diagnóstico de episódio depressivo maior, de acordo com os critérios da CID-10 (Classificação Internacional de Doenças) e DSM-IV. O ponto de corte 5/6 (não caso/caso) para a EDG-15 produziu índices de sensibilidade de 85,4% e especificidade de 73,9% para o diagnóstico de episódio depressivo maior, de acordo com a CID-10. (JANCA et al., 1993). No presente estudo, dos 24 centenários que responderam o questionário, 14 deles (58,3%) apresentaram valor <5 na escala de 15 pontos, considerado normal. De forma interessante, os mesmos 14 idosos relataram autopercepção de saúde boa, o que leva a refletir sobre a importância do humor na maneira do muito idoso se ver em relação à própria saúde. Dados semelhantes foram encontrados nos estudos dos centenários chineses, em que 67,3% dos do sexo masculino e 63,2% do feminino mostraram-se satisfeitos com a vida presente, declinando ligeiramente com o avançar da idade. Pessoas longevas, como os centenários, foram mais propensas a considerarem suas vidas como satisfatórias, apesar de sua limitada capacidade física e funcional.

Diversos estudos correlacionam os níveis de vitamina D com performance física, como o estudo InChianti, coorte que acompanhou 976 idosos italianos acima de 65 anos e encontrou associação positiva entre os níveis de vitamina D e desempenho físico medido pela SPPB e força de preensão manual, mesmo quando ajustados para variáveis sócio-demográficas, atividade física, IMC, ingestão energética, alterações cognitivas, níveis de hemoglobina, creatinina e albumina (HOUSTON et al., 2007). Entretanto, no presente estudo, as dosagens

de vitamina D não se correlacionaram a nenhuma das variáveis analisadas, levantando dúvidas sobre a sua real importância no desempenho físico e na funcionalidade dos muito idosos da nossa comunidade. Este estudo demonstrou, ainda, que o desempenho físico dos centenários, medido pela SPPB, está significativamente correlacionado, de maneira inversa, à TNF, IL-6, PCR ultra sensível, $\alpha 1$ GPA, VHS e Homocisteína, assim como, de maneira direta, à Albumina e ao HDL Colesterol. Resultado semelhante foi encontrado na avaliação de independência instrumental, por meio da Escala de Lawton, também correlacionada, de maneira inversa, à IL-6, PCR ultra sensível, VHS e Homocisteína.

Diversos grupos de pesquisadores têm concentrado suas pesquisas em longevidade, ou mais especificamente, nos centenários. Os termos longevidade saudável e longevidade excepcional são frequentemente utilizados para enfatizar a importância de ser ter uma vida longa e saudável (YI; GU; LAND, 2007). Outro termo muito empregado e que gera controvérsia é o chamado envelhecimento bem sucedido, cuja definição mais usada é a de Rowe e Kahn (2015), centrada no *status* físico, cognitivo e funcional. Existem diversas críticas e ponderações em relação a essa denominação e aos seus critérios. Considerar o envelhecimento bem ou mal sucedido, apenas por essas variáveis, pode esconder armadilhas na caracterização do nível de bem estar e qualidade de vida dos idosos.

Perls (2006) descreveu no *New England Centenarian Study* que os centenários daquela região eram saudáveis e independentes na maior parte de suas vidas, embora não fossem na idade avaliada. Por isso, alguns autores chamam a atenção para o preço atual da longevidade. Atingir os limites da idade humana traria riscos para a dignidade do ser.

No estudo dos centenários de Ribeirão Preto-SP, apenas sete (21,2%) pacientes eram acamados, entretanto 15 (45,5%) não conseguiram ficar 10 segundos em posição ortostática com um pé ao lado do outro e 24 (72,7%) não foram capazes de levantar cinco vezes da cadeira sem utilizar os braços. Apenas quatro (12,1%) apresentaram velocidade de marcha satisfatória (4 metros em até 6,2 segundos), baseada na SPPB. Esses dados levam à conclusão de que o envelhecimento ativo ainda não é uma realidade nos centenários desta

comunidade. Entretanto, estudo dos centenários da Georgia-USA, indica que metade deles poderia ser classificada como tendo envelhecimento bem sucedido, caso a definição de saúde subjetiva, percepção de felicidade e melhor situação econômica percebida fosse utilizada nesse conceito. De forma interessante, nenhum deles seria assim classificado se fossem aplicados os critérios de Rowe e Kahn (2015), mais centrados no *status* físico, cognitivo e funcional.

Estudo com centenários alemães mostrou que cerca de 25% deles foram classificados como independentes, enquanto 20% dos centenários de Tokyo apresentavam envelhecimento bem sucedido, definido como não ser dependente e não demonstrar comprometimento cognitivo ou sensorial importantes. Os outros 80% foram divididos em *frail* (55%) e *fragile* (25%) (GONDO et al., 2006). No presente estudo, foram identificados nove pacientes (27,2%) sem demência e independentes para ABVDs, dados semelhantes aos observados nos centenários de Tokyo.

Diversos estudos epidemiológicos com centenários, ao redor do mundo, utilizam dados a partir do autorrelato, ao invés do exame clínico objetivo, levando a interpretações equivocadas sobre a real prevalência das diversas doenças. Por isso vale destacar a importância da realização objetiva da avaliação AGA, aplicada em todos os centenários desta pesquisa.

Apesar do estudo dos centenários ser um modelo para a análise dos determinantes da longevidade em humanos, existem algumas limitações em se usar essa abordagem, que merecem ser destacadas:

1. A baixa prevalência desse perfil de paciente, com média de um centenário para cada 10 mil habitantes no Brasil.
2. A alta prevalência da síndrome da fragilidade, como demonstrado neste estudo (97%), pelos critérios sugeridos por Fried et al. (2001).
3. A ausência de grupos controles bem definidos.

A maior parte dos estudos com genes humanos, associados à longevidade e ao envelhecimento, foram desenvolvidos sob delineamento transversal, comparando as frequências dos potenciais *loci* gênicos entre indivíduos muito idosos e controles jovens.

Os estudos de genes candidatos têm apontado papel importante para os grupos de genes envolvidos nas vias de sinalização do *GH* / insulina / *IGF-1*, regulação imune e metabolismo de lipoproteínas, embora a maioria desses resultados não tenham sido confirmados e replicados em pesquisas independentes (DEELEN et al., 2013).

Os *loci* mais convincentes para a associação com longevidade humana são *APOE-4* e *FOXO3a*, que foram confirmados em estudos prospectivos de sobrevivência (CRIMMINS; FINCH, 2012; SOERENSEN et al., 2010; ZENG et al., 2010). O primeiro codifica a *APOE-4*, que desempenha importante papel no metabolismo das lipoproteínas, função cognitiva e regulação imune, enquanto que o segundo codifica a proteína *forkhead box O3*, um fator de transcrição que atua em diversos genes envolvidos na resposta ao *stress* oxidativo e apoptose (MAHLEY; RALL Jr., 2000; van der HORST; BURGERING, 2007).

Embora a *APOE-4* seja considerada um fator de risco para Doença de Alzheimer e declínio cognitivo relacionados à idade, alguns estudos não conseguiram confirmar essa associação em idosos acima de 85 anos (JUVA et al., 2000; SALO et al., 2001), corroborando os achados do presente estudo. Entretanto, o estudo dos centenários da Geórgia-USA indicou que, entre os caucasianos, os portadores do alelo $\epsilon 4$ da *APOE-4* apresentaram desempenho pior em testes cognitivos e funcionais em relação aos não carreadores. Esse resultado não se confirmou nos centenários afro-descendentes (WOODARD et al., 2009).

No presente estudo não foram encontradas diferenças na análise da expressão gênica transcricional dos genes associados a essas duas importantes vias nos linfócitos de idosos longevos. Foram comparados aqueles idosos caracterizados por envelhecimento bem sucedido em relação aos mais comprometidos, do ponto de vista cognitivo, funcional e nutricional. Verificou-se apenas tendência de diferença na expressão do gene *IGF1* entre os grupos demência e não-demência ($p=0.07$). Estes resultados podem ser explicados pela amostra pequena de cada grupo, mas também levantam dúvidas sobre o real impacto dessas duas importantes vias nas diferentes formas de envelhecimento

dos muito idosos no Brasil. Elas podem estar envolvidas no tempo de vida dos longevos, mas não na maneira como eles chegam até as idades extremas.

Indiscutivelmente, vivemos mais e melhor que nossos antepassados, mas estudos adicionais serão essenciais para o fornecimento de dados e informações que contribuirão para a implementação de medidas, tais como a promoção do envelhecimento ativo e bem sucedido, garantindo ainda mais independência, autonomia e qualidade de vida aos muito idosos.

6. CONCLUSÕES

- 1- Foram avaliados 33 centenários, que representaram 55,9% dessa população, existente na cidade de Ribeirão Preto-SP, Brasil, sendo 12 deles (36%) com cognição preservada e independentes para ABVDs.
- 2- Do ponto de vista nutricional, 33,3% dos centenários puderam ser classificados como portadores de desnutrição instalada com a aplicação da MAN. Se somados a estes, os pacientes em risco nutricional, o número aumentaria para 84,8%.
- 3- Todos os idosos centenários (homens e mulheres) apresentaram IMM, estimado à partir da BIA, abaixo da normalidade, e apenas 15,2% demonstraram desempenho físico satisfatório pela SPPB.
- 4- Poucos pacientes apresentaram visão e audição preservadas, 16,7 e 9,4%, respectivamente.
- 5- O desempenho físico dos idosos, medido pela SPPB, foi significativamente correlacionado, de maneira inversa, a: TNF, IL-6, PCR ultra sensível, $\alpha 1$ GPA, VHS e Homocisteína; assim como, de maneira direta, à Albumina e ao HDL Colesterol.
- 6- Foram evidenciadas elevadas taxas de deficiência de vitamina D e aumento de Homocisteína nos centenários.
- 7- Foram encontradas diferenças significativas entre os grupos demenciados e não-demenciados nos parâmetros IL-6, Albumina, PCR, VHS e Homocisteína, representando o menor estado inflamatório dos idosos cognitivamente preservados.
- 8- Observaram-se maiores valores dos parâmetros inflamatórios IL-6 e VHS nos desnutridos e maior valor de insulina sérica, hormônio anabólico, nos não-desnutridos.

9- Os resultados da análise molecular mostraram que não houve diferença significativa na expressão dos genes *IGF1R*, *IGF1*, *IGF2*, *FOXO1*, *FOXO3* e *APOE-4* na comparação entre os grupos demência e não-demência, entre os grupos dependente e independente para ABVDs e entre os grupos desnutridos e não-desnutridos. Houve apenas tendência de expressão diferencial do gene *IGF1* na comparação entre os grupos demência e não-demência ($p=0.07$).

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, O. P.; ALMEIDA, S. A. Reliability of the Brazilian version of the ++abbreviated form of Geriatric Depression Scale (GDS) short form]. **Arquivos de Neuropsiquiatr**, v. 57, n. 2B, p. 421-426, Jun 1999a.

_____. Short versions of the geriatric depression scale: a study of their validity for the diagnosis of a major depressive episode according to ICD-10 and DSM-IV. **International Journal of Geriatric Psychiatry**, v. 14, n. 10, p. 858-865, Oct 1999b.

ALVAREZ, X. A. et al. Blood levels of histamine, IL-1 beta, and TNF-alpha in patients with mild to moderate Alzheimer disease. **Molecular and Chemical Neuropathology**, v. 29, n. 2-3, 237-252, Oct-Dec 1996.

ANDERSEN-RANBERG, K.; SCHROLL, M.; JEUNE, B. Healthy centenarians do not exist, but autonomous centenarians do: a population-based study of morbidity among Danish centenarians. **Journal of American Geriatrics Society**, v. 49, n. 7, p. 900-908, Jul 2001.

ANGELIS, P. et al. Serum interleukin-6 and interleukin-6 soluble receptor in Alzheimer's disease. **Neuroscience Letters**, v. 244,n. 2, p. 106-108, Mar 1998.

BARNES, D. E.; YAFFE, K. The projected effect of risk factor reduction on Alzheimer's disease prevalence. **Lancet Neurology**, v. 1, n 9, p. 819-928, 2011.

BARZILAI, N. et al. Offspring of centenarians have a favorable lipid profile. **Journal of American Geriatrics Society**, v. 49, n. 1, p. 76-79, Jan 2001.

BAUMGARTNER, R. N. et al. Epidemiology of sarcopenia among the elderly in New Mexico. **American Journal of Epidemiology**, v. 147, n. 8, p. 755-763, Apr 1998.

BERMEJO, P. et al. Differences of peripheral inflammatory markers between mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. **Immunology Letters**, v. 117, n. 2, p. 198-202, May 2008.

BERNSTEIN, A. M. et al. First autopsy study of an Okinawan centenarian: absence of many age-related diseases. **Journals of Gerontology. Series A, Biological Sciences and Medical Sciences**, v. 59, n. 11, p. 1195-1199, Nov 2004.

BÖYUM A. Isolation of mononuclear cells and granulocytes from human blood. Isolation of mononuclear cells by one centrifugation, and of granulocytes by combining centrifugation and sedimentation at 1 g. **Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation. Supplementum**, v. 97, n. 77-89, 1968.

BROER, L. et al. GWAS of longevity in CHARGE consortium confirms APOE and FOXO3 candidacy. **The Journals of Gerontology. Series A, Biological Sciences and Medical Sciences**, v. 70, n. 1, p. 110-118, Jan 2015.

BRUCKI, S. M. et al. [Suggestions for utilization of the mini-mental state examination in Brazil]. **Arquivos de Neuropsiquiatria**, v. 61, n. 3B, p. 777-781, Sep 2003.

BRUUNSGAARD, H. et al. A high plasma concentration of TNF-alpha is associated with dementia in centenarians. **Journals of Gerontology. Series A, Biological Sciences and Medical Sciences**, v. 54, n. 7, p. M357-364, Jul 1999.

CALNAN, D. R.; BRUNET, A. The FoxO code. **Oncogene**, v. 27, n. 16, p. 2276-2288, Apr 2008.

CARTER, C. S. et al. Molecular mechanisms of life- and health-span extension: role of calorie restriction and exercise intervention. **Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism**, v. 32, n. 5, p. 954-966, Oct 2007.

CESARI, M. et al. Inflammatory markers and cardiovascular disease (The Health, Aging and Body Composition [Health ABC] Study). **American Journal of Cardiology**, v. 92, n. 5, p. 522-528, Sep 2003.

CHOMCZYNSKI, P. A. A reagent for the single-step simultaneous isolation of RNA, DNA and proteins from cell and tissue samples. **Biotechniques**, v. 15, n. 3, p. 532-537, Sep 1993.

CHRISTENSEN, K. et al. Exceptional longevity does not result in excessive levels of disability. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 105, n. 36, p. 13274-13279, Sep 2008.

CHUMLEA, W. C.; ROCHE, A. F.; STEINBAUGH, M. L. Estimating stature from knee height for persons 60 to 90 years of age. **Journal of American Geriatrics Society**, v. 33, n. 2, p. 116-120, Feb 1985.

CHUMLEA, W. C. et al. Prediction of body weight for the nonambulatory elderly from anthropometry. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 88, n. 5, p. 564-568, May 1988.

CHUNG, W. H. et al. The role of genetic variants in human longevity. **Ageing Research Reviews**, v. 9 Suppl 1, p. S67-78, Nov 2010.

COHEN, E.; DILLIN, A. The insulin paradox: aging, proteotoxicity and neurodegeneration. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 9, n. 10, p. 759-767, Oct 2008.

CRIMMINS, E. M.; FINCH, C. E. The genetics of age-related health outcomes. **Journals of Gerontology. Series A, Biological Sciences and Medical Sciences**, v. 67, n. 5, p. 467-519, 2012.

CRUZ-JENTOFT, A. J. et al. Sarcopenia: European consensus on definition and diagnosis: Report of the European Working Group on Sarcopenia in Older People. **Age Ageing**, v. 39, n. 4, p. 412-423, Jul 2010.

DAHL, A.K. et al. Body mass index, change in body mass index, and survival in old and very old persons. **Journal of American Geriatric Society**, v.61, n.4, p. 512-518, Abril 2013.

DAVEY, A. et al. Cognitive function, physical performance, health, and disease: norms from the georgia centenarian study. **Experimental Aging Research**, v. 36, n. 4, p. 394-425, Oct 2010.

DEELEN, J. et al. Identifying the genomic determinants of aging and longevity in human population studies: Progress and challenges. **Bioessays**, v. 35, n. 4 , p. 386-396, Apr 2013.

DE LA MONTE, S. M. Insulin resistance and Alzheimer's disease. **BMB Reports**, v. 42, p. 475-481, Aug 2009.

DUPRE, M. E.; LIU, G.; GU, D. Predictors of longevity: evidence from the oldest old in China. **American Journal of Public Health**, v. 98, n. 7, p. 1, p. 203-208, Jul 2008.

ECONOMOS, A. et al. Interleukin 6 plasma concentration associates with cognitive decline: the northern Manhattan study. **Neuroepidemiology**, v. 40, n. 4, p. 253-259, 2013.

ERSHLER, W. B.; KELLER, E. T. Age-associated increased interleukin-6 gene expression, late-life diseases, and frailty. **Annual Review of Medicine**, v. 51, p. 245-270, 2000.

EVERT, J. et al. Morbidity profiles of centenarians: survivors, delayers, and escapers. **Journals of Gerontology. Series A, Biological Sciences and Medical Sciences**, v. 58, n. 3, p. 232-237, Mar 2003.

FLACHSBART, F. et al. Association of FOXO3A variation with human longevity confirmed in German centenarians. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 106, n. 8, p. 2700-2705, Feb 2009.

FOLSTEIN, M. F.; FOLSTEIN, S. E.; McHUGH, P. R. "Mini-mental state". A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. **Journal of Psychiatric Research**, v. 12, n. 3, p. 189-198, Nov 1975.

FRIED, L. P. et al. Frailty in older adults: evidence for a phenotype. **Journals of Gerontology. Series A, Biological Sciences and Medical Sciences**, v. 56, n. 3, p. M146-156, Mar 2001.

GMITROWICZ, A.; KUCHARSKA, A. Developmental disorders in the fourth edition of the American classification: diagnostic and statistical manual of mental disorders (DSM IV -- optional book). **Psychiatria Polska**, v. 28, n. 5, p. 509-521, Sep-Oct 1994.

GONDO, Y. et al. Functional status of centenarians in Tokyo, Japan: developing better phenotypes of exceptional longevity. **Journals of Gerontology. Series A, Biological Sciences and Medical Sciences**, v. 61, n. 3, p. 305-310, Mar 2006.

GUIGOZ, Y.; LAUQUE, S.; VELLAS, B. J. Identifying the elderly at risk for malnutrition. The Mini Nutritional Assessment. **Clinics in Geriatric Medicine**, v. 18, n. 4, p. 737-757, Nov 2002.

HAGBERG, B. et al. Cognitive functioning in centenarians: a coordinated analysis of results from three countries. **Journals of Gerontology. Series B**,

Psychological Sciences and Social Sciences, v. 56, n. 3, p. p. 141-151, May 2001.

HALL, J. R. et al. Biomarkers of vascular risk, systemic inflammation and microvascular pathology and neuropsychiatric symptoms in Alzheimer's disease. **Journal of Alzheimer's Disease**, v. 35, n. 2, p. 363-371, 2013.

HARRIS, T. B. et al. Associations of elevated interleukin-6 and creactive protein levels with mortality in the elderly. **American Journal of Medicine**, v. 106, n. 5, p. 506-512, May 1999.

HAZRA, N. C. et al. Differences in health at age 100 according to sex: population-based cohort study of centenarians using electronic health records. **Journal of American Geriatrics Society**, v. 63, n. 7, p. 1331-1337, Jul 2015.

HERSKIND, A. M. et al. The heritability of human longevity: a population-based study of 2872 Danish twin pairs born 1870-1900. **Human Genetics**, v. 97, n. 3, p. 319-323, Mar 1996.

HOUSTON, D. K. et al. Association between vitamin D status and physical performance: the InCHIANTI study. **Journals of Gerontology. Series A, Biological Sciences and Medical Sciences**, v. 62, n. 4, p. 440-446, Apr 2007.

JANCA, A. et al. The ICD-10 symptom checklist: a companion to the ICD-10 classification of mental and behavioural disorders. **Social Psychiatry and Psychiatric Epidemiology**, v. 28, n. 5, p. 239-242, Oct 1993.

JUVA K. et al. APOE epsilon4 does not predict mortality, cognitive decline, or dementia in the oldest old. **Neurology**, v. 54, n. 2, p. 412-415, Jan 2000.

KATZ, S.; STROUD, M. W., 3RD. Functional assessment in geriatrics. A review of progress and directions. **Journal of American Geriatrics Society**, v. 37, n. 3, p. 267-271, Mar 1989.

KOYAMA, A et al. The role of peripheral inflammatory markers in dementia and Alzheimer's disease: a meta-analysis. **Journals of Gerontology. Series A, Biological Sciences and Medical Sciences**, v. 68, n. 4, p. 433-440, Apr 2013.

KIM, B.; FELDMAN, E. L. Insulin resistance as a key link for the increased risk of cognitive impairment in the metabolic syndrome. **Experimental & Molecular Medicine**, v. 47, p. e149, Mar 2015.

KIRBY, M. et al. The clock drawing test in primary care: sensitivity in dementia detection and specificity against normal and depressed elderly. **International Journal of Geriatric Psychiatry**, v. 16, n. 10, p. 935-940, Oct 2001.

LAWTON, M. P.; BRODY, E. M. Assessment of older people: self-maintaining and instrumental activities of daily living. **Gerontologist**, v. 9, n. 3, p. 179-186, Autumn 1969.

LENG, S. et al. Serum interleukin-6 and hemoglobin as physiological correlates in the geriatric syndrome of frailty: a pilot study. **Journal of American Geriatrics Society**, v. 50, n. 7, p. 1268-1271, Jul 2002.

LI, Y. et al. Genetic association of FOXO1A and FOXO3A with longevity trait in Han Chinese populations. **Human Molecular Genetics**, v. 18, n. 24, p. 4897-4904, Dec 15 2009.

LOBANOVA, I.; QURESHI, A. I. The association between cardiovascular risk factors and progressive hippocampus volume loss in persons with Alzheimer's disease. **Journal of Vascular and Interventional Neurology**, v. 7, p. 52-55, 2014.

LOHMAN, T.G.; ROCHE, A.F.; MARTORELL, R. **Anthropometric standardization reference manual**. Champaign, Illinois: Human Kinetics, Inc, 1988.

LONG, L. S.; WOLPAW, J. T.; LEUNG, J. M. Sensitivity and specificity of the animal fluency test for predicting postoperative delirium. **Canadian Journal of Anaesthesia**, v. 62, n. 6, p. 603-608, Jun 2015.

McGEE, M.; JENSEN, G. L. Nutrition in the elderly. **Journal of Clinical Gastroenterology**, v. 30, n. 4, p. 372-380, Jun 2000.

MADSEN, S. K. et al. Higher homocysteine associated with thinner cortical gray matter in 803 participants from the Alzheimer's disease neuroimaging initiative. **Neurobiology of Aging**, v. 36 Suppl 1, p. S203-210, Jan 2015.

MAHLEY, R. W.; RALL, S. C. Jr. Apolipoprotein E: far more than a lipid transport protein. **Annual review of Genomics and Human Genetics**, 1: 507-537, 2000.

MAES, M. et al. Inflammatory markers in younger vs elderly normal volunteers and in patients with Alzheimer's disease. **Journal of Psychiatric Research**, v. 33, n. 5, p. 397-405, Sep-Oct 1999.

MARQUES, F. Z.; MARKUS, M. A.; MORRIS, B. J. The molecular basis of longevity, and clinical implications. **Maturitas**, v. 65, n. 2, p. 87-91, Feb 2010.

MICHAUD, M. et al. Proinflammatory cytokines, aging, and age-related diseases. **Journal of the American Medical Directors Association**, v. 14, n. 12, p. 877-882, Dec 2013.

MOOIJAART, S. P. et al. Polymorphisms associated with type 2 diabetes in familial longevity: The Leiden Longevity Study. **Aging (Albany NY)**, v. 3, n. 1, p. 55-62, Jan 2011.

MORLEY, J. E. Sarcopenia: diagnosis and treatment. **Journal of Nutrition, Health & Aging**, v. 12, n. 7, p. 452-456, Aug-Sep 2008.

NAKANO, M.M. **Versão brasileira da Short Physical Performance Battery? SPPB: adaptação cultural e estudo da confiabilidade**. Campinas, 2007. Dissertação (Mestrado em Gerontologia) - Faculdade de Educação, Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP.

NEWMAN, A. B.; MURABITO, J. M. The epidemiology of longevity and exceptional survival. **Epidemiologic Reviews**, v. 35, p. 181-197, 2013.

OULHAJ, A. et al. Homocysteine as a predictor of cognitive decline in Alzheimer's disease. **International Journal of Geriatric Psychiatry**, v. 25, n. 1, p. 82-90, Jan 2010.

PERLS, T.; TERRY, D. Genetics of exceptional longevity. **Experimental Gerontology**, v. 38, n. 7, p. 725-730, Jul 2003a.

_____. Understanding the determinants of exceptional longevity. **Annals of Internal Medicine**, v. 139, n. 5 Pt 2, p. 445-449, Sep 2003b.

PERLS, T. T. The different paths to 100. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 83, n. 2, p. 484s-487s, Feb 2006.

PERRY, I. J. et al. Prospective-study of serum total homocysteine concentration and risk of stroke in middle-aged British men. **Lancet**, v. 346, n. 8987, p. 1395-1398, Nov 1995.

PITANGA, F. J. G. **Teste, medidas e avaliação em educação física e esporte**. São Paulo: Phorte, 2000.

POORTVLIET, R. K. et al. Low blood pressure predicts increased mortality in very old age even without heart failure: the Leiden 85-plus study. **European Journal of Heart Failure**, v. 15, n. 5, p. 528-533, May 2013.

QIU, C.; WINBLAD, B.; FRATIGLIONI, L. The age-dependent relation of blood pressure to cognitive function and dementia. **Lancet Neurology**, v. 4, n 8, p. 487-499, Aug 2005.

RAVAGLIA, G. et al. Blood inflammatory markers and risk of dementia: The Conselice Study of Brain Aging. **Neurobiology Aging**, v. 28, n.12, p. 1810-1820, Dec 2007.

ROWE, J. W.; KAHN, R. L. Successful Aging 2.0: Conceptual Expansions for the 21st Century. **Journals of Gerontology. Series B, Psychological Sciences and Social Sciences**, v. 70, n. 4, p. 593-596, Jul 2015.

SCHACHTER, F. et al. Genetic associations with human longevity at the APOE and ACE loci. **Nature Genetics**, v. 6, n. 1, p. 29-32, Jan 1994.

SALO A. et al. Does apolipoprotein E influence learning and memory in the nondemented oldest old. **International Psychogeriatrics**, v. 13, n. 4, p. 451-459, Dec 2001.

SAMTANI, M. N. et al. Alzheimer's disease neuroimaging initiative. An improved model for disease progression in patients from the Alzheimer's disease neuroimaging initiative. **Journal of Clinical Pharmacology**, v. 52, n. 5, p. 629-644, May 2012.

SEBASTIANI, P. et al. Genetic signatures of exceptional longevity in humans. **PLoS One**, v. 7, n. 1, p. e29848, 2012.

SOERENSEN, M. et al. Replication of an association of variation in the FOXO3A gene with human longevity using both case-control and longitudinal data. **Aging Cell**, v. 9, n. 6, p. 1010-1017, Dec 2010.

TARKOWSKI, E. et al. Cerebral pattern of pro- and anti-inflammatory cytokines in dementias. **Brain Research Bulletin**, v. 61, n. 3, p. 255-260, Aug 2003.

TERRY, D. F. et al. Lower all-cause, cardiovascular, and cancer mortality in centenarians' offspring. **Journal of the American Geriatric Society**, v. 52, n. 12, p. 2074-2076, Dec 2004.

TRACY, R. P. et al. Lifetime smoking exposure affects the association of C-reactive protein with cardiovascular disease risk factors and subclinical disease in healthy elderly subjects. **Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology**, v. 17, n. p. 2167-2176, Oct 1997.

TROLLOR, J. N. et al. The association between systemic inflammation and cognitive performance in the elderly: the Sydney Memory and Ageing Study. **Age (Dordrecht Netherlands)**, v. 34, n. 5, p. 1295-1308, Oct 2012.

UNITED NATIONS POPULATION DIVISION. **World population projections: the 2000 revision.** 2000, 22p. Disponível em: <http://www.un.org/esa/population/publications/wpp2000/highlights.pdf>. Acessado em 14/07/2011.

van der HORST, A.; BURGERING, B. M. Stressing the role of FoxO proteins in lifespan and disease. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 8, n., p. 440-450, Jun 2007.

VILACA, K. H. et al. Body composition assessment of undernourished older subjects by dual-energy x-ray absorptiometry and bioelectric impedance analysis. **Journal of Nutrition, Health & Aging**, v. 15, n. 6, p. 439-443, Jun 2011.

VASAN, R. S. et al. Inflammatory markers and risk of heart failure in elderly subjects without prior myocardial infarction: The Framingham Heart Study. **Circulation**, v. 107, n. 11, p. 1486-1491, Mar 2003.

VOLPATO, S. et al. Cardiovascular disease, interleukin-6, and risk of mortality in older women: The women's health and aging study. **Circulation**, v. 103, n. 7, p. 947-953, Feb 2001.

WESTENDORP, R. G. et al. Nonagenarian siblings and their offspring display lower risk of mortality and morbidity than sporadic nonagenarians: The Leiden Longevity Study. **Journal of the American Geriatric Society**, v. 57, n. 9, p. 1634-1637, Sep 2009.

WILLCOX, B. J. et al. Siblings of Okinawan centenarians share lifelong mortality advantages. **Journals of Gerontology. Series A, Biological Sciences and Medical Sciences**, v. 61, n. 4, p. 345-354, Apr 2006.

WILLCOX, B. J. et al. FOXO3A genotype is strongly associated with human longevity. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 105, n. 37, p. 13987-13992, Sep 2008.

WILLCOX, D. C. et al. Genetic determinants of exceptional human longevity: insights from the Okinawa Centenarian Study. **Age (Dordrecht Netherlands)**, v. 28, n. 4, p. 313-332, Dec 2006.

WILLCOX, D. C.; WILLCOX, B. J.; POON, L. W. Centenarian studies: important contributors to our understanding of the aging process and longevity. **Current Gerontology and Geriatrics Research**, v. 2010, p. 484-529, 2010.

WINTER, J. E. et al. BMI and all-cause mortality in older adults: a meta-analysis. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 99, n. 4, p. 875-990, Apr 2014.

WOODARD, J. L. et al. Apolipoprotein E ϵ 4 adversely impacts cognitive and functional status in caucasian centenarians but not in African American centenarians. **Journal of the International Neuropsychological Society**, v. 15, Suppl. 1, p. 100, Feb 2009.

XU, W. et al. Education and Risk of Dementia: Dose-Response Meta-Analysis of Prospective Cohort Studies. **Molecular Neurobiology**, May 2015. Epub ahead of print.

YI, Z.; GU, D.; LAND, K. C. The association of childhood socioeconomic conditions with healthy longevity at the oldest-old ages in China. **Demography**, v. 44, n. 3, p. 497-518, Aug 2007.

ZENG, Y. et al. Effects of FOXO genotypes on longevity: a biodemographic analysis. **Journals of Gerontology. Series A, Biological Sciences and Medical Sciences**, v. 65, n.12, p. 1285-1299, Dec 2010.

8. ANEXOS

ANEXO A

COMPROVANTE DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA
DE RIBEIRÃO PRETO DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

Ofício nº 1316/2012
CEP/MGV

Ribeirão Preto, 11 de abril de 2012

Prezados Senhores,

O trabalho intitulado **“ESTUDO DOS CENTENÁRIOS DE RIBEIRÃO PRETO-BRASIL”**, foi analisado pelo Comitê de Ética em Pesquisa, em sua 343ª Reunião Ordinária realizada em 09/04/2012, e enquadrado na categoria: **APROVADO**, bem como o **Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, versão 3.0**, de acordo com o Processo HCRP nº 903/2012.

De acordo com Carta Circular nº 003/2011/CONEP/CNS, datada de 21/03/2011, o sujeito de pesquisa ou seu representante, quando for o caso, deverá rubricar todas as folhas do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE – apondo sua assinatura na última do referido Termo; o pesquisador responsável deverá da mesma forma, rubricar todas as folhas do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE – apondo sua assinatura na última página do referido Termo.

Este Comitê segue integralmente a Conferência Internacional de Harmonização de Boas Práticas Clínicas (IGH-GCP), bem como a Resolução nº 196/96 CNS/MS.

Lembramos que devem ser apresentados a este CEP, o Relatório Parcial e o Relatório Final da pesquisa.

Atenciosamente.

DRª. MARCIA GUIMARÃES VILLANOVA
Coordenadora do Comitê de Ética em
Pesquisa do HCRP e da FMRP-USP

Ilustríssimos Senhores
PAULO DE OLIVEIRA DUARTE
PROFª. DRª. NEREIDA KILZA DA COSTA LIMA (Orientadora)
Depto. de Clínica Médica - Geriatria

ANEXO B

OFÍCIO DA SOLICITAÇÃO DA BASE DE DADOS DOS PACIENTES CENTENÁRIOS USUÁRIOS DO SUS ENCAMINHADO A SECRETARIA DE SAÚDE DA PREFEITURA MUNICIPAL DE RIBEIRÃO PRETO

Av. Bandeirantes, 3900 (6º andar do HC) Ribeirão Preto -SP- Cep 14048-900 - Fone:(16)3 633-0036/602-2448
Fax: (16) 3602-0229

Ribeirão Preto, 30 de janeiro, de 2012.

DR. STÊNIO JOSÉ CORREIA MIRANA
M.D. SECRETÁRIO MUNICIPAL DA SAÚDE DO MUNICÍPIO DE RIBEIRÃO
PRETO

Vimos, através desta, oficializar o pedido de fornecimento dos telefones de contato e/ou Endereço cadastrados, através do sistema Hygia, de todos os idosos acima de 95 anos da nossa cidade. Serão avaliados o interesse e disponibilidade dos mesmos ou de seus responsáveis legais (no caso de demências) em participar da pesquisa intitulada “Estudos dos Centenários de Ribeirão Preto”. Após consentimento, via telefone, os participantes serão visitados em seus domicílios onde serão informados de todos os direitos, através do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, e só após a assinatura deste, daremos início a fase de coleta de dados.

Envio em anexo o Certificado de Apresentação para Apreciação Ética - CAAE com REGISTRO - 0398.0.004.000-12 no Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas de Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – HC-FMRP-USP.

Aproveitamos a oportunidade para renovar nossos protestos de estima e consideração.

Atenciosamente,

Paulo de Oliveira Duarte.
Pesquisador responsável pelo Projeto.

Anexo C

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está sendo convidado a participar do projeto de pesquisa de nome: “Estudo dos Centenários de Ribeirão Preto - Brasil”.

Esta pesquisa tem como objetivo estudar a população de centenários de Ribeirão Preto, identificando eventuais fatores protetores do ponto de vista ambiental, orgânico e genético que contribuem para o processo do envelhecimento bem sucedido em nossa população.

Para participar deste estudo é necessário que o voluntário possa confirmar, através de documentação original (carteira de identidade, título de eleitor, certidão de casamento) a sua data de nascimento.

Os pacientes serão visitados por, pelo menos, um médico e um técnico de enfermagem e toda a avaliação será realizada no domicílio do participante em uma ou até duas visitas com cerca de 4 horas de duração na 1ª visita.

Será solicitado jejum à partir das 00:00 (zero horas) do dia da avaliação. A visita começara as 8:00 hs. Serão coletados 15 ml sangue (3 colheres de sopa) através da de uma veia do braço por um técnico de enfermagem. O voluntário poderá sentir dor durante a picada da agulha. Após esse procedimento, será colhida a saliva do paciente através de um algodão colocado na boca por um pequeno tempo. Após a coleta da saliva, o paciente deverá tomar uma água especial, mas que tem as mesmas características (cor, sabor e cheiro) da água comum e será liberado para o café da manhã.

Serão realizadas também avaliações clínicas, cognitivas, aplicação de escalas, entrevistas estruturadas com o paciente e/ou cuidador principal. Serão feitas medidas corporais de peso, altura e medidas do corpo com fita métrica, avaliação da força do paciente e testes de caminhada nos voluntários que andam. Serão feitas 3 medidas da pressão arterial em cada braço. No final da consulta será repetido o procedimento no braço com maior pressão.

Nenhum dos procedimentos realizados trarão malefícios à saúde do participante.

Ao final do estudo o participante e/ou seu responsável legal receberão informações sobre todos os resultados obtidos nestes exames, com cópias para outros médicos, se solicitado for.

Os seus direitos ao participar da pesquisa, de acordo com a resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde/ Ministério da Saúde, são:

A garantia de receber a resposta a qualquer pergunta ou esclarecimento acerca dos procedimentos, riscos, benefícios e outros relacionados com a pesquisa a que será submetido;

A liberdade de retirar o seu consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem que isso traga prejuízo à continuação de seu atendimento e tratamento habitual neste serviço;

A segurança de não ser identificado (a) e do caráter confidencial de toda a informação relacionada.

Ciente e de acordo: Ribeirão Preto, ____/____/____

Nome do participante: _____
RG nº _____

(Assinatura do participante da pesquisa ou de seu responsável legal)

Pesquisador principal: Paulo de Oliveira Duarte / Mariana Garcia da Freiria
Assinatura: _____

Orientadora: Nereida Kilza da Costa Lima
Assinatura: _____

Testemunha: _____

Assinatura: _____

Telefones para contato:

Paulo Duarte: 98121-1081 / 3234-6999
Profa. Dra Nereida: 99277-0522

ANEXO D

MINI-EXAME DO ESTADO MENTAL (MEEM)

ORIENTAÇÃO (1 ponto para cada item)

Ano - mês - dia do mês - dia da semana - hora aproximada Estado - cidade - bairro - local da consulta - andar ou setor

REGISTRO (1 ponto por palavra) Pente - vaso - laranja número de tentativas:..**ATENÇÃO E CÁLCULO (1 ponto por acerto)**

Seriado descendente de 7: 93, 86, 79, 72, 65 OU soletrar "mundo" de trás para frente

EVOCAÇÃO (1 ponto por acerto)

Repetir as 3 palavras dadas para registro

LINGUAGEM (9 pontos)

- denominar um relógio de pulso e uma caneta (1 ponto por acerto) - repetir "nem aqui, nem ali, nem lá" (1 ponto)
- atender ao comando: "pegue o papel com a mão direita, dobre-o ao meio e coloque-o no chão" (1 ponto por ação correta)
- ler e obedecer o seguinte: FECHÉ OS OLHOS (1 ponto) - escrever uma frase (1 ponto) - copiar o desenho (1 ponto)

..

ANEXO E

CRITÉRIOS DIAGNÓSTICOS PARA SÍNDROME DEMENCIAL SEGUNDO O DSM IV

1 - Comprometimento da memória

2 - Presença de pelo menos um dos seguintes distúrbios:

- Afasia
- Apraxia
- Agnosia
- Perturbação do funcionamento executivo

3 - Os distúrbios 1 e 2 interferem significativamente nas atividades laborais, sociais ou nos relacionamentos.

4 - Os distúrbios não ocorrem exclusivamente durante os momentos de delirium.

ANEXO F

MINI AVALIAÇÃO NUTRICIONAL - MAN

NESTLÉ NUTRITION SERVICES

Mini Avaliação Nutricional®

Mini Nutritional Assessment MNA™

Sobrenome: _____ Nome: _____ Sexo: _____ Data: _____

Idade: _____ Peso (kg): _____ Altura (cm): _____ Leito: _____

Preencher a primeira parte deste questionário, indicando a resposta. Somar os pontos da Triagem. Caso o escore seja igual ou inferior a 11, concluir o questionário para obter a avaliação do estado nutricional.

Triagem

- A** Nos últimos três meses houve diminuição da ingestão alimentar devido a perda de apetite, problemas digestivos ou dificuldade para mastigar ou deglutir?
- 0 = diminuição severa da ingestão ☐
1 = diminuição moderada da ingestão
2 = sem diminuição da ingestão
- B** Perda de peso nos últimos meses
- 0 = superior a três quilos ☐
1 = não sabe informar
2 = entre um e três quilos
3 = sem perda de peso
- C** Mobilidade
- 0 = restrito ao leito ou à cadeira de rodas ☐
1 = deambula mas não é capaz de sair de casa
2 = normal
- D** Passou por algum estresse psicológico ou doença aguda nos últimos três meses?
- 0 = sim ☐ 2 = não
- E** Problemas neuropsicológicos
- 0 = demência ou depressão graves ☐
1 = demência leve
2 = sem problemas psicológicos
- F** Índice de massa corpórea (IMC = peso [kg] / estatura [m]²)
- 0 = IMC < 19 ☐
1 = 19 ≤ IMC < 21
2 = 21 ≤ IMC < 23
3 = IMC ≥ 23

Escore de triagem (subtotal, máximo de 14 pontos) ☐ ☐

12 pontos ou mais normal: ☐
desnecessário continuar a avaliação

11 pontos ou menos possibilidade de desnutrição: ☐
continuar a avaliação

Avaliação global

- G** O paciente vive em sua própria casa (não em casa geriátrica ou hospitalar)
- 0 = não ☐ 1 = sim
- H** Utiliza mais de três medicamentos diferentes por dia?
- 0 = sim ☐ 1 = não
- I** Lesões de pele ou escaras?
- 0 = sim ☐ 1 = não

Ref.: Guigoz Y, Vellas B and Garry PJ. 1994. Mini Nutritional Assessment: A practical assessment tool for grading the nutritional state of elderly patients. Facts and Research in Gerontology, Supplement 2, 15-59.
Rubenstein LZ, Harker J, Guigoz Y and Vellas B. Comprehensive Geriatric Assessment (CGA) and the MNA. An Overview of CGA, Nutritional Assessment, and Development of a Shortened Version of the MNA. In: "Mini Nutritional Assessment (MNA): Research and Practice in the Elderly". Vellas B, Garry PJ and Guigoz Y, editors. Nestlé Nutrition Workshop Series, Clinical & Performance Programme, vol. 1. Karger, Bâle, in press.

© 1998 Société des Produits Nestlé S.A., Vevey, Switzerland, Trademark Owners

- J** Quantas refeições faz por dia?
- 0 = uma refeição ☐
1 = duas refeições
2 = três refeições
- K** O paciente consome:
- pelo menos uma porção diária de leite ou derivados (queijo, iogurte)? sim ☐ não ☐
 - duas ou mais porções semanais de legumes ou ovos? sim ☐ não ☐
 - carne, peixe ou aves todos os dias? sim ☐ não ☐
- 0,0 = nenhuma ou uma resposta «sim»
0,5 = duas respostas «sim»
1,0 = três respostas «sim» ☐ ☐
- L** O paciente consome duas ou mais porções diárias de frutas ou vegetais?
- 0 = não ☐ 1 = sim
- M** Quantos copos de líquidos (água, suco, café, chá, leite) o paciente consome por dia?
- 0,0 = menos de três copos ☐
0,5 = três a cinco copos
1,0 = mais de cinco copos ☐
- N** Modo de se alimentar
- 0 = não é capaz de se alimentar sozinho ☐
1 = alimenta-se sozinho, porém com dificuldade
2 = alimenta-se sozinho sem dificuldade
- O** O paciente acredita ter algum problema nutricional?
- 0 = acredita estar desnutrido ☐
1 = não sabe dizer
2 = acredita não ter problema nutricional
- P** Em comparação a outras pessoas da mesma idade, como o paciente considera a sua própria saúde?
- 0,0 = não muito boa ☐
0,5 = não sabe informar
1,0 = boa
2,0 = melhor ☐
- Q** Circunferência do braço (CB) em cm
- 0,0 = CB < 21 ☐
0,5 = 21 ≤ CB ≤ 22
1,0 = CB > 22 ☐
- R** Circunferência da panturrilha (CP) em cm
- 0 = CP < 31 ☐ 1 = CP ≥ 31

Avaliação global (máximo 16 pontos) ☐ ☐ ☐

Escore da triagem ☐ ☐ ☐

Escore total (máximo 30 pontos) ☐ ☐ ☐

Avaliação do Estado Nutricional

de 17 a 23,5 pontos risco de desnutrição ☐

menos de 17 pontos desnutrido ☐

11-99 BBA

ANEXO G

BATERIA CURTA DE DESEMPENHO FÍSICO - *SHORT PHYSICAL PERFORMANCE BATTERY (SPPB)*

APÊNDICE IV

Identificação do participante:	Data: / /	Iniciais do examinador
--------------------------------	-----------	------------------------

VERSÃO BRASILEIRA DA SHORT PHYSICAL PERFORMANCE BATTERY SPPB

Todos os testes devem ser realizados na ordem em que são apresentados neste protocolo. As instruções para o avaliador e para o paciente estão separadas nos quadros abaixo. As instruções aos pacientes devem ser dadas exatamente como estão descritas neste protocolo.

1. TESTES DE EQUILÍBRIO

A. POSIÇÃO EM PÉ COM OS PÉS JUNTOS

Instruções para o Avaliador	Instruções para o Paciente
O paciente deve conseguir ficar em pé sem utilizar bengala ou andador. Ele pode ser ajudado a levantar-se para ficar na posição.	a) Agora vamos começar a avaliação. b) Eu gostaria que o(a) Sr(a). tentasse realizar vários movimentos com o corpo. c) Primeiro eu demonstro e explico como fazer cada movimento. d) Depois o(a) Sr(a). tenta fazer o mesmo. e) Se o(a) Sr(a). não puder fazer algum movimento, ou sentir-se inseguro para realizá-lo, avise-me e passaremos para o próximo teste. f) Vamos deixar bem claro que o(a) Sr(a). não tentará fazer qualquer movimento se não se sentir seguro. g) O(a) Sr(a). tem alguma pergunta antes de começarmos?
	Agora eu vou mostrar o 1º movimento. Depois o(a) Sr(a). fará o mesmo.
1. Demonstre.	a) Agora, fique em pé, com os pés juntos, um encostado no outro, por 10 segundos. b) Pode usar os braços, dobrar os joelhos ou balançar o corpo para manter o equilíbrio, mas procure não mexer os pés. c) Tente ficar nesta posição até eu falar "pronto".
2. Fique perto do paciente para ajudá-lo/a a ficar em pé com os pés juntos.	
3. Caso seja necessário, segure o braço do paciente para ficar na posição e evitar que ele perca o equilíbrio.	
4. Assim que o paciente estiver com os pés juntos, pergunte:	"O(a) Sr(a). está pronto(a)?"
5. Retire o apoio, se foi necessário ajudar o paciente a ficar em pé na posição, e diga:	"Preparar, já!" (disparando o cronômetro).
6. Pare o cronômetro depois de 10 segundos, ou quando o paciente sair da posição ou segurar o seu braço, dizendo:	"Pronto, acabou"
7. Se o paciente não conseguir se manter na posição por 10 segundos, marque o resultado e prossiga para o teste de velocidade de marcha.	
A. PONTUAÇÃO Mantive por 10 segundos ☐ 1 ponto Não manteve por 10 segundos ☐ 0 ponto Não tentou ☐ 0 ponto Se pontuar 0, encerre os Testes de Equilíbrio e marque o motivo no Quadro 1 Tempo de execução quando for menor que 10 seg: ____ segundos.	

B. POSIÇÃO EM PÉ COM UM PÉ PARCIALMENTE À FRENTE

Instruções para o Avaliador	Instruções para o Paciente
	Agora eu vou mostrar o 2º movimento. Depois o(a) Sr(a). Fará o mesmo.
1. Demonstre.	<p>a) Eu gostaria que o(a) Sr(a). colocasse um dos pés um pouco mais à frente do outro pé, até ficar com o calcanhar de um pé encostado ao lado do dedão do outro pé.</p> <p>b) Fique nesta posição por 10 segundos.</p> <p>c) O(a) Sr(a). pode colocar tanto um pé quanto o outro na frente, o que for mais confortável.</p> <p>d) O(a) Sr(a). pode usar os braços, dobrar os joelhos ou o corpo para manter o equilíbrio, mas procure não mexer os pés.</p> <p>e) Tente ficar nesta posição até eu falar "pronto".</p>
2. Fique perto do paciente para ajudá-lo(la) a ficar em pé com um pé parcialmente à frente.	
3. Caso seja necessário, segure o braço do paciente para ficar na posição e evitar que ele perca o equilíbrio.	
4. Assim que o paciente estiver na posição, com o pé parcialmente à frente, pergunte:	"O(a) Sr(a). está pronto(a) ?"
5. Retire o apoio, caso tenha sido necessário ajudar o paciente a ficar em pé na posição, e diga:	"Preparar, já!" (disparando o cronômetro).
6. Pare o cronômetro depois de 10 segundos, ou quando o paciente sair da posição ou segurar o seu braço, dizendo:	"Pronto, acabou".
7. Se o paciente não conseguir se manter na posição por 10 segundos, marque o resultado e prossiga para o Teste de velocidade de marcha.	

B. PONTUAÇÃO

Manteve por 10 segundos ☐ 1 ponto
 Não manteve por 10 segundos ☐ 0 ponto
 Não tentou ☐ 0 ponto

Se pontuar 0, encerre os Testes de Equilíbrio e marque o motivo no Quadro 1
 Tempo de execução quando for menor que 10 seg: ____ segundos.

2. TESTE DE VELOCIDADE DE MARCHA

Instruções para o Avaliador	Instruções para o Paciente
Material: fita crepe ou fita adesiva, espaço de 3 ou 4 metros, fita métrica ou trena e cronômetro.	Agora eu vou observar o(a) Sr(a). andando normalmente. Se precisar de bengala ou andador para caminhar, pode utilizá-los.
A. Primeira Tentativa	
1. Demonstre a caminhada para o paciente.	Eu caminharei primeiro e só depois o(a) Sr(a). irá caminhar da marca inicial até ultrapassar completamente a marca final, no seu passo de costume , como se estivesse andando na rua para ir a uma loja.
2. Posicione o paciente em pé com a ponta dos pés tocando a marca inicial.	a) Caminhe até ultrapassar completamente a marca final e depois pare. b) Eu andarei com o(a) Sr(a). sente-se seguro para fazer isto?
3. Dispare o cronômetro assim que o paciente tirar o pé do chão. 4. Caminhe ao lado e logo atrás do participante.	a) Quando eu disser "Já", o(a) Sr(a). comece a andar. b) "Entendeu?" Assim que o paciente disser que sim, diga: "Então, preparar, já!"
5. Quando um dos pés do paciente ultrapassar completamente a marca final pare de marcar o tempo.	
<p style="text-align: center;">Tempo da Primeira Tentativa</p> <p>A. Tempo para 3 ou 4 metros: ____ . ____ segundos.</p> <p>B. Se o paciente não realizou o teste ou falhou, marque o motivo: 1) Tentou, mas não conseguiu. 2) O paciente não consegue caminhar sem ajuda de outra pessoa. 3) Não tentou, o avaliador julgou inseguro. 4) Não tentou, o paciente sentiu-se inseguro. 5) O paciente não conseguiu entender as instruções. 6) Outros (Especifique) _____ 7) O paciente recusou participação.</p> <p>C. Apoios para a primeira caminhada: Nenhum ☐ Bengala ☐ Outro ☐</p> <p>D. Se o paciente não conseguiu realizar a caminhada pontue: ☐ 0 ponto e prossiga para o Teste de levantar da cadeira.</p>	

B. Segunda Tentativa	
Instruções para o Avaliador	Instruções para o Paciente
1. Posicione o paciente em pé com a ponta dos pés tocando a marca inicial.	
2. Dispare o cronômetro assim que o paciente tirar o pé do chão.	
3. Caminhe ao lado e logo atrás do paciente.	
4. Quando um dos pés do paciente ultrapassar completamente a marca final pare de marcar o tempo.	
<p style="text-align: center;">Tempo da Segunda Tentativa</p> <p>A. Tempo para 3 ou 4 metros: ____ segundos.</p> <p>B. Se o paciente não realizou o teste ou falhou, marque o motivo:</p> <p>1) Tentou, mas não conseguiu.</p> <p>2) O paciente não consegue caminhar sem ajuda de outra pessoa.</p> <p>3) Não tentou, o avaliador julgou inseguro.</p> <p>4) Não tentou, o paciente sentiu-se inseguro.</p> <p>5) O paciente não conseguiu entender as instruções.</p> <p>6) Outros (Especifique) _____</p> <p>7) O paciente recusou participação.</p> <p>C. Apoios para a segunda caminhada:</p> <p>Nenhum ☐ Bengala ☐ Outro ☐</p> <p>D. Se o paciente não conseguiu realizar a caminhada pontue: ☐ 0 ponto</p>	
<p style="text-align: center;">PONTUAÇÃO DO TESTE DE VELOCIDADE DE MARCHA</p> <p>Extensão do teste de marcha: Quatro metros ☐ ou Três metros ☐</p> <p>Qual foi o tempo mais rápido dentre as duas caminhadas?</p> <p>Marque o menor dos dois tempos: ____ segundos e utilize para pontuar.</p> <p>[Se somente uma caminhada foi realizada, marque esse tempo] ____ segundos</p> <p>Se o paciente não conseguiu realizar a caminhada: ☐ 0 ponto</p>	
<p style="text-align: center;">Pontuação para a caminhada de 3 metros:</p> <p>Se o tempo for maior que 6,52 segundos: ☐ 1 ponto</p> <p>Se o tempo for de 4,66 a 6,52 segundos: ☐ 2 pontos</p> <p>Se o tempo for de 3,62 a 4,65 segundos: ☐ 3 pontos</p> <p>Se o tempo for menor que 3,62 segundos: ☐ 4 pontos</p>	<p style="text-align: center;">Pontuação para a caminhada de 4 metros:</p> <p>Se o tempo for maior que 8,70 segundos: ☐ 1 ponto</p> <p>Se o tempo for de 6,21 a 8,70 segundos: ☐ 2 pontos</p> <p>Se o tempo for de 4,82 a 6,20 segundos: ☐ 3 pontos</p> <p>Se o tempo for menor que 4,82 segundos: ☐ 4 pontos</p>

3. TESTE DE LEVANTAR-SE DA CADEIRA

Posição inicial

Posição final

Instruções para o Avaliador	Instruções para o Paciente
Material: cadeira com encosto reto, sem apoio lateral, com aproximadamente 45 cm de altura, e cronômetro. A cadeira deve estar encostada à parede ou estabilizada de alguma forma para impedir que se mova durante o teste.	
PRÉ-TESTE: LEVANTAR-SE DA CADEIRA UMA VEZ	
1. Certifique-se de que o participante esteja sentado ocupando a maior parte do assento, mas com os pés bem apoiados no chão. Não precisa necessariamente encostar a coluna no encosto da cadeira, isso vai depender da altura do paciente.	Vamos fazer o último teste. Ele mede a força de suas pernas. O(a) Sr(a). se sente seguro(a) para levantar-se da cadeira sem ajuda dos braços?
2. Demonstre e explique os procedimentos	<p>Eu vou demonstrar primeiro. Depois o(a) Sr(a). fará o mesmo.</p> <p>a) Primeiro, cruze os braços sobre o peito e sente-se com os pés apoiados no chão.</p> <p>b) Depois levante-se completamente mantendo os braços cruzados sobre o peito e sem tirar os pés do chão.</p>
3. Anote o resultado.	Agora, por favor, levante-se completamente mantendo os braços cruzados sobre o peito.
4. Se o paciente não conseguir levantar-se sem usar os braços, não realize o teste, apenas diga: "Tudo bem, este é o fim dos testes".	
5. Finalize e registre o resultado e prossiga para a pontuação completa da SPPB.	
RESULTADO DO PRÉ-TESTE: LEVANTAR-SE DA CADEIRA UMA VEZ	
<p>A. Levantou-se sem ajuda e com segurança Sim ☐ Não ☐</p> <p>. O paciente levantou-se sem usar os braços ☐ Vá para o teste levantar-se da cadeira 5 vezes</p> <p>. O paciente usou os braços para levantar-se ☐ Encerre o teste e pontue 0 ponto</p> <p>. Teste não completado ou não realizado ☐ Encerre o teste e pontue 0 ponto</p> <p>B. Se o paciente não realizou o teste ou falhou, marque o motivo:</p> <p>1) Tentou, mas não conseguiu.</p> <p>2) O paciente não consegue levantar-se da cadeira sem ajuda.</p> <p>3) Não tentou, o avaliador julgou inseguro.</p> <p>4) Não tentou, o paciente sentiu-se inseguro.</p> <p>5) O paciente não conseguiu entender as instruções.</p> <p>6) Outros (Especifique) _____.</p> <p>7) O paciente recusou participação.</p>	

TESTE DE LEVANTAR-SE DA CADEIRA CINCO VEZES			
Instruções para o Avaliador	Instruções para o Paciente		
	Agora o(a) Sr(a). se sente seguro para levantar-se da cadeira completamente cinco vezes, com os pés bem apoiados no chão e sem usar os braços?		
1. Demonstre e explique os procedimentos.	<p>Eu vou demonstrar primeiro. Depois o(a) Sr(a). fará o mesmo.</p> <p>a) Por favor, levante-se completamente o mais rápido possível cinco vezes seguidas, sem parar entre as repetições.</p> <p>b) Cada vez que se levantar, sente-se e levante-se novamente, mantendo os braços cruzados sobre o peito.</p> <p>c) Eu vou marcar o tempo com um cronômetro.</p>		
2. Quando o paciente estiver sentado, adequadamente, como descrito anteriormente, avise que vai disparar o cronômetro, dizendo:	"Preparar, já!"		
<p>3. Conte em voz alta cada vez que o paciente se levantar, até a quinta vez.</p> <p>4. Pare se o paciente ficar cansado ou com a respiração ofegante durante o teste.</p> <p>5. Pare o cronômetro quando o paciente levantar-se completamente pela quinta vez.</p> <p>6. Também pare:</p> <ul style="list-style-type: none"> . Se o paciente usar os braços . Após um minuto, se o paciente não completar o teste. . Quando achar que é necessário para a segurança do paciente. <p>7. Se o paciente parar e parecer cansado antes de completar os cinco movimentos, pergunte-lhe se ele pode continuar.</p> <p>8. Se o paciente disser "Sim", continue marcando o tempo. Se o participante disser "Não", pare e zere o cronômetro.</p>			
<p>RESULTADO DO TESTE LEVANTAR-SE DA CADEIRA CINCO VEZES</p> <p>A. Levantou-se as cinco vezes com segurança: Sim ☐ Não ☐</p> <p>B. Levantou-se as 5 vezes com êxito, registre o tempo: ____:____:____ seg.</p> <p>C. Se o paciente não realizou o teste ou falhou, marque o motivo:</p> <p>1) Tentou, mas não conseguiu</p> <p>2) O paciente não consegue levantar-se da cadeira sem ajuda</p> <p>3) Não tentou, o avaliador julgou inseguro</p> <p>4) Não tentou, o paciente sentiu-se inseguro</p> <p>5) O paciente não conseguiu entender as instruções</p> <p>6) Outros (Especifique): _____</p> <p>7) O paciente recusou participação.</p>			
PONTUAÇÃO DO TESTE DE LEVANTAR-SE DA CADEIRA			
<p>O participante não conseguiu levantar-se as 5 vezes ou completou o teste em tempo maior que 60 seg: ☐ 0 ponto</p> <p>Se o tempo do teste for 16,70 segundos ou mais: ☐ 1 ponto</p> <p>Se o tempo do teste for de 13,70 a 16,69 segundos: ☐ 2 pontos</p> <p>Se o tempo do teste for de 11,20 a 13,69 segundos: ☐ 3 pontos</p> <p>Se o tempo do teste for de 11,19 segundos ou menos: ☐ 4 pontos</p>			
<table style="width: 100%;"> <tr> <td style="width: 50%; vertical-align: top;"> <p>PONTUAÇÃO COMPLETA PARA A VERSÃO BRASILEIRA DA SHORT PHYSICAL PERFORMANCE BATTERY - SPPB</p> </td> <td style="width: 50%; vertical-align: top;"> <p>1. Pontuação total do teste de equilíbrio: _____ pontos</p> <p>2. Pontuação do teste de velocidade de marcha: _____ pontos</p> <p>3. Pontuação do teste de levantar-se da cadeira: _____ pontos</p> <p>4. Pontuação total: _____ pontos (some os pontos acima).</p> </td> </tr> </table>		<p>PONTUAÇÃO COMPLETA PARA A VERSÃO BRASILEIRA DA SHORT PHYSICAL PERFORMANCE BATTERY - SPPB</p>	<p>1. Pontuação total do teste de equilíbrio: _____ pontos</p> <p>2. Pontuação do teste de velocidade de marcha: _____ pontos</p> <p>3. Pontuação do teste de levantar-se da cadeira: _____ pontos</p> <p>4. Pontuação total: _____ pontos (some os pontos acima).</p>
<p>PONTUAÇÃO COMPLETA PARA A VERSÃO BRASILEIRA DA SHORT PHYSICAL PERFORMANCE BATTERY - SPPB</p>	<p>1. Pontuação total do teste de equilíbrio: _____ pontos</p> <p>2. Pontuação do teste de velocidade de marcha: _____ pontos</p> <p>3. Pontuação do teste de levantar-se da cadeira: _____ pontos</p> <p>4. Pontuação total: _____ pontos (some os pontos acima).</p>		

ANEXO H

LISTA DE REFERÊNCIAS EXAMES LABORATORIAIS

Acido Fólico:	>5,38 ng/ml
Homocisteína:	5 a 12 Mmol/L
Vit B12:	211 a 911 pg/ml
TSH:	0,25 a 5,0 MIU/ml
DHEA:	Homem: 2,5 - 12,5 ng/ml Mulher idosa: 0,5 - 5,0 ng/ml
Testosterona Total:	Pós menopausa: 8,0 - 35,0 ng/dL
PCR Ultra Sensível:	>3,0: Alto Risco Preditivo p/ DCV <1,0: baixo Risco Preditivo p/ DCV
TNF-alfa:	VN: <8,1 pg/ml
IL-6:	VN: <3,4 pg/ml
25-OH VITD:	VN: >30 ng/ml
Insulina:	VN: até 30 uIU/ml
HOMA-IR:	VN: <3,4
QUICKI:	VN: >0,34

ANEXO DE PUBLICAÇÃO

Cardiovascular risk factors and inflammatory activity among centenarians with and without dementia

Short title: Centenarians with or without dementia

Paulo de O. Duarte, Mariana G. F. Duarte, Anderson Pelichek, Karina Pfrimer, Eduardo Ferriolli, Julio C. Moriguti, Nereida K. C. Lima.

Division of General Internal Medicine and Geriatrics. Internal Medicine Department. Ribeirão Preto Medical School. University of São Paulo. Ribeirão Preto, SP, Brazil.

Conflicts of interest: None

Corresponding author:

Nereida Kilza da Costa Lima - Address: Rua Mariano Casadio, 275, Jardim Canadá- Ribeirão Preto - SP, 14024-360 - Brazil. E-mail: nereida@fmrp.usp.br

De: Archives of Gerontology and Geriatrics" <AGG@elsevier.com>

Para: nereida@fmrp.usp.br

Enviadas: Quinta-feira, 30 de Julho de 2015 6:56:18

Assunto: Editor handles AGG-D-15-00370

Ms. Ref. No.: AGG-D-15-00370

Title: Cardiovascular risk factors and inflammatory activity among centenarians with and without dementia

Archives of Gerontology and Geriatrics

Dear Prof. NEREIDA K.C. LIMA,

Your submission "Cardiovascular risk factors and inflammatory activity among centenarians with and without dementia" will be handled by Editor in Chief John M Starr.

You may check the progress of your paper by logging into the Elsevier Editorial System as an author at <http://ees.elsevier.com/agg/>.

Enter these login details:

Your username is: nereida@fmrp.usp.br

If you need to retrieve password details, please go to:

http://ees.elsevier.com/AGG/automail_query.asp.

Thank you for submitting your work to this journal.

Kind regards,

Elsevier Editorial System

Archives of Gerontology and Geriatrics

Abstract

Objectives: Centenarians are part of the population segment that most grows in the world. The determinants of this exceptional longevity, especially regarding individuals with maintained cognition and functionality, are multifactorial and currently poorly understood. The objective of the present study was to assess cardiovascular risk factors and inflammatory markers among centenarians with and without dementia syndrome.

Methods: Thirty-three volunteers were selected for the study in a city with 59 centenarians identified in the 2010 Census. The volunteers were evaluated at home by Comprehensive Geriatric Assessment. General laboratory exams were performed and cardiovascular risk and inflammatory activity markers were determined. **Results:** Mean subject age was 101 ± 2 years, and 82% were women. Assessment of dementia syndrome revealed that 36.4% of the centenarians had preserved cognition. The centenarians with dementia had lower schooling ($p < 0.01$), lower body mass index ($p = 0.02$) and higher homocysteine levels ($p < 0.01$), and tended to have a lower systolic blood pressure ($p = 0.05$). Regarding the markers of inflammatory activity, demented subjects had high levels of interleukin-6 ($p < 0.01$), high-sensitivity C-reactive protein ($p = 0.02$), and erythrocyte sedimentation rate ($p = 0.01$) and lower albumin levels ($p = 0.02$) compared to centenarians without dementia. **Conclusions:** Centenarians with preserved cognition had a better nutritional status, lower homocysteinemia, a tendency to higher blood pressure and a lower inflammatory activity compared to demented subjects of the same age and from the same community.

Key-words: centenarians; dementia syndrome; cardiovascular risk factors; inflammatory markers

Introduction

Centenarians are individuals who reach one-hundred years or more, i.e., subjects who live 20 years more than the mean life expectancy of the population of developed countries and 25 years more than the life expectancy of the population of developing countries. They belong to the population segment that most grows in the world, with 3.8 million elderly individuals in this age range being projected to exist in the world up to the first half of this century (World population projections: the 2000 revision, United Nations). The determinants of exceptional longevity are multifactorial and involve complex processes most of which are not fully understood.

It is well known that the $\epsilon 4$ allele of apolipoprotein E (APOE-4) increases the risk of cardiovascular diseases and Alzheimer's disease. This allele has been detected at lower frequency in nonagenarians and centenarians, suggesting that individuals who bear it do not live as long as those who do not bear it. In contrast, the frequency of the $\epsilon 2$ allele is increased in long-lived individuals and may have a protective effect against cardiovascular diseases and Alzheimer's disease (Schachter et al, 1994).

It has been demonstrated that up to 30% of centenarians have excellent cognitive ability. In addition, the time of functional disability of these individuals is the lowest possible one (Christensen et al, 2008).

Among the markers of cardiovascular risk, high homocysteine levels have been associated with worse cognition among elderly women (Almeida, 2004). Tabet et al (2006), in contrast, did not detect any relationship between plasma homocysteine and neuropsychiatric symptoms in Alzheimer's disease. Higher blood pressure levels during middle age have been associated with a higher risk of dementia with advancing age (Farmer et al, 1990; Launer et al, 1995). It has been debated, however, whether higher

blood pressure may even have a protective effect among the very elderly by maintaining brain perfusion (Richmond, 2011).

Inflammatory processes seem to be linked to the pathogenesis of Alzheimer's disease (Cunningham et al, 2009; Holmes et al, 2011). Several markers of inflammatory activity such as IL-6 and TNF- α have been associated with neuropsychiatric symptoms and functionality in Alzheimer's disease, (Hall et al, 2013). Elevated high-sensitivity C-reactive protein (hs-CRP) has been related to a higher risk of cardiovascular accidents, coronary disease and cognitive deficit (Pearson et al, 2013).

On the other hand, very elderly women with excellent functionality showed higher IL-6 levels associated with a lower risk for dementia (Metti et al, 2014). When this finding was compared to the results of studies conducted on younger elderly subjects, opposite results were obtained, leading to the question of whether the effect of inflammation on dementia may have a smaller role in the very elderly.

To our knowledge, few studies have assessed thus far the markers of cardiovascular risk and inflammatory activity in centenarians with and without dementia (Richmond et al, 2011; Bruunsgaard et al., 1999). A better knowledge of the differences existing between individuals who maintain cognition up to 100 years of age or more and those of the same age who present dementia syndrome may be of help in understanding the dementia of the very elderly.

Methods

A population-based cross-sectional study was conducted on centenarians residing in the city of Ribeirão Preto, São Paulo, Brazil. The study was approved by the Research Ethics

Committee of the University Hospital, Faculty of Medicine of Ribeirão Preto, University of São Paulo (09/04/2012, protocol nº 903/2012).

This was a convenience sample based on the objective of assessing the largest possible number of centenarians detected. According to the 2010 Census (IBGE), 59 individuals aged 100 years or older resided in this city. The participants were detected using data banks existing in the public and private health systems. Forty-one centenarians were detected, but 4 refused to participate, 2 had no documented proof of age, and 2 died before data collection. Thus, we assessed 33 centenarians, corresponding to 55.9% of the total.

All patients were evaluated at home since many of them had limited mobility, thus avoiding discomfort for them and their caregivers and increasing participation in the study.

On the occasion of the first visit, the volunteers and/or their legal representatives were informed about the nature of the study and about the clinical and laboratory tests to which the subjects would be submitted and gave written consent to participate in the study.

The chronological age of the subjects was confirmed with the presentation and verification of at least one original document such as a Birth Certificate, Baptism Certificate or Marriage Certificate. The absence of documented proof of age and the presence of acute signs and symptoms of disease were the only exclusion criteria.

Two additional visits were made for the collection of clinical data and of a blood sample.

All subjects were submitted to Comprehensive Geriatric Assessment (CGA) with emphasis on cognitive assessment. Blood pressure was measured with a Tycos aneroid

sphygmomanometer in the sitting position whenever possible, three times on the right arm and three times on the left arm. The mean value obtained for the right arm was used since there was no significant difference in pressure between limbs. Weight was measured with the subjects wearing light clothing and no shoes, preferably under fasting conditions and

with an empty bladder, using a G-tech digital scale, glass 3 control model, with a capacity of 180 kg. In case of subject disability, weight was estimated using the equations of Chumlea et al (1988). Body height was measured as the distance from the vertex to the plantar region using a stadiometer consisting of a vertical inextensible bar graduated every 0.5 cm. For bedridden patients, the equations of Chumlea et al (1985) were used to estimate height starting from knee level. The body mass index was also calculated for each subject.

The presence of frailty criteria was assessed by evaluating 5 parameters described by Fried et al (2001). Persons with three or more of these characteristics were classified as frail and persons with one or two characteristics as pre-frail.

We applied the Mini-Mental State Examination (MMSE) (Folstein et al, 1975; Brucki et al, 2003), an exam widely used to screen for dementia with good inter-rater reproducibility: the Animal Fluency Test (Long et al, 2015), and the Clock Test (Ueda et al, 2002). The diagnosis of dementia was based on the dementia syndrome criteria of the DSM-IV (1994). Blood samples were collected after a 10 hour fast for the following exams: blood count, creatinine, total calcium, TSH, vitamin B12, folic acid, homocysteine, glycemia, insulinemia, lipid profile, albumin, high-sensitivity C-reactive protein (hs-CRP), alpha-1-acid glycoprotein, blood sedimentation rate, interleukin 6, and TNF-alpha. Homeostasis Model Assessment – Insulin Resistance (HOMA-IR) was calculated from fasting glycemia and insulinemia values (Matthews et al, 1985).

The subjects were divided into groups with the presence or absence of dementia syndrome, which were compared by the nonparametric Mann-Whitney test, with the level of significance set at 5%.

Results

The centenarians studied, 27 women and 6 men, were 101 ± 2 years old. Frailty syndrome was identified in all demented subjects and in 75% of non-demented subjects, with all others being pre-frail.

The centenarians were divided into groups in terms of the presence or absence of dementia syndrome, with 36.4% of the population having no dementia. The general data of the two subgroups are listed in Table 1.

Table 1: Characteristics of the centenarians in the groups with and without dementia.

	Demented (n=21)			Nondemented (n=12)			p
	Min	Med	Max	Min	Med	Max	
Age (years)	100	100	109	100	100	102	0.16
Schooling (years)	1	1	4	2	2	4	<0.01
MMSE (points)	0	6	19	19	22.5	28	<0.01
AFT (points)	0	1	10	4	18	14	<0.01
Clock test (points)	0	0	8	0	4.5	9	<0.01

MMSE: Mini-Mental State Examination, **AFT:** Animal Fluency Test, **Min:** minimum value, **Med:** median, **Max:** maximum value

It can be seen that age did not differ between groups and that the group with dementia had lower schooling. Table 2 lists some general exams routinely requested for the assessment of dementia.

Table 2: General laboratory exams applied to centenarians with and without dementia.

	Demented			Nondemented			p
	Min	Med	Max	Min	Med	Max	
Hemoglobin (g/L)	9.9	12.3	15.2	8.1	11.9	15.1	0.59
Creatinine (mg/dL)	0.8	1.4	2.0	0.9	1.3	2.0	0.34
Calcium (mg/dL)	8.0	9.1	9.8	8.6	9.7	9.9	0.03
TSH (μ UI/mL)	0.2	1.6	215.7	0.4	1.7	4.8	0.86
Vitamin B12 (pg/mL)	176	434	1298	326	415	755	0.58
Folic Acid (ng/mL)	3.9	7.6	14.9	3.9	10.0	28.4	0.04

TSH: thyroid-stimulating hormone, Min: minimum value, Med: median, Max: maximum value

Regarding the routine tests for dementia syndrome, calcium levels were lower in the demented group, although the median value was within normal limits. One of the demented subjects had a very high TSH level, with hypothyroidism possibly being a causal factor of dementia. Folic acid values differed between groups but only 3 elderly subjects in the group with dementia and 1 subject in the group without dementia had lower than normal values. Several cardiovascular risk parameters are listed in Table 3.

Table 3: Cardiovascular risk factors among centenarians with and without dementia.

	Demented			Nondemented			p
	Min	Med	Max	Min	Med	Max	
SBP (mmHg)	93	129	240	127	144	183	0.05
DBP (mmHg)	55	67	90	21	70	89	0.45
BMI (kg/m ²)	16.2	19.7	41.4	19.1	23.1	27.1	0.02
Total Chol (mg/dL)	95	163	222	133	178	211	0.66
HDL (mg/dL)	32	45	64	39	51	72	0.09
LDL (mg/dL)	44	101	142	70	98	128	1.00
TG (mg/dL)	39	109	189	66	96	156	0.47
Glucose (mg/dL)	62	78	142	71	90	116	0.20
Insulin (μUI/mL)	2.1	5.9	13.6	2.9	8.0	38.0	0.04
HOMA-IR	0.5	1.7	7.9	0.3	1.2	1.6	0.33
Homocystein (mmol/L)	14.5	23.7	46.8	12.0	18.2	26.6	<0.01

SBP: systolic blood pressure, DBP: diastolic blood pressure, BMI: body mass index, Chol: cholesterol, HDL: high density lipoprotein, LDL: low density lipoprotein, TG: triglycerides, HOMA-IR: Homeostasis Model Assessment – Insulin Resistance, Min: minimum value, Med: median, Max: maximum value.

Comparison of the various cardiovascular risk factors revealed that body mass index (BMI) was lower in the group with dementia, in which 68% of the individuals were outside the normal range and 63% had low weight. In contrast, in the group without dementia, only 20% of subjects had a value below 22 kg/m². Insulinemia was higher in the group without dementia, but only two centenarians had values above normal levels. Homocysteine levels were higher in the group with dementia although the levels were high in both groups.

Regarding inflammatory activity, the groups differed significantly in interleukin 6 ($p<0.01$) (Figure 1), hs-CRP ($p=0.02$) (Figure 2) and albumin levels and erythrocyte sedimentation rate (ESR) (Table 4), indicating the presence of a lower inflammatory status among cognitively preserved than demented subjects. Albumin levels (median) were within normal limits in both groups and ESR was high in both. No difference in TNF alpha, hs-CRP or alpha-1 glycoprotein was observed between groups.

Table 4: Markers of inflammatory activity among centenarians with and without dementia.

	Demented			Nondemented			p
	Min	Med	Max	Min	Med	Max	
TNF α (pg/mL)	5.7	9.5	35.4	4.0	8.2	12.6	0.18
α -1-glycoprotein (mg/dL)	53	99	165	67	96	123	0.67
ESR 1 ^a h (mm/h)	4	41	90	1	25	50	0.01
Albumin (g/dL)	3.0	3.8	4.3	3.1	4.2	4.6	0.02

TNF α : tumor necrosis factor alpha, ESR: erythrocyte sedimentation rate (first hour); hs-CRP: high-sensitivity C-reactive protein, Min: minimum value, Med: median, Max: maximum value.

Discussion

We observed that 36.0% of the centenarian population studied, representing more than 50% of the centenarians living in a medium-sized city, had preserved cognition, a result similar to that reported in other studies (Hazra et al, 2015). The division into demented and nondemented subjects was well established by the difference in score for the tests performed (MMSE, Animal Fleuncy Teste and Clock test). The group without dementia had higher schooling than the group with dementia despite the low general schooling of the

population studied. The association of lower schooling with dementia has already been extensively detected (Xu et al, 2015).

The type of dementia of the elderly subjects with dementia syndrome was not determined since no brain imaging was performed, a procedure that would have required moving the subjects from their home to secondary or tertiary care centers. However, some potentially reversible causes were investigated and one case of hypothyroidism was identified, possibly involved in cognitive loss. Three demented subjects showed reduced folic acid levels.

Regarding cardiovascular risk factors, higher blood pressure during advanced age has not yet been defined as a risk or protective effect for cognition. A lower MMSE score was observed in patients with associated Alzheimer's disease and hypertension compared to patients with Alzheimer's disease and normal blood pressure (Barnes et al, 2011). On the other hand, diastolic blood pressure below 70 mmHg was associated with a higher risk of dementia (Qiu et al, 2005). Poortvliet et al (2013) reported that lower blood pressure was associated with a higher mortality risk among elderly subjects older than 85 years. Thus, the benefit of reducing blood pressure among the very elderly in order to prevent dementia has not been defined. In the present study, the diastolic blood pressure values did not differ between groups, although the systolic blood pressure tended to be higher in the group with preserved cognition, this possibly being a protective factor in terms of cerebral perfusion among elderly subjects with more hardened arteries.

High cholesterol has been associated with more neuropsychiatric symptoms in patients with Alzheimer's disease, especially men, when a 200 mg/dL cut-off was used (Hall et al, 2013). Another study reported that high cholesterol was an important predictive factor of the progression of Alzheimer's disease (Samtani et al, 2012). Among patients with

Alzheimer's disease, greater dyslipidemia was associated with lower MMSE and Clinical Dementia Rating scores (Lobanova & Qureshi, 2014). In the current study we detected no difference in lipids between the two groups.

We detected no difference in insulin resistance between demented and nondemented subjects. Previous studies on non-centenarian elderly subjects have shown an association between insulin resistance and dementia (de la Monte, 2009; Kim & Feldman, 2015).

Among the present centenarians, it was not surprising to observe that median HOMA-IR values were normal in both groups, considering that the weight of most subjects was low or that their BMI was within normal limits.

High homocystein levels are neurotoxic and have been found to be associated with lower grey matter thickness in grouped individuals with Alzheimer's disease, with mild cognitive impairment and healthy (Madsen et al, 2015). Elevated homocysteine is also associated with worse cardiovascular health (Perry et al, 1995), which in turn is associated with greater cerebral atrophy in the temporal and frontal regions (Oulhaj et al, 2010). We detected higher homocysteine levels in the group with dementia, although both groups showed high values, possibly due to an effect of aging itself.

Aging, per se, is accompanied by cytokine deregulation, with an increase of proinflammatory cytokines and a reduction of anti-inflammatory ones causing a maintained status of low-intensity inflammation (Michaud et al, 2013). In the elderly population, high hs-CRP, TNF- α and IL-6 levels are independent factors for higher risk of cardiovascular and cerebrovascular events (Harris et al, 1999; Volpato et al, 2001; Tracy et al, 1997; Cesari et al, 200; Vasan et al, 2003).

Changes in inflammatory cytokines may be involved in the pathogenesis of neurodegenerative diseases such as Alzheimer's disease (Akiyama et al, 2000). In a post-

mortem study, many proinflammatory cytokines were detected in the areas close to the beta-amyloid deposits in the brain of patients with Alzheimer's disease. When chronically produced, cytokines are believed to injure the neuronal cells, possibly increasing the production of beta-amyloid peptides.

In a meta-analysis of seven studies with 5,717 participants and 746 cases of all cause dementia, increased hs-CRP levels were associated with a 45% higher risk of dementia and high IL-6 levels increased the risk by 32% (Koyama et al, 2013). In the current study, IL-6 and hs-CRP levels were higher in demented subjects and their median levels were normal among the subjects with preserved cognition. Trollor et al (2012) detected inflammatory markers related to cognitive deficit among community elderly individuals regardless of depression, cardiovascular or metabolic risk factors, or $\epsilon 4$ genotype. IL-6 levels were found to be higher in septuagenarians with Alzheimer's disease than in septuagenarians without the disease (Maes et al, 1999). In some studies assessing individuals with mild to moderate Alzheimer's disease, higher IL-6 and TNF α levels were detected compared to healthy individuals (Bruunsgaard et al, 1999; Alvarez et al, 1996), although other studies did not detect this relationship (Ravaglia et al, 2007; Angelis et al, 1998).

High TNF α levels were detected in the cerebrospinal fluid (Tarkowski et al, 2003) and in the plasma (Bermejo et al, 2008) of patients with Alzheimer's disease compared to controls. However, we did not detect differences in TNF α levels between centenarians with and without dementia.

Albumin levels are reduced with age and were also found to be lower among elderly subjects with Alzheimer's disease than in nondemented subjects (Maes et al, 1999). We detected similar results among centenarians and we also detected a higher ESR among subjects with dementia syndrome.

In conclusion, although the number of centenarians recruited was small, they adequately represented the population of a medium-sized city. Centenarians without dementia had greater schooling, considered to be a protective factor. Regarding the markers of cardiovascular risk, systolic blood pressure tended to be higher among the individuals with preserved cognition, with low weight and higher homocysteine levels being observed in the centenarians with dementia.

There was a greater inflammatory status among demented elderly subjects with higher levels of IL-6, hs-CRP and ERS. Thus, even among centenarians, greater inflammation may be related to worse cognition, a fact that has been detected in younger elderly people.

Acknowledgements

This study was supported by the University of São Paulo (NAPENV) and by Foudation Support of São Paulo State's Research (FAPESP-MCT/CNPq-PRONEX - Process: 2011/50768-7).

References

- Akiyama H, Barger S, Barnum S, et al (2000). Inflammation and Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*, 21:383-421.
- Almeida OP, Lautenschlager N, Flicker L, Leedman P, Vasikaran S, Gelavis A, Ludlow J (2004). Association between homocysteine, depression, and cognitive function in community-dwelling older women from Australia. *J Am Geriatr Soc.*,52(2):327-328.
- Alvarez XA, Franco A, Fernandez-Novoa L, Cacabelos R (1996). Blood levels of histamine, IL-1 beta, and TNF-alpha in patients with mild to moderate Alzheimer disease. *Mol Chem Neuropathol.*, 29:237-252.

Angelis P, Scharf S, Mander A, et al (1998). Serum interleukin-6 and interleukin-6 soluble receptor in Alzheimer's disease. *Neurosci Lett.*,244:106-108.

Barnes DE, Yaffe K (2011). The projected effect of risk factor reduction on Alzheimer's disease prevalence. *Lancet Neurol.*,10(9):819-828.

Bermejo P, Martín-Aragón S, Benedí J, Susín C, Felici E, Gil P, Ribera JM, Villar AM (2008). Differences of peripheral inflammatory markers between mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Immunol Lett.*, 117(2):198-202.

Brucki SM, Nitrini R, Caramelli P, Bertolucci PH, Okamoto IH (2003). Suggestions for utilization of the mini-mental state examination in Brazil. *Arq Neuro- psiquiatria*, 61(3B):777-781.

Bruunsgaard H, Andersen-Ranberg K, Jeune B, Pedersen AN, Skinhøj P, Pedersen BK (1999) A high plasma concentration of TNF-alpha is associated with dementia in centenarians. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.*, 54(7):M357-M364.

Cesari M, Penninx BW, Newman AB, et al (2003). Inflammatory markers and cardiovascular disease (The Health, Aging and Body Composition [Health ABC] Study). *Am J Cardiol.*,92:522-528.

Christensen K, McGue M, Petersen, I, Jeune B, Vaupel, J W (2008). Exceptional longevity does not result in excessive levels of disability. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 105, 13274–13279.

Chumlea WC, Guo S, Roche AF, Steinbaugh ML (1988). Prediction of body weight for the nonambulatory elderly from anthropometry. *J Am Diet Assoc.*, 88(5): 564-568.

Chumlea WC, Roche AF, Steinbaugh ML (1985). Estimating stature from knee height for persons 60 to 90 years of age. *J Am Geriatr Soc.*, 33(2): 116-120.

- Cunningham C, Campion S, Lunnon K, Murray CL, Woods JF, Deacon RM, Rawlins JN, Perry VH (2009). Systemic inflammation induces acute behavioral and cognitive changes and accelerates neurodegenerative disease. *Biol Psychiatry*.; 65(4):304–312.
- Diagnostic and statistical manual of mental disorders. 4th ed. (DSM-IV), (1994).
- de la Monte SM (2009). Insulin resistance and Alzheimer's disease. *BMB Rep.*, 42:475–481.
- Economos A, Wright CB, Moon YP, Rundek T, Rabbani L, Paik MC, Sacco RL, Elkind MS (2013). Interleukin 6 plasma concentration associates with cognitive decline: the northern Manhattan study. *Neuroepidemiology*., 40(4):253-259.
- Farmer ME, Kittner SJ, Abbott RD, Wolz MM, Wolf PA, White LR (1990). Longitudinally measured blood pressure, antihypertensive medication use, and cognitive performance: the Framingham Study. *J Clin Epidemiol*; 43: 475-480.
- Folstein MF, Folstein SE, McHugh PR (1975). "Mini-mental state". A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *J Psychiatr Res.*,12(3):189-198.
- Fried LP, Tangen CM, Walston J, Newman AB, Hirsch C, Gottdiener J, McBurnie MA (2001). Frailty in older adults: Evidence for a phenotype. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.*, 56(3):M146-156.
- Halla JR, April R. Wiechmanna AR, Leigh A. Johnson LA, Edwardsd M, et al, for the Texas Alzheimer's Research and Care Consortium (2013). Biomarkers of Vascular Risk, Systemic Inflammation and Microvascular Pathology and Neuropsychiatric Symptoms in Alzheimer's Disease. *Alzheimers Dis.*, 35(2): 363–371.
- Harris TB, Ferrucci L, Tracy RP, et al (1999). Associations of elevated interleukin-6 and Creactive protein levels with mortality in the elderly. *Am J Med.*, 106:506-512.

- Hazra NC, Dregan A, Jackson S, Gulliford MC (2015). Differences in Health at Age 100 According to Sex: Population-Based Cohort Study of Centenarians Using Electronic Health Records. *J Am Geriatr Soc.* [Epub ahead of print].
- Holmes C, Cunningham C, Zotova E, Culliford D, Perry VH (2011). Proinflammatory cytokines, sickness behavior, and Alzheimer disease. *Neurology.* 2011; 77(3):212-218.
- Kim B, Feldman EL (2015). Insulin resistance as a key link for the increased risk of cognitive impairment in the metabolic syndrome. *Exp Mol Med.* [Epub ahead of print].
- Koyama A, O'Brien J, Weuve J, Blacker D, Metti AL, Yaffe K (2013). The role of peripheral inflammatory markers in dementia and Alzheimer's disease: a meta-analysis. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.*, 68(4):433-440.
- Launer LJ, Masaki K, Petrovitch H, Foley D, Havlik RJ (1995). The association between midlife blood pressure levels and late-life cognitive function. The Honolulu-Asia Aging Study. *JAMA.*, 274(23):1846-1851.
- Lobanova I, Qureshi AI (2014). The association between cardiovascular risk factors and progressive hippocampus volume loss in persons with Alzheimer's disease. *J Vasc Interv Neurol*, 7:52-55.
- Long LS, Wolpaw JT, Leung JM (2015). Sensitivity and specificity of the animal fluency test for predicting postoperative delirium. *Can J Anaesth.*, 62(6):603-608.
- Madsen SK, Rajagopalan P, Joshi SH, Toga AW, Thompson PM, the Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative (ADNI)(2015). Higher homocysteine associated with thinner cortical gray matter in 803 participants from the Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. *Neurobiol Aging.*, 36: S203-S210.

- Maes M, DeVos N, Wauters A, Demedts P, Maurits VW, Neels H, et al (1999). Inflammatory markers in younger vs elderly normal volunteers and in patients with Alzheimer's disease. *J Psychiatr Res.*, 33(5):397-405.
- Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC (1985). Homeostasis model assessment: insulin resistance and B-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia*, 28:412-419.
- Meti AL, Yaffe K, Boudreau RM, Ganguli M, Lopez OL, Stone KL, Cauley JA (2014). Change in inflammatory markers and cognitive status in the oldest-old women from the Study of Osteoporotic Fractures. *J Am Geriatr Soc.*, 62(4):662-666.
- Michaud M, Balardy L, Moulis G, Gaudin C, Peyrot C, Vellas B, Cesari M, Nourhashemi F (2013). Proinflammatory cytokines, aging, and age-related diseases. *J Am Med Dir Assoc.*, 14(12):877-882.
- Oulhaj A, Refsum H, Beaumont H, Williams J, King E, Jacoby R., Smith AD (2010). Homocysteine as a predictor of cognitive decline in Alzheimer's disease. *Int J Geriatr Psychiatry*, 25: 82-90.
- Pearson TA, Mensah GA, Alexander RW, et al (2003). Markers of inflammation and cardiovascular disease: application to clinical and public health practice: a statement for healthcare professionals from the Centers for Disease Control and Prevention and the American Heart Association. *Circulation.*, 107(3):499-511.
- Perry IJ, Refsum H, Morris RW, Ebrahim SB, Ueland PM, Shaper AG (1995). Prospective-study of serum total homocysteine concentration and risk of stroke in middle-aged British men. *Lancet*, 346:1395-1398.

-
- Poortvliet RK, Blom JW, de Craen AJ, Mooijaart SP, Westendorp RG, Assendelft WJ, et al (2013). Low blood pressure predicts increased mortality in very old age even without heart failure: the Leiden 85-plus Study. *Eur J Heart J*, 15:528-533.
- Qiu C, Winblad B, Fratiglioni L (2005). The age-dependent relation of blood pressure to cognitive function and dementia. *Lancet Neurol.*, 4(8):487-499.
- Ravaglia G, Forti P, Maioli F, et al (2007). Blood inflammatory markers and risk of dementia: The Conselice Study of Brain Aging. *Neurobiol Aging.*, 28:1810-1820.
- Richmond R, Law J, Kay-Lambkin F (2011). Higher Blood Pressure Associated With Higher Cognition and Functionality Among Centenarians in Australia. *Am J of Hypertens*, 24(3):299-303.
- Samtani MN, Farnum M, Lobanov V, Yang E, Raghavan N, Dibernardo A, Narayan V (2012). Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. An improved model for disease progression in patients from the Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. *J Clin Pharmacol.*, 52(5): 629–644.
- Schachter F, Faure-Delanef L, Guenot F, et al. (1994). "Genetic associations with human longevity at the APOE-4 and ACE loci," *Nature Genetics*, vol. 6, no. 1, pp. 29-32.
- Tabet N, Rafi H, Weaving G, Lyons B, Iversen AS (2006). Behavioural and psychological symptoms of Alzheimer type dementia are not correlated with plasma homocysteine concentration. *Dement Geriatr Cogn Disord.*, 22(5-6):432-438.
- Tarkowski E, Liljeroth AM, Minthon L, Tarkowski A, Wallin A, Blennow K (2003). Cerebral pattern of pro- and anti-inflammatory cytokines in dementias. *Brain Res Bull.*, 61:255-260.

Tracy RP, Psaty BM, Macy E, et al (1997). Lifetime smoking exposure affects the association of C-reactive protein with cardiovascular disease risk factors and subclinical disease in healthy elderly subjects. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.*, 17:2167-2176.

Trollor JN, Smith E, Agars E, Kuan SA, Baune BT, Campbell L, Samaras K, Crawford J, Lux O, Kochan NA, Brodaty H, Sachdev P (2012). The association between systemic inflammation and cognitive performance in the elderly: the Sydney Memory and Ageing Study. *Age (Dordr.)*, 34(5):1295-1308.

Ueda H, Kitabayashi Y, Narumoto J, Nakamura K, Kita H, Kishikawa Y, Fukui K (2002). Relationship between clock drawing test performance and regional cerebral blood flow in Alzheimer's disease: a single photon emission computed tomography study. *Psychiatry Clin Neurosci.*, 56(1):25-29.

Vasan RS, Sullivan LM, Roubenoff R, et al (2003). Inflammatory markers and risk of heart failure in elderly subjects without prior myocardial infarction: The Framingham Heart Study. *Circulation*, 107:1486-1491.

Volpato S, Guralnik JM, Ferrucci L, et al (2001). Cardiovascular disease, interleukin-6, and risk of mortality in older women: The women's health and aging study. *Circulation*, 103:947-953.

World population projections: the 2000 revision. *Population Division Department of Economic and Social Affairs*, United Nations.

<http://www.un.org/spanish/esa/population/wpp2000h.pdf>

Xu W, Tan L, Wang HF, Tan MS, Tan L, Li JQ, Zhao QF, Yu JT (2015). Education and Risk of Dementia: Dose-Response Meta-Analysis of Prospective Cohort Studies. *Mol Neurobiol*. [Epub ahead of print].

Figure Legends

Figure 1: Box plot of interleukin-6 (IL-6) levels in centenarians with or without dementia syndrome.

Figure 2: Box plot of high-sensitivity C-reactive protein levels in centenarians with or without dementia syndrome.

Figure 1 **Figure 2**