

VIVIAN ROMANHOLI CORIA

**Investigação clínica na interpretação de achados genômicos
secundários em idosos com 80 anos ou mais.**

**Clinical data for interpretation of secondary genomic findings in
elderly people aged 80 or over.**

São Paulo

2021

VIVIAN ROMANHOLI CORIA

**Investigação clínica na interpretação de achados genômicos
secundários em idosos com 80 anos ou mais.**

**Clinical data for interpretation of secondary genomic findings in
elderly people aged 80 or over.**

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, para a obtenção de Título de Mestre em Aconselhamento Genético, na Área de Genética.

Orientadora: Prof^a Dr^a Mayana Zatz

Co-orientador: Prof. Dr. Michel Satya Naslavsky

São Paulo

2021

Ficha catalográfica elaborada pelo Serviço de Biblioteca do Instituto de Biociências da USP,
com os dados fornecidos pelo (a) autor (a) no formulário:
'<https://biblioteca.ib.usp.br/ficha-catalografica/src/ficha.php>'

Romanholi Coria, Vivian
Investigação clínica na interpretação de achados
genômicos secundários em idosos com 80 anos ou mais.
/ Vivian Romanholi Coria ; orientadora Mayana Zatz
; coorientador Michel Satya Naslavsky -- São Paulo,
2012.
52 p.

Dissertação (Mestrado) -- Instituto de
Biociências da Universidade de São Paulo. Programa
de Mestrado Profissional em Aconselhamento Genético
e Genômica Humana.

1. Envelhecimento. 2. Genômica. 3.
Funcionalidade. 4. Cognição. I. Zatz, Mayana,
orient. II. Satya Naslavsky, Michel, coorient. III.
Título.

Bibliotecária responsável pela catalogação:

Elisabete da Cruz Neves - CRB - 8/6228

A todos os participantes das pesquisas
e aos que valorizam a ciência,
por viabilizarem o progresso.

“Conheça todas as teorias, domine todas as técnicas,
mas ao tocar uma alma humana seja apenas outra alma humana.”

Atribuída a Carl Gustav Jung (1875-1961), psiquiatra e psicoterapeuta suíço.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, desejo agradecer à Prof^a Dr^a Mayana Zatz e ao Prof. Dr. Michel Naslavsky por aceitarem realizar a orientação de meu trabalho e estarem ao meu lado desde então.

Agradeço à coordenação do curso e a todos os docentes que nos acompanharam durante as disciplinas e os ambulatórios, por compartilharem conosco um grande bem, o conhecimento que adquiriram ao longo de suas vidas, e nos permitirem reunir o aprendizado necessário para completarmos nossa formação. Gostaria de recordar, também, de todos os professores que tive ao longo da vida. Cada um deles foi parte crucial da construção de quem sou. Sou grata a todos os funcionários do “Genoma”, como carinhosamente chamamos o nosso Centro de Estudos sobre o Genoma Humano e Células Tronco, por nos auxiliarem nos atendimentos realizados ao longo do projeto, trabalhando para que tudo corresse bem durante a estada dos voluntários ali.

Por falar em atendimentos, chega a vez de agradecer às estrelas do estudo, os idosos incríveis, pela disposição em contribuir com a pesquisa, por dividirem conosco suas experiências de vida, tão ricas, e a grande sabedoria que têm. Aos que seguem conosco e àqueles que já partiram, a nossa eterna gratidão por incentivarem e colaborarem com a ciência.

Expresso meu reconhecimento, em especial, à Prof^a Dr^a Lylyan Pimentel, a qual colaborou de forma imensurável com o Projeto 80mais; à aluna de iniciação científica Mariana Bardella, que apesar de estar no começo de sua carreira na ciência demonstrou extrema maturidade e profissionalismo ao colaborar em diversas etapas importantes deste trabalho e ao doutorando M. Sc. Frederico Monfardini pela contribuição fundamental na análise estatística do estudo.

Agradeço à minha turma querida, excelentes parceiras nessa jornada. M. Sc. Raíssa, deixo aqui uma homenagem especial por tanto aprendizado que tive ao seu lado, pelo contato frequente até os dias de hoje e a amizade que trouxemos para fora dos muros da Cidade Universitária. Aos amigos de infância, da Unifesp, de Rio Preto e do trabalho: jamais me esquecerei do apoio e força que sempre prestaram para que eu pudesse dar um passo a mais. À minha querida Luciene Di Santi Martins a gratidão pela leitura e revisão atentas, que enriqueceram esta dissertação.

À família, a estrutura maior, que me permitiu todas as realizações até hoje. Mãe, pai (*in memoriam*), marido, irmãos, cunhados, tias, tios, primas e primos vocês são o maior presente que a vida poderia ter me dado, nossa convivência fala por si só, não há palavras para registrar o tamanho de meu amor. À amada funcionária e amiga, Iraildes, declaro minha gratidão e respeito por cuidar de tudo em casa, enquanto eu me dedico ao trabalho e à pesquisa.

Aos pacientes sob meus cuidados e seus familiares, agradeço a confiança e por tudo que me ensinam diariamente.

Encerro desejando conforto a todas as pessoas que perderam alguém para a COVID-19 e que a ciência seja alívio, através das novas descobertas, para estes dias tão difíceis que temos enfrentado.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
1.1	Epidemiologia e impacto do envelhecimento populacional	11
1.2	Senescência X Senilidade	12
1.3	Impacto de doenças na cognição e na funcionalidade	13
1.4	Sequenciamento de Nova Geração (NGS) como ferramenta de detecção precoce de risco para doenças	14
1.5	Coortes “80+” e SABE	16
1.6	Aconselhamento genético	18
2	OBJETIVOS.....	20
3	CASUÍSTICA E MÉTODOS.....	21
3.1	Casuística	21
3.2	Aprovação por comitês de ética.....	21
3.3	Metodologias	21
3.3.1	Dados clínicos e epidemiológicos.....	21
3.3.2	Obtenção de amostras e análise molecular	23
3.3.3	Anotações e de filtragem de variantes	23
3.3.4	Estudo das variantes.....	25
3.3.5	Análise estatística.....	25
4	RESULTADOS.....	26
4.1	Achados sociodemográficos	26
4.2	Achados clínicos	27
4.2.1	História progressiva de comorbidades e eventos de saúde.....	27
4.2.2	Indicadores de fragilidade, declínio cognitivo e/ou funcional.....	28
4.2.3	Resultados relativos às avaliações cognitivas.....	29
4.2.4	Resultados de correlação entre funcionalidade e cognição.....	31
4.3	Achados genômicos	32
5	Discussão.....	34

5.1	Dados demográficos, clínicos, cognição e funcionalidade	34
5.2	Correlação de dados clínicos e moleculares	37
5.3	Aconselhamento genético	39
6	CONCLUSÕES.....	40
7	PERSPECTIVAS FUTURAS.....	41
8	REFERÊNCIAS	42
9	ANEXOS.....	48

RESUMO

ROMANHOLI-CORIA, V. **Investigação clínica na interpretação de achados genômicos secundários em idosos com 80 anos ou mais.** 2021. Dissertação de Mestrado em Aconselhamento Genético – Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2021.

A população brasileira enfrenta rápida e acentuada transição demográfica, com aumento expressivo no número de idosos, acompanhado dos respectivos impactos econômicos e sociais. Estudos voltados para os múltiplos aspectos da senescência e da senilidade são de interesse biológico e público, em particular aqueles que envolvam a identificação de fatores de risco para o envelhecimento patológico e sem qualidade de vida. O envelhecimento se constitui em uma cascata de eventos multifatoriais, dependente de fatores biológicos e ambientais, endógenos e exógenos, modificáveis e não modificáveis, sendo os seus aspectos genômicos uma área com potencial para auxílio na compreensão das particularidades deste processo. Este trabalho consiste em um braço de um conjunto de estudos colaborativos que se basearam em uma amostra de natureza representativa de idosos da cidade de São Paulo (coorte SABE, aproximadamente 1400 indivíduos) e de octogenários cognitivamente saudáveis (coorte “80+”, com 137 indivíduos). Tem como objetivo contribuir para a compreensão de fatores envolvidos no envelhecimento saudável. Nesta nova etapa acompanhamos os idosos voluntários da amostra “80+” que tiveram o genoma sequenciado e a cognição avaliada durante a primeira fase do projeto. Eles foram convidados a participar da coleta de novos dados demográficos e clínicos para ampliação do seu perfil de saúde global e cognitiva, por meio de resposta a um questionário, aplicação de escalas de funcionalidade e repetição das baterias de testes cognitivos. Através dos resultados do sequenciamento, foram pesquisadas variantes genômicas conhecidamente patogênicas em genes acionáveis associados a doenças de herança monogênica, para correlação com condições de saúde geral de seus portadores e discussão sobre a questão da penetrância e outros fatores relacionados à expressão ou não do gene. Por fim, discutiu-se a questão da investigação genética em indivíduos sem queixas primárias, o risco de identificação de variantes patogênicas e sua implicação para o participante e família na prática do aconselhamento genético.

Palavras-chave: envelhecimento, dados clínicos, genômica, funcionalidade, cognição.

ABSTRACT

ROMANHOLI-CORIA, V. **Clinical data for interpretation of secondary genomic findings in elderly people aged 80 or over.** 2021. Thesis (Master degree) – Biosciences Institute, University of São Paulo, São Paulo, 2021.

Brazilian population is facing a rapid and accelerated demographic transition, with a significant increase in the number of elderly people, accompanied by economic and social impacts. Studies focused on the multiple aspects of senescence and senility have biological and public interest, in particular those that involve the identification of risk factors for pathological aging and lack of quality of life. Aging involves a multifactorial cascade of events, dependent on biological endogenous and exogenous environmental factors, modifiable and non-modifiable, and its genomic aspects is an area with potential to aid in understanding the particularities of this process. This thesis consists in an arm of collaborative studies that were based on a representative sample of elderly people from the city of São Paulo (sample SABE, approximately 1400 independent) and cognitively healthy octogenarians (sample “80+”, with 137 people), and aims to contribute to the understanding the healthy aging. In this new phase, the elderly volunteers of the “80+” sample, who had their genome sequenced and their cognition assessed during the first stage of the project, were invited to participate in collection of new demographic and clinical data to expand knowledge of global health status and cognitive, by the answer to a questionnaire, application of functionality scales and repetition of the cognitive test batteries. Through the sequencing results, known pathogenic genomic variants in actionable genes associated with diseases of monogenic inheritance were searched, to correlate to the general health conditions of their carriers and discussion about penetration and other factors related to the gene expression or not. Finally, aspects of genetic research in individuals without primary complaints were discussed, especially about the risk of identifying pathogenic variants and their implication for the participant and his family in the practice of genetic counseling.

Keywords: aging, clinical data, genomics, functionality, cognition.

1 INTRODUÇÃO

1.1 Epidemiologia e impacto do envelhecimento populacional

A população mundial enfrenta rápida e acentuada transição demográfica, com consequente envelhecimento populacional acompanhado dos respectivos impactos econômicos e sociais. De acordo com os dados do *World Population Prospects: the 2019 Revision* (UNITED NATIONS, 2019), em 2050 uma em cada seis pessoas no mundo terá mais de 65 anos (16%), contrastando com uma em onze em 2019 (9%). No ano de 2018, pela primeira vez na história, o número de pessoas com 65 anos ou mais superou o número de crianças com menos de cinco anos de idade em todo o mundo. Nos próximos 30 anos há projeção de triplicar o número de pessoas com 80 anos ou mais, de 143 milhões em 2019 para 426 milhões. Seguindo a tendência mundial, estima-se que no Brasil a população idosa cresça nas próximas décadas: em 2043 espera-se que 25% da população tenha mais de 60 anos, enquanto a proporção de jovens, até 14 anos, será de apenas 16,3% (IBGE, 2018).

A dinâmica populacional descrita vem acompanhada de preocupações, especialmente no que tange às esferas econômica e social, dado que o avanço da idade pode culminar em dependência funcional e financeira do indivíduo. Na mesma medida em que a parcela da população economicamente ativa diminui, com a redução da natalidade e o aumento da expectativa de vida, a população idosa requer maiores investimentos públicos em saúde, aposentadorias e outros mecanismos de proteção social. A expectativa de vida no Brasil entre homens e mulheres cresce a cada censo. No entanto o aumento do número de anos vividos nem sempre vem acompanhado de qualidade de vida, a depender de diversos fatores prévios ao envelhecimento, como os cuidados com a saúde, hábitos de vida e condições socioeconômicas. A maior prevalência de doenças crônico-degenerativas nas populações idosas configura uma questão complexa, que requer intervenções multidimensionais, o reconhecimento precoce dos problemas e educação/ treinamento de profissionais, visando a evitar uma série de complicações em diferentes níveis (MARESOVA *et al*, 2019).

Tomando as fraturas de quadril como exemplo, geralmente ocorrem em decorrência de perda de massa óssea e muscular, que são, em si, processos de etiologia multifatorial. Estão frequentemente associadas a quedas, acometem mais as mulheres e estima-se que cerca de 18% da população mundial feminina terá uma lesão de quadril ao longo da vida. Além do dispêndio causado pelos custos diretos associados a esta condição, devido à necessidade de hospitalização, por vezes prolongada, e reabilitação subsequente, a fratura de quadril está

associada ao desenvolvimento de outras consequências negativas, como deficiências, depressão e piora das doenças cardiovasculares, gerando custos indiretos adicionais e piora da qualidade de vida (VERONESE & MAGGI, 2018). Ademais, há diversas externalidades negativas adicionais decorrentes de episódios como este, como a dependência de outra pessoa alocada com o papel de cuidador, a qual, em grande parte dos casos, é um membro da família que também poderá sofrer perda de proventos e até mesmo de liberdade, por precisar dedicar todo seu tempo aos cuidados com o idoso.

Assim, visando a acompanhar a transição da pirâmide etária, faz-se necessário que os grandes centros de pesquisa se voltem para os estudos dos múltiplos aspectos do envelhecimento, buscando elencar os principais fatores contribuintes para a maior expectativa de vida, com qualidade, e os principais fatores de risco envolvidos no envelhecimento patológico, tendo em vista minimizá-los. Neste sentido destaca-se o projeto SABE (Saúde, Bem-estar e Envelhecimento), inicialmente lançado em 1999/2000 pela Organização Pan-Americana de Saúde, no qual são colhidas informações sobre as condições de vida e saúde dos idosos (60 anos e mais) residentes em áreas urbanas de metrópoles, incluindo São Paulo, e realizadas reavaliações periódicas das coortes. Um dos objetivos é o de identificar os principais fatores relacionados ao declínio no estado de saúde e, assim, auxiliar na elaboração de políticas públicas para mitigá-los (LEBRÃO & DUARTE, 2003; LEBRÃO & LAURENTI, 2005).

Da mesma maneira, o campo da genética, que avançou substancialmente a partir do Projeto Genoma Humano, pode representar uma forma de se compreender os fatores de risco intrínsecos associados às condições de saúde e, também, ao próprio envelhecimento, fornecendo ferramentas para identificação precoce de condições que podem ser prevenidas ou tratadas antes de causarem lesões orgânicas permanentes.

1.2 Senescência X Senilidade

Em análise resultante de prática diária nos consultórios médicos, especialmente os de Geriatria, é possível identificar heterogeneidade de fenótipos prevalentes entre os idosos, os quais são conceitualmente multidimensionais. De forma simplificada, é possível classificar em grandes grupos que representam extremos de algumas dessas dimensões: o robusto- capaz de gerenciar sua vida de forma independente e autônoma, sem incapacidade funcional ou condição crônica de saúde associada a maior vulnerabilidade; e o frágil- com declínio funcional estabelecido e incapaz de gerenciar sua vida, em virtude da presença de incapacidades únicas ou múltiplas (MORAES, 2014).

Tal disparidade tem relação com os conceitos de senescência, resultante de uma combinação de alterações orgânicas, funcionais e psicológicas próprias do envelhecimento normal; e senilidade, relativa a modificações determinadas por afecções que frequentemente acometem a pessoa idosa e culminam no envelhecimento patológico. Ambos são ligados ao envelhecimento, no entanto, têm impactos muito diferentes sobre a saúde e a qualidade de vida. A senescência abrange as alterações produzidas no organismo de um ser vivo diretamente relacionadas à sua evolução no tempo, sem nenhum mecanismo de doença reconhecido, decorrentes de processos fisiológicos, não caracteriza doença, não reduz o tempo de vida ou funcionalidade e são comuns a todos os elementos da mesma espécie, com variações biológicas, como o embranquecimento dos cabelos, por exemplo. A senilidade, por outro lado, se sobrepõe à senescência, através de doenças que comprometem a qualidade de vida, não são comuns a todos os indivíduos em uma mesma faixa etária, e podem resultar em limitações funcionais, e até na morte (FREITAS *et al*, 2013; JACOB FILHO & SOUZA, 1994).

Diante do exposto, para melhora da sobrevida e da qualidade da vida humana, deve-se atuar sobre os fatores modificáveis, neste caso, aqueles ligados à senilidade. Estudos voltados para as doenças mais prevalentes nos idosos (crônico-degenerativas, cardíacas, vasculares, metabólicas e neoplásicas) são necessários para a melhor compreensão e prevenção do envelhecimento patológico, sendo o campo da genética uma das frentes de pesquisas neste sentido.

1.3 Impacto de doenças na cognição e na funcionalidade

Algumas condições clínicas, como a hipertensão, diabetes e insuficiência cardíaca, são frequentemente encontradas associadas a declínio cognitivo e demência (BIESSELS & DESPA, 2018; SANTOS *et al*, 2011; CANNON *et al*, 2017; TSABEDZE *et al*, 2021), sobretudo quando não são bem controladas e acompanhadas. Muitos de seus portadores desconhecem terem tais doenças, geralmente silenciosas em seus estágios iniciais e, quando procuram ajuda profissional, podem já apresentar algum grau de lesão em órgãos alvo, como coração, cérebro e rins. Estas condições de saúde são diretamente associadas à pior qualidade de vida em diferentes cenários de atenção à saúde, conforme mostram estudos (OLIVEIRA-CAMPOS *et al*, 2012; SILVA, 2017; MARINHO *et al*, 2019).

Assim, nota-se que a cascata do mau gerenciamento de doenças -diagnóstico tardio, falta de acompanhamento profissional, falta de conhecimento do doente sobre sua condição-

pode levar a consequências graves, como a instalação de demência e a perda de funcionalidade, caracterizando o processo que culmina no envelhecimento patológico.

1.4 Sequenciamento de Nova Geração (NGS) como ferramenta de detecção precoce de risco para doenças

As primeiras técnicas de sequenciamento de DNA têm uma história de mais de cinco décadas. Para que o primeiro genoma humano completo fosse sequenciado foram necessários cerca de 13 anos, fruto de um projeto bilionário que contou com vários grupos públicos e privados. O Projeto Genoma Humano contribuiu não apenas com o primeiro genoma de referência, mas também com avanços em métodos, incluindo novas técnicas de sequenciamento massivo paralelo. Cursou de maneira concomitante ao desenvolvimento na área da informática, com aumento na capacidade de armazenamento e processamento, bem como na redução de custos. Especificamente, com os avanços conquistados nos últimos anos, através de desenvolvimento tecnológico em biologia molecular, sistemas de automação, microfluídica, detecção (câmeras digitais capazes de detectar fluorescência em resoluções superiores) e bioinformática foi possível reduzir-se drasticamente o tempo e os custos para o sequenciamento massivo de DNA. Foram também desenvolvidos testes específicos com a síntese de painéis enriquecidos de genes clinicamente relevantes, tornando-o um método mais acessível, tanto no âmbito da pesquisa, e de menor custo na prática clínica. Neste sentido, destaca-se o desenvolvimento e aperfeiçoamento do sequenciamento de nova geração (do inglês, *Next Generation Sequencing-NGS*), método que permite a leitura massiva de milhares de fragmentos de DNA, com a precisão de identificar alterações em uma única base nitrogenada a partir de protocolos de bioinformática (MARDIS, 2008; KOBOLDT *et al*, 2013; KUMAR *et al*, 2019; McCOMBIE *et al*, 2019).

Tal técnica é uma das principais bases da medicina genômica, a qual, através da correlação entre fenótipo e genótipo, permite melhorar significativamente a taxa de diagnósticos de doenças, bem como possibilita o uso de ações preventivas e curativas antecipadamente, proporcionando uma prática clínica mais precisa e aplicada a cada indivíduo, levando-se em conta suas particularidades (WISE *et al*, 2019).

À medida em que novos genomas completos são sequenciados em diferentes populações, gera-se um aumento de informações em grandes bancos de dados genômicos disponíveis, além da identificação de novas variantes genéticas com potencial correlação a fenótipos clínicos, alguns associados a um único gene. Inúmeras variantes têm sido

identificadas ao longo dos anos de coleta e estudo de dados. No contexto de fenótipos com padrão Mendeliano de herança, particularmente doenças monogênicas (cuja manifestação é suficientemente explicada por alterações em um único gene), variantes podem ser classificadas de maneira sistemática com graus crescentes de patogenicidade, tendo como extremos o certamente benigno (variantes sem valor clínico individual para o fenótipo mendeliano) e o certamente patogênico (comprovadamente correlacionado com doença Mendeliana), de acordo com os *guidelines* da *American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG)* e da *Association for Molecular Pathology (AMP)*. A revisão mais recente deste documento foi publicada há 6 anos (RICHARDS *et al*, 2015).

Desde que o sequenciamento completo do genoma humano ou do exoma se tornaram mais acessíveis um dilema ético importante emergiu: reportar ou não os achados incidentais ou secundários. Isto é, quaisquer achados patogênicos de um determinado teste genético que não têm relação com a razão primeira do encaminhamento, mas pode apresentar-se como uma informação valiosa para toda uma família (CREMESP, 2016), com impacto direto na saúde dos indivíduos e sua prole. A conduta mais comumente aceita é comunicar sobre a possibilidade de se identificarem achados incidentais de valor clínico na consulta de aconselhamento genético pré-teste e assinalar a vontade do paciente, sobre ser notificado ou não da existência de tais achados, em termo de consentimento informado, livre e esclarecido. Neste contexto, as pesquisas envolvendo o sequenciamento de exomas e genomas completos têm implicações de relevância médica, dado que há a possibilidade de se identificar nos participantes os achados “incidentais” ou secundários.

Visando à padronização sobre quais genes e variantes deveriam ser reportadas, a ACMG também estabeleceu recomendações para guiar as decisões sobre reportar ou não os achados incidentais. A orientação inicial (GREEN *et al*, 2013) foi que, quando um laudo de sequenciamento de exoma ou genoma fosse emitido, uma lista mínima de 56 genes, considerados pela comunidade médica como clinicamente acionáveis, deveria ser analisada rotineiramente e relatada ao médico solicitante, o que pode vir a auxiliá-lo no contexto da história clínica e familiar do paciente, do exame físico e de outros testes laboratoriais. O grupo recomendou, também, que tais descobertas fossem relatadas sem buscar as preferências do paciente e da família e sem limitação relativa à idade do paciente. A justificativa para tal era que achados genômicos que pudessem estar relacionados às doenças que se manifestam no início da vida adulta, poderiam levar os familiares das crianças a ajudá-las a se prevenir mais cedo, bem como poderiam se prevenir também. Cabe ressaltar que esta lista mínima foi feita com base em condições de herança monogênica que permitem prevenção, controle ou cura e

que então, o diagnóstico precoce poderia trazer benefícios. Por outro lado, um debate realizado durante a Conferência da Sociedade Europeia de Genética Humana (ESHG) 2014 em Milão, Itália, terminou sem um voto conclusivo sobre relatar ou não os achados incidentais em genes clinicamente acionáveis e levantou a importância da discussão a nível nacional e europeu, a fim de desenvolver recomendações para lidar com tais achados (HEHIR-KWA *et al*, 2015).

Posteriormente a ACMG publicou novas recomendações (KALIA *et al*, 2017) após revisão do primeiro documento publicado, realizando alterações na nomenclatura, a começar pela denominação: achados incidentais passaram a ser chamados de achados secundários, uma vez que são encontrados a partir de outra queixa primária. Também foram modificados os critérios de inclusão e exclusão, com adição de quatro genes na lista e a remoção de um, restando 59 genes considerados de importância clínica devido à sua acionabilidade. Ademais, a questão sobre reportar o achado secundário ou não passou a ser discutida mais profundamente, levando o grupo a recomendar que as situações fossem analisadas dentro de um contexto, reservando-se os laboratórios a reportar apenas em casos em que, de fato, o achado fizesse diferença em relação à saúde futura do paciente e/ou familiares e estes tivessem optado por receber a informação, através do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Recentemente, em maio de 2021, a ACMG publicou dois documentos, com novas recomendações e uma lista revisada, acrescida de mais de dez genes, detalhando os achados secundários a serem reportados, denominada ACMG SF v.3.0 (MILLER *et al*, 2021a; MILLER *et al*, 2021b). Considerando-se o uso clínico do sequenciamento de genomas e exomas cada vez mais frequente, o grupo também decidiu que as recomendações e a lista de genes passariam a ser publicadas separadamente, sendo que a primeira será atualizada conforme necessário, em média a cada 3 a 4 anos, e a lista de genes será revisada anualmente, dado o aumento expressivo no número de genes da última lista (KALIA *et al*, 2017) para a atual (MILLER *et al*, 2021b).

1.5 Coortes “80+” e SABE

No Brasil, um dos centros pioneiros nos estudos sobre o envelhecimento foi o Centro de Pesquisas do Genoma Humano e Células-Tronco (CEGH-CEL); partiu da premissa de que dados genômicos de idosos podem contribuir para a interpretação da patogenicidade e penetrância de variantes associadas a doenças monogênicas, bem como para se estudar o envelhecimento saudável. Dentre os trabalhos, destacou-se o relatado na tese de doutorado “A contribuição de estudos populacionais em idosos saudáveis: base de dados genômicos, compreensão do envelhecimento e lateralidade cerebral” (NASLAVSKY, 2015), o qual deu

início, em 2010, ao acompanhamento da coorte denominada “80+”, que tinha como objetivo mais amplo recrutar octogenários com a cognição e a funcionalidade preservadas, elencar fatores genéticos e não genéticos envolvidos no envelhecimento saudável e construir um banco de dados genômicos de uma amostra da população brasileira. Em 2016, os genomas de 121 participantes desta coorte foram sequenciados e a interpretação dos resultados se inicia no presente estudo.

Além da coorte de octogenários, o CEGH-CEL e o Instituto de Biociências da USP fazem parte do projeto colaborativo com a Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo denominado “SABE - Saúde, Bem- Estar e Envelhecimento” (LEBRÃO & DUARTE, 2003; LEBRÃO & LAURENTI, 2005), o qual inclui um questionário extenso, contendo dados sociodemográficos e histórico de doenças, bem como medidas antropométricas e testes funcionais de pessoas com 60 anos de idade ou mais. Posteriormente, iniciou-se a coleta de amostras biológicas para exames laboratoriais e extração DNA genômico derivado de sangue periférico da coorte SABE, o qual foi realizado no CEGH-CEL. Os resultados dos primeiros sequenciamentos desta coorte deram origem ao conjunto de dados genômicos ‘SABE609’ (exomas sequenciados alinhados ao genoma de referência versão hg19), no qual 609 participantes deram início ao Arquivo Brasileiro On-line de Mutações (NASLAVSKY *et al*, 2017), que pode ser acessado através do *link* <http://abraom.ib.usp.br/>.

Dentre as contribuições do banco ABraOM para a genômica, está a identificação de variantes patogênicas com relevância clínica em 1,15% dos indivíduos do conjunto SABE609, de acordo com os *guidelines* do ACMG (KALIA *et al*, 2017), as quais foram correlacionadas com fenótipos clínicos auto-reportados.

Em 2020 foram depositados no ABraOM (Arquivo Brasileiro Online de Mutações) os dados de sequenciamento de genoma completo de 1171 idosos inscritos no SABE de 2010 a 2012, dando origem ao conjunto de dados mais recente, o SABE-WGS-1171 (hg38), no qual foram identificadas um total de 77.236.632 variantes de nucleotídeo único (*single nucleotide variants* -SNV), pequenas inserções e deleções – INDELS (NASLAVSKY *et al*, 2020). Dentre elas, mais de 60 milhões de variantes eram de alta qualidade e 2 milhões estavam ausentes de bancos de dados internacionais como dbSNP e gnomAD, indicando a necessidade de inclusão de populações não europeias nos estudos genômicos.

A pesquisa em genômica tem contribuído para a identificação de variantes potencialmente deletérias, presentes em genomas de indivíduos sem queixas clínicas, e com frequências globalmente maiores que as preditas anteriormente. Assim, variantes classificadas como patogênicas em bancos internacionais, quando encontradas em coortes de idosos

saudáveis, podem expressar o menor risco de se desenvolver certa doença em idade mais avançada e os bancos de dados genéticos compostos por idosos podem facilitar a interpretação sobre a patogenicidade de determinada variante. Neste contexto, as pesquisas envolvendo o sequenciamento de exomas e genomas completos têm implicações de relevância médica, posto que há a possibilidade de se identificarem nos participantes achados secundários inesperados, que podem impactar diretamente a saúde do indivíduo e de seus familiares.

1.6 Aconselhamento genético

O aconselhamento genético (AG) consiste no processo conduzido por um profissional de saúde com formação especializada em genética e tem como objetivo central dar suporte ao paciente e sua família em todas as etapas que envolvem a confirmação da existência de uma doença com base genética, bem como o cálculo de risco de sua recorrência (PINA-NETO, 2008; THAN & PAPP, 2017). Tal processo, portanto, envolve o diagnóstico, explicação sobre o que o achado representa ao consulente e seus familiares em linguagem acessível, o prognóstico e o cálculo de risco de recorrência da doença na família. Com o volume de variantes detectáveis em testes genéticos a partir do uso do NGS, aumentou a complexidade do AG. Em particular, com a quantidade de informações que estes testes revelam a partir de maior cobertura horizontal e de anotações, o número de potenciais achados secundários e variantes cujo significado clínico pode ser difícil de determinar com base no conhecimento atual aumentam (VEARS *et al*, 2017), incluindo as variantes de significado incerto (*variant of uncertain significance - VUS*). Esta classificação indica que não há informações suficientes para que a variante seja considerada patogênica, mas também não há evidências para classificá-la como benigna.

O estudo de Haer-Wigman e colaboradores (HAER-WIGMAN *et al*, 2019) mostrou que 1 em 38 indivíduos saudáveis (2,6%) apresentam uma variante provavelmente patogênica em um dos 59 genes clinicamente acionáveis para doenças, dos quais a ACMG recomenda que sejam reportadas as variantes clinicamente relevantes encontradas (KALIA *et al*, 2017). No mesmo estudo, discute-se se os benefícios potenciais e se as opções preventivas relacionadas a esse conhecimento (ser portador de uma variante patogênica) superam o risco do impacto emocional do resultado do teste e possível estigmatização. Por fim, ainda cita a possibilidade de os dados encontrados estarem subestimados no que tange às variantes patogênicas, posto que as descobertas continuam avançando e o número de genes/variantes clinicamente acionáveis conhecidos tem potencial para se expandir. Destaca também que as melhorias na tecnologia de sequenciamento provavelmente permitirão detecção de novas variantes e,

simultaneamente, a interpretação clínica das partes não codificantes do genoma poderá permitir a detecção de outros achados potencialmente patogênicos.

O exposto acima demonstra a urgência na capacitação de profissionais para o adequado AG, diante da rápida evolução das descobertas e os desafios por elas impostos, bem como a reconsideração de seus princípios, para, dinamicamente, moldar-se à nova realidade, buscando alcançar os principais objetivos do AG: interpretação, orientação, educação e apoio (YANG & KIM, 2018; CROOK *et al*, 2021). Portanto, é recomendado que todo resultado de sequenciamento do genoma humano e testes afins seja apoiado por estes profissionais qualificados, mediante assinatura de termo de consentimento por consulentos e profissionais envolvidos, visando à clarificação dos achados aos seus portadores (PLÖTHNER *et al*, 2018). Dentre os resultados buscados a partir do AG, o levantamento da história familiar acerca dos fenótipos associados aos genes testados primariamente (e secundários, de acordo com a lista ACMG) é essencial. Adicionalmente, o acompanhamento clínico individual pode estabelecer a correlação com achados genômicos, especialmente as VUS, que podem ser reclassificadas ao longo do tempo.

2 OBJETIVOS

Geral:

- Contextualizar os achados genômicos secundários, declínio cognitivo e/ou funcional, através de dados clínicos de saúde, identificados em idosos cujo genoma foi sequenciado no Centro de Pesquisas sobre o Genoma Humano e Células- Tronco (CEGH-CEL).

Específicos:

- Identificar, em idosos octogenários, a presença de variantes patogênicas em 59 genes clinicamente acionáveis, lista recomendada pela ACMG (KALIA *et al*, 2017);
- Realizar consultas de acompanhamento para identificar informações clínicas relevantes sobre os voluntários, incluindo histórico familiar, que pudessem estar associadas às variantes genéticas encontradas;
- Correlacionar resultados de dados genômicos aos clínicos;
- Comparar o desempenho cognitivo da coorte entre a primeira e a segunda avaliação;
- Avaliar a capacidade funcional dos idosos a partir de escalas de avaliação de funcionalidade;
- Verificar a incidência de variantes patogênicas em idosos saudáveis, em comparação com a população geral;
- Discutir a importância e as implicações bioéticas do acompanhamento clínico e aconselhamento genético do participante e sua família, no âmbito de um projeto de pesquisa com voluntários sem queixas primárias de saúde.

3 CASUÍSTICA E MÉTODOS

3.1 Casuística

Amostra de conveniência, recrutada a partir de anúncios e indicações, inicialmente formada por 137 indivíduos idosos, com 80 anos de idade ou mais, cognitivamente saudáveis. Os voluntários foram previamente incluídos na amostra 80+, a partir do ano de 2010, pelo grupo de pesquisadores do CEGH-CEL, sob a liderança da Prof^a Dr^a Mayana Zatz.

Os participantes da amostra 80+ foram recrutados pelo CEGH-CEL, após cadastro por formulário online (www.tinyurl.com/80mais), o qual contém uma explicação sobre os projetos e perguntas pertinentes às pesquisas. Os participantes foram incluídos após a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

3.2 Aprovação por comitês de ética

Este estudo constitui um braço dos projetos “Estudo de associação entre SNPs dos genes HEY1 e LMO4 e assimetria cerebral em indivíduos idosos cognitivamente saudáveis” (posteriormente modificado e ampliado para a tese de doutorado “A contribuição de estudos populacionais em idosos saudáveis: base de dados genômicos, compreensão do envelhecimento e lateralidade cerebral ”de Naslavsky, publicada em 2015), “SABE - Saúde, Bem- Estar e Envelhecimento” (LEBRÃO& DUARTE, 2003; LEBRÃO & LAURENTI, 2005) e “Estudo da correlação de ressonância magnética com variantes genéticas em octogenários saudáveis” (Pesquisador responsável: Edson Amaro Junior). Estes estudos obtiveram aprovação para coleta de dados a amostras pelos Comitês de Ética em Pesquisa respectivamente do Instituto de Biociências da USP (protocolo no 110/2010 – FR 336816), da Faculdade de Saúde Pública da USP (nº 2044) e do Hospital Israelita Albert Einstein (11/1498).

3.3 Metodologias

3.3.1 Dados clínicos e epidemiológicos

3.3.1.1 Abordagem dos voluntários

Participantes do projeto 80+ ou familiares foram contatados por telefone e/ou e-mail fornecidos à época da primeira coleta. O intuito revelado no contato era de atualizar os

participantes sobre o andamento do projeto, de apresentar os novos pesquisadores e, principalmente, de repetir os protocolos da primeira coleta de dados clínicos e sociodemográficos, bem como complementar as perguntas de saúde com dados relevantes para avaliação conjunta com achados de variantes patogênicas em genes acionáveis (ACMG). Nesta oportunidade, verificamos como estava o estado geral de saúde do participante ou obtivemos informações através dos familiares, no caso de falecimento.

3.3.1.2 Questionário

A equipe elaborou um questionário de avaliação sociodemográfica e saúde global, que teve como documento norteador o questionário completo do estudo SABE (LEBRÃO & LAURENTI, 2005). Este novo instrumento (Anexo I), elaborado a partir da redução do questionário SABE, teve como objetivo identificar dados clínicos que pudessem estar correlacionados a achados genômicos obtidos através do sequenciamento prévio do DNA e ao declínio cognitivo e/ou funcional dos participantes.

3.3.1.3 Miniexame do estado mental e Miniexame do estado mental modificado

Os idosos foram submetidos à avaliação de função cognitiva em dois momentos – 2011 e 2012 (em projeto anterior) e 2019 (no presente estudo), através da aplicação dos instrumentos *Mini Mental State Examination*- MMSE (FOLSTEIN *et al*, 1975) e *Modified Mini-Mental State*- 3MS (TENG & CHUI, 1987), uma expansão do MMSE. Os testes consistem em baterias de perguntas agrupadas em 6 dimensões: orientação, retenção, atenção e cálculo, evocação, linguagem e habilidade construtiva (Anexo II). Uma pontuação máxima de 30 para o MMSE e 100 para o 3MS, permite avaliar os indivíduos com declínio cognitivo ($MMSE \leq 26$ ou $3MS \leq 77$, cortes aplicáveis para indivíduos alfabetizados).

3.3.1.4 Índice de Katz e Escala de Lawton e Brody

Para avaliação da funcionalidade foram aplicados o Índice de Katz (KATZ *et al*, 1963) e a Escala de Lawton & Brody (LAWTON & BRODY, 1969) que avaliam, respectivamente, o desempenho do idoso em relação às atividades básicas e instrumentais de vida diária (ABVD e AIVD, respectivamente), através da identificação da necessidade de auxílio na realização.

O índice de Katz (Anexo III) verifica as ABVD: banho, vestir-se, usar o banheiro, transferência, continência e alimentação. O melhor resultado nesta escala é 0 de pontuação (nenhuma dependência) e o pior é 6 (dependência para todas as atividades básicas de vida

diária). A Escala de Lawton & Brody (Anexo IV) avalia a capacidade de realização independente das AIVD: preparar refeições, fazer tarefas domésticas, lavar roupas, manusear dinheiro, usar o telefone, tomar medicações, fazer compras e utilizar os meios de transporte, sendo o melhor resultado 27 (autonomia completa na realização das nove atividades pesquisadas) e o pior, 9 (dependência completa para a realização de cada uma das nove atividades).

3.3.2 Obtenção de amostras e análise molecular

3.3.2.1 Coleta e extração do DNA

As coletas foram realizadas previamente, durante a execução das atividades dos estudos principais dos quais o presente é derivado. Naquela ocasião, o sangue periférico dos participantes foi coletado em tubos padrão com EDTA e o DNA foi extraído por protocolo padrão de lise alcalina com o auxílio do sistema de automação Qiagen/Gentra Autopure LS. As amostras foram eluídas em tampão de eluição Tris-EDTA (TE) e posteriormente diluídas em água. As amostras-estoque foram armazenadas em tubos com rosca e anel de vedação, a 4°C e quantificadas por espectrofotometria em NanoDrop (ThermoScientific), onde foi verificada a qualidade pela razão de absorbâncias em 280nm e 260nm.

Todas as amostras foram devidamente catalogadas e nomeadas com vínculo chaveado para pareamento com as identificações dos Estudos SABE e 80+.

3.3.2.2 Sequenciamento de nova geração

Em 2016, em parceria com o *Human Longevity Inc.* (San Diego, California), realizou-se o sequenciamento do genoma completo (WGS) de 1323 amostras das coortes SABE e 80+, das quais 121 pertencem à última. O WGS foi realizado em plataforma *Illumina paired-end* 150x150 com cobertura média alvo de 30x. O alinhamento e a chamada de variantes foram obtidos com o pipeline *Illumina Isaac* em protocolo semelhante ao descrito por Telenti e colaboradores em 2016 (TELENTI et al, 2016). Os dados estão armazenados no formato BAM e VCF, no Data Center Profa. Maria Lúcia Lebrão, situado no CEGH-CEL.

3.3.3 Anotações e de filtragem de variantes

O arquivo VCF foi extensivamente anotado com informações sobre gene, transcrito e consequência das variantes, dados de frequência alélica, de asserções *ClinVar*, OMIM e predição de deleteriedade. A anotação foi realizada com diversas bases de dados incluídas via

ANNOVAR e *scripts* desenvolvidos pela equipe de bioinformática do CEGH-CEL. Detalhes sobre o método estão disponíveis em pré-publicação por Naslavsky e colaboradores (2020). Os dados tabulares de VCF anotados foram transportados para uma planilha no formato *Excel*, permitindo a filtragem dos dados, a qual ocorreu em várias etapas para priorização de variantes para classificação de patogenicidade, conforme descritas na tabela 1, a seguir.

Tabela 1. Etapas percorridas para seleção das variantes de interesse clínico (classificadas como patogênicas ou potencialmente patogênicas) da lista de genes acionáveis recomendadas pela ACMG.

Etapas	Coluna da tabela gerada a partir do VCF	Filtros
1°	Func.ref.Gene	Removidas: <i>downstream, upstream, intronic, UTR3 e UTR5</i> . Mantidas: <i>exonic, exonic; splicing e splicing</i> .
2°	ExonicFunc.refGene	Removidas: <i>no assertions (NA), nonframeshift deletion, nonframeshift insertion, synonymous SNV, unknown</i> . Mantidas: <i>frameshift deletion, frameshift insertion, nonsynonymous SNV, stopgain</i> .
3°	ClinVar_SIG*	Removidas: <i>Benign, Benign/Likely Benign, Likely Benign, VUS, Conflicting interpretation of Pathogenicity (incluindo association e risk factor), drug response</i> , todas com o código "CP" anotado antes da classificação [†] e <i>no assertions (NA)</i> . Mantidas: <i>Pathogenic, Likely Pathogenic</i> .
4°	ExAC_ALL**	Mantidas apenas as com frequência menor ou igual a 1% no ExAC.
5°	esp6500siv2_all***	Mantidas apenas as com frequência menor ou igual a 1% no esp6500.
6°	1000g2015aug_all****	Mantidas apenas as com frequência menor ou igual a 1% no 1000 Genomas.
7°	gnomAD_exome_ALL*****	Mantidas apenas as com frequência menor ou igual a 1% no gnomAD.
8°	60mais609_AC (NASLAVSKY & YAMAMOTO, 2017)	Mantidas apenas as com frequência menor que 1% no SABLE609 (hg19).
9°	Cobertura (reads)	Foram mantidas apenas as variantes cuja cobertura (número de <i>reads</i>) fosse maior ou igual a 10 nos dois alelos.
10°	Padrão de Herança	Mantidas apenas as variantes relacionadas a doenças de herança autossômica dominante.

**ClinVar* (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/>).

** Banco populacional ExAC (<http://bigd.big.ac.cn/databasecommons/database/id/3774>).

*** Banco populacional Esp6500 (<https://evs.gs.washington.edu/EVS/>)

**** Banco populacional *1000 Genomes* (<https://www.internationalgenome.org/>).

***** Banco populacional *GnomAD exomes* (<https://gnomad.broadinstitute.org/>).

γ CP significa ‘chromosome-position’ e indica variantes que estão localizadas em coordenadas genômicas onde outras variantes foram classificadas no ClinVar. Exemplo CP-Pathogenic, indica uma variante que, apesar de não ter sido classificada no ClinVar, colocaliza-se com outra variante classificada como patogênica.

3.3.4 Estudo das variantes

A variante resultante do processo de filtragem foi estudada utilizando-se as plataformas:

- *ClinVar* (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/>), um arquivo público onde são reportadas as correlações entre variantes genéticas e fenótipos humanos, com apoio de evidências científicas.

- *Varsome*, um conjunto de ferramentas de bioinformática para processamento e anotação de dados NGS, que permite auxiliar na interpretação das variantes (<https://varsome.com/>). Na plataforma foi selecionada a opção *Germline*, excluindo-se as mutações somáticas e o genoma de referência utilizado foi o HG38.

- OMIM[®], *Online Mendelian Inheritance in Man*[®], onde estão catalogadas, de forma abrangente, mais 16 mil desordens de caráter Mendeliano (<https://www.omim.org/>).

- *Mastermind*, banco de dados que reúne variantes citadas em artigos científicos completos (<https://mastermind.genomenon.com/>), onde foram encontrados estudos funcionais ou com indicativos de penetrância incompleta, úteis no auxílio à interpretação das variantes.

- Orientações do *Guideline* mais recente da ACMG (KALIA *et al*, 2017).

Tal avaliação foi realizada por duas diferentes pessoas, a fim de chegar-se a um “veredito” comum sobre a patogenicidade da variante.

3.3.5 Análise estatística

Nas associações entre variáveis numéricas (escalas com pontuação), foi desenhado o gráfico de dispersão e realizado o teste de correlação de *Spearman*, com $p < 0,01$ para significância estatística. No tocante aos achados genômicos, dado número restrito de variantes patogênicas e provavelmente patogênicas em genes acionáveis encontradas na amostra, o presente estudo traz uma análise descritiva. Os dados são expostos, majoritariamente, em números absolutos ou em porcentagem, para possível comparação com outros dados disponíveis na literatura científica. A análise descritiva inclui contagens, proporções e concordância/discordância entre variantes e condições reportadas.

4 RESULTADOS

4.1 Achados sociodemográficos

A casuística inicial da amostra 80+, que começou em 2010, era composta por 137 idosos. Destes, 121 foram sequenciados (genomas completos) em 2016. Até meados de novembro de 2019, foram registradas 27 mortes entre os 137 participantes da amostra inicial, sendo que 3 dos falecidos não tiveram o genoma sequenciado.

O fluxograma a seguir mostra os resultados das tentativas de contato com os idosos supostamente vivos e sequenciados (figura 1).

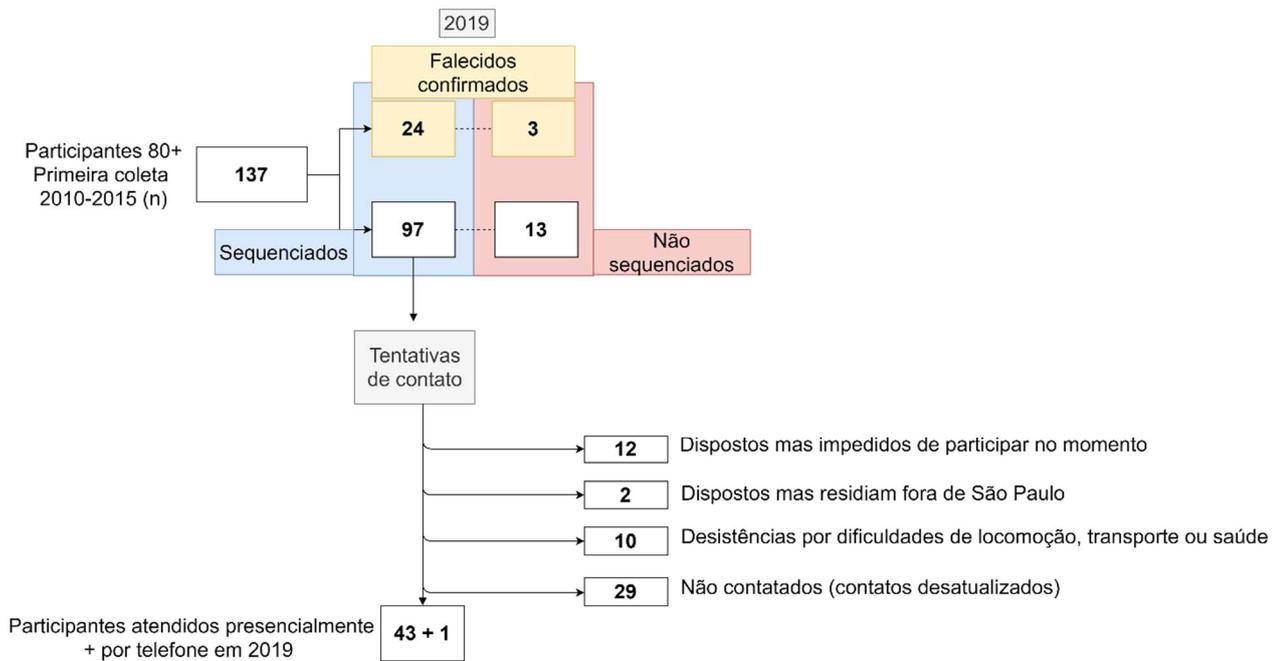


Figura 1. Resumo esquemático mostrando o número de idosos sequenciados, os que foram sabidamente a óbito e os desfechos após tentativas de contato.

A idade média dos 44 idosos atendidos na segunda etapa foi de 90,84 anos, tendo o mais novo 86 anos e, o mais idoso, 104 anos. Eram 25 mulheres e 19 homens. A média de filhos nascidos vivos por participante era de 2,68. Mais de 50% (23 participantes) já estavam viúvos na segunda avaliação. Quanto à cor da pele (autodeclarada), 91% se declararam brancos, correspondendo a 40 indivíduos. Dois se autodeclaravam pardos/morenos e dois amarelos. Quanto à escolaridade, 6 possuíam pós-graduação; 25 o superior completo; 5 haviam concluído

o ensino médio ou técnico; 1 o ginásio; 4 o fundamental e 3 tinham o ensino fundamental incompleto, sendo as três do sexo feminino.

4.2 Achados clínicos

4.2.1 História pregressa de comorbidades e eventos de saúde

Para fins de correlação com os achados genéticos recomendados pela ACMG (KALIA *et al*, 2017), foram valorizados os dados clínicos relacionados às doenças cardíacas, vasculares, metabólicas e neoplásicas. Os números de pacientes portadores ou não de cada doença, bem como o número de comorbidades por participante entrevistado na segunda avaliação, estão detalhados na figura 2 e no gráfico 1. A média de comorbidades por idoso foi 3,5.

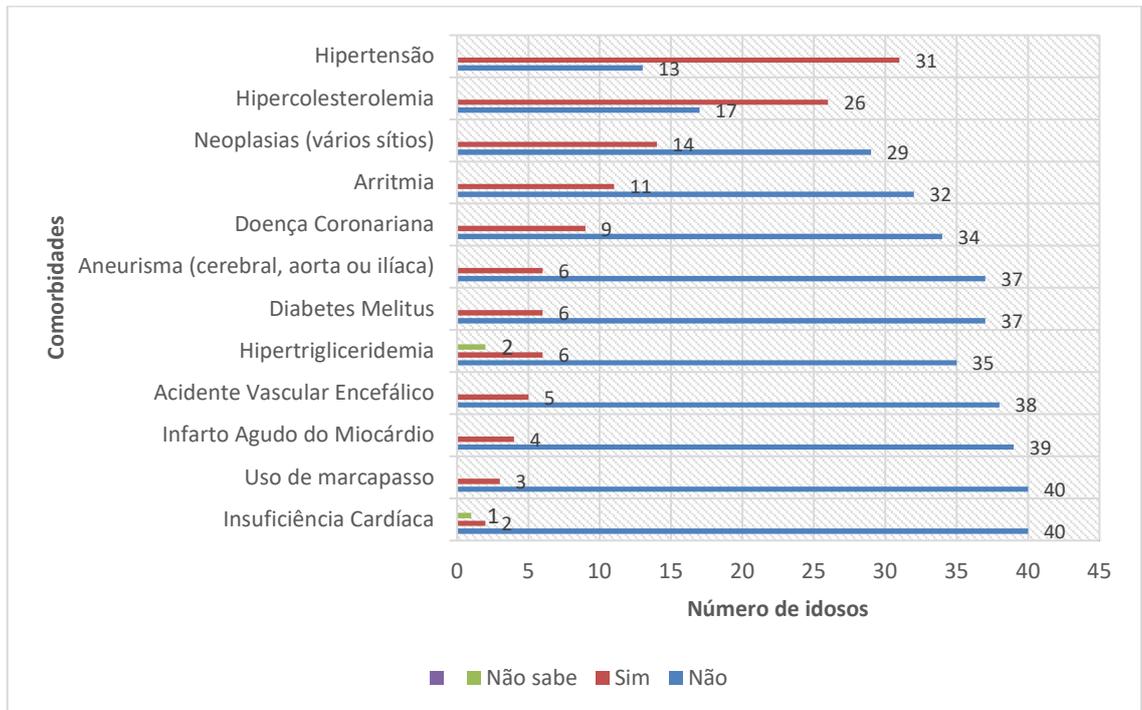


Figura 2. Distribuição das principais comorbidades, condições e eventos cardíacos, vasculares, metabólicos e neoplasias, entre os idosos avaliados.

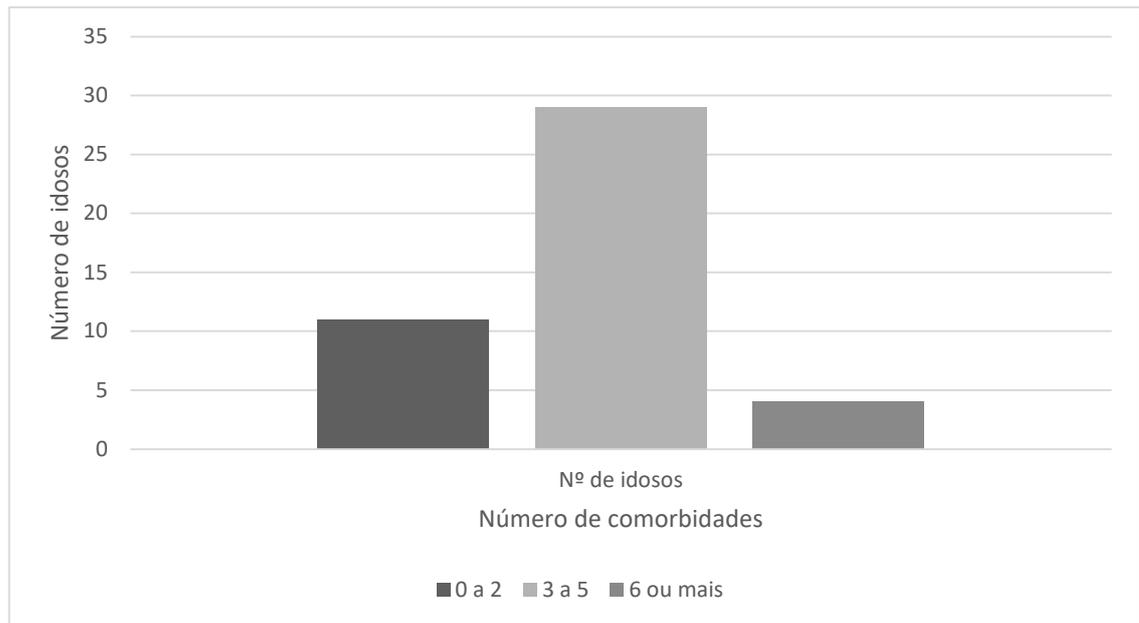


Gráfico 1. Número de comorbidades por participante entrevistado em 2019.

4.2.2 Indicadores de fragilidade, declínio cognitivo e/ou funcional

Dados relativos à fragilidade (quedas nos últimos 6 meses e fraturas prévias), funcionalidade e cognição também foram obtidos, conforme as tabelas 2 e 3.

Tabela 2. Números relativos a quedas e fraturas.

	Sim	Frequência (%)	Não	Frequência (%)
Queda nos últimos 6 meses	N=13	29,55	31	70,45
Fraturas ao longo da vida	N=27	61,36	17	38,64
Média de idade (em 2019)	91,32 anos		90,44 anos	

Tabela 3. Distribuição das pontuações máximas e mínimas obtidas nos instrumentos: Escala de Lawton & Brody, Índice de Katz, 3MS e MMSE.

Instrumento	Máxima	Nº idosos	Mínima	Nº idosos	Média	Mediana
Lawton & Brody	27	19	9	3	23,7	26
Katz	0	38	6	1	0,4	0
3MS	100	12	52*	1	90,4	94
MMSE	30	18	16*	3	27,4	28

*01 participante não foi considerado, pois não tem mais condições de realizar os testes.

O número de comorbidades acumuladas por idoso não estava relacionada a um pior desempenho nas AIVD.(gráfico 2).

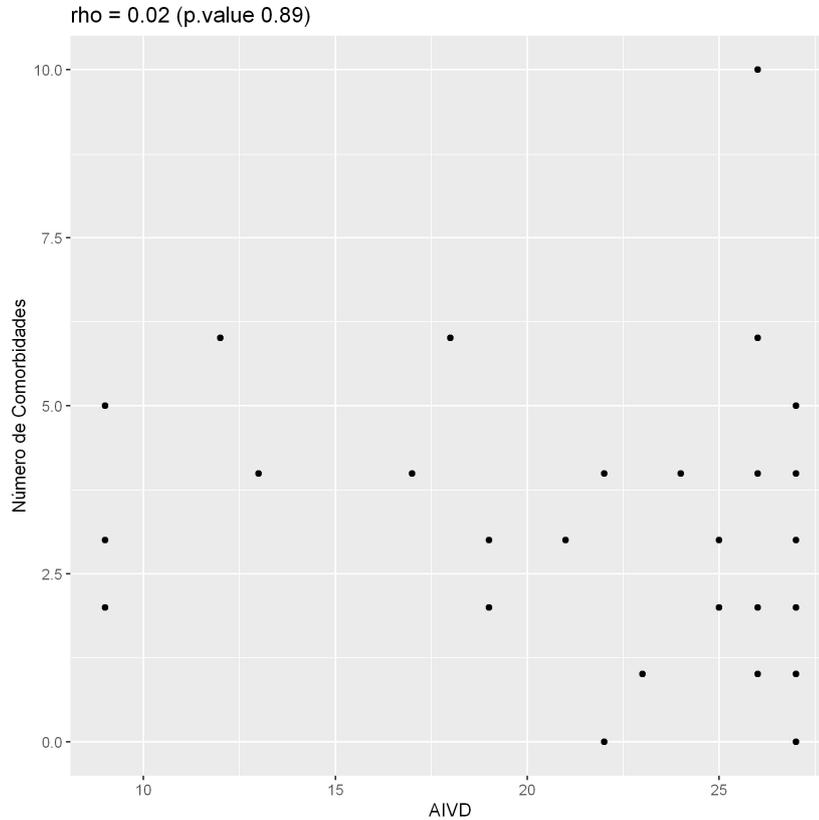


Gráfico 2. Comparação do resultado do MMSE, por indivíduo, entre as duas avaliações.

4.2.3 Resultados relativos às avaliações cognitivas

Dos 44 idosos atendidos na etapa atual do estudo, 33 possuíam avaliações com os instrumentos MMSE e 3MS realizadas na etapa anterior. A correlação entre os resultados obtidos nas duas etapas está representada nos gráficos 3 e 4.

Da mesma forma, foram correlacionadas as respostas alcançadas no MMSE e no 3MS, para cada idoso, em 2019 (gráfico 5).

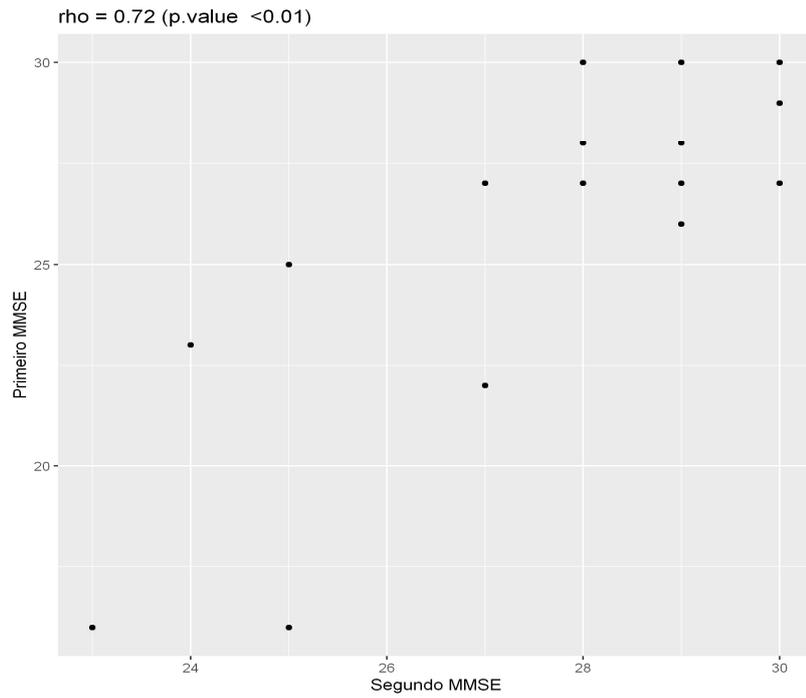


Gráfico 3. Comparação do resultado do MMSE, por indivíduo, entre as duas avaliações.

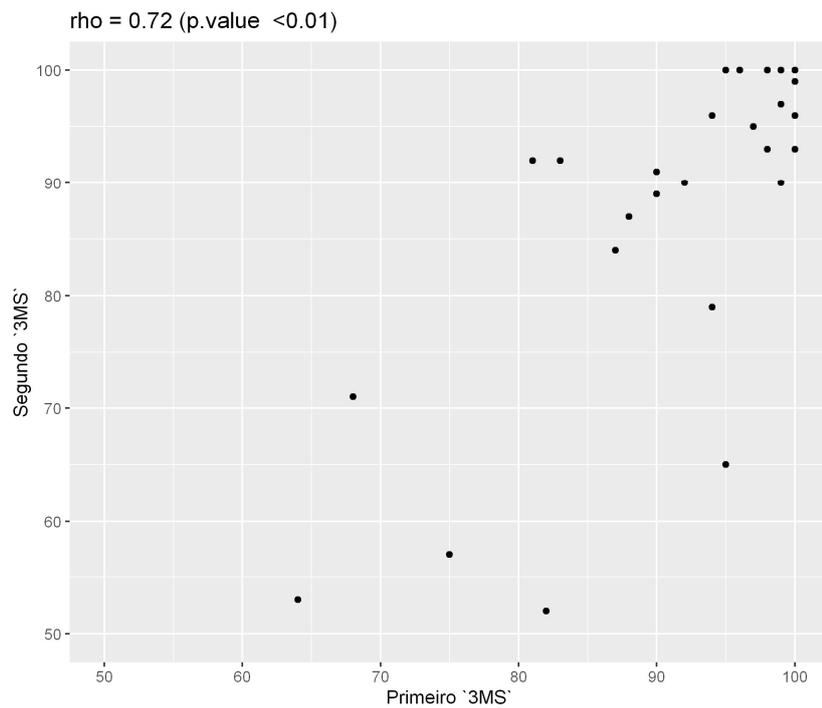


Gráfico 4. Comparação do resultado do 3MS, por indivíduo, entre as duas avaliações.

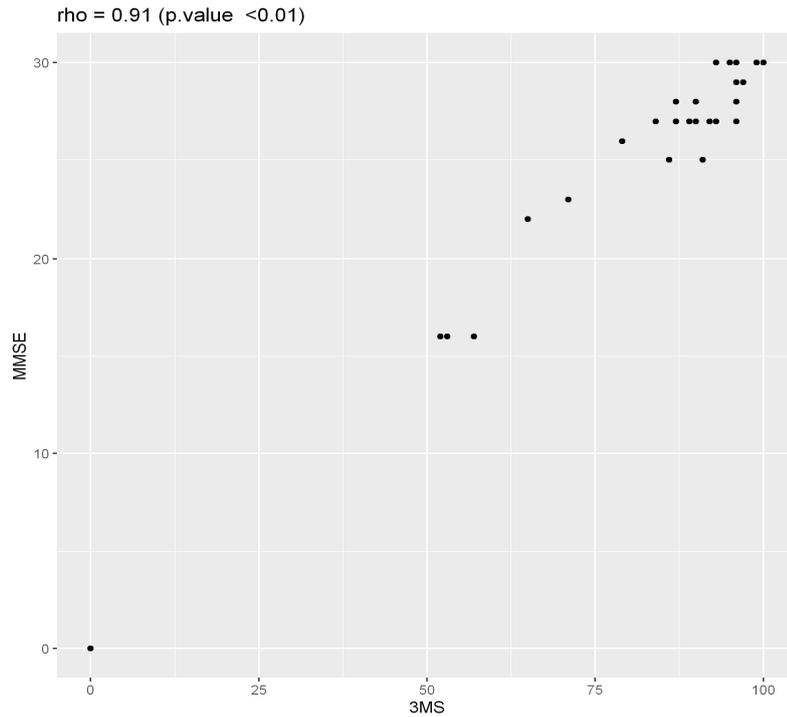


Gráfico 5. Comparação entre o resultado do MMSSE e do 3MS, por indivíduo, em 2019.

4.2.4 Resultados de correlação entre funcionalidade e cognição

Os resultados obtidos nas avaliações realizadas em 2019, foram correlacionadas da seguinte forma: 3MS x AIVD, MMSE x AIVD, 3MS x ABVD e MMSE x ABVD. Todas as correlações mostraram que a funcionalidade e bom desempenho cognitivos são diretamente proporcionais, com $p < 0,01$ para cada um dos itens estudados, conforme figura 3.

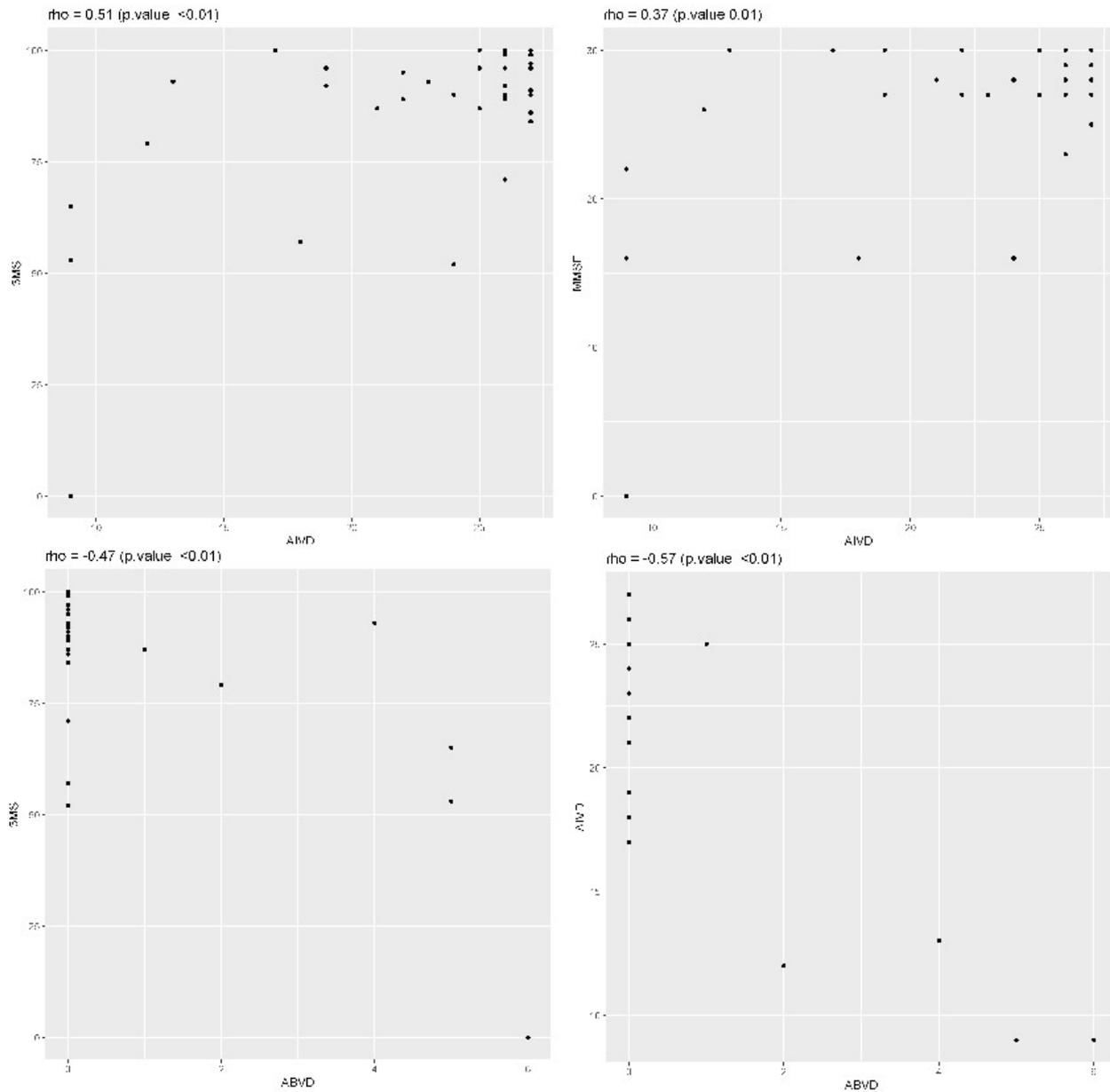


Figura 3. Demonstração das correlações 3MS x AIVD, MMSE x AIVD, 3MS x ABVD e MMSE x ABVD.

4.3 Achados genômicos

Após filtragem, estudo e análise das variantes encontradas nos 59 genes clinicamente acionáveis recomendados pela ACMG (KALIA *et al*, 2017) seguindo os passos descritos nos itens 3.3.3, foi encontrada uma variante de interesse para o presente estudo, detalhada na tabela 5.

Tabela 5. Variante com potencial significado clínico encontrada.

Parâmetros	
Cromossomo	chr17
Início	43093844
Fim	43093844
Referência	G
Alternativo	A
PredictedFunc.refGene	stopgain
Gene	<i>BRCA1</i>
Clinvar_RS	rs80356898
ClinVar_SIG	Pathogenic
Contagem de alelos	1
Estrelas Clinvar	3 estrelas
Frequência no ExAC	0,0000413
Frequência no esp6500siv	0
Frequência no 1000 genomas 2015	0
Frequência no gnomADexome	0,00002446
Contagem de alelos no 60mais609	0
Frequência na própria coorte 80+	0,004098
Cobertura	24, 13

Do processo de filtragem relatado, foram identificadas, também, duas variantes patogênicas no gene *MUTYH* e uma no gene *ATP7B*, com uma cópia apenas em cada um dos portadores, e todas relacionadas a herança autossômica recessiva.

5 DISCUSSÃO

5.1 *Dados demográficos, clínicos, cognição e funcionalidade*

No que tange à demografia, a média de idade dos 44 idosos reavaliados em 2019 encontrava-se acima dos 90 anos, como esperado, visto que há cerca de uma década a mesma coorte foi convidada a participar do projeto que avaliava indivíduos com 80 anos de idade ou mais. Ademais, puderam comparecer para a reavaliação mais mulheres do que homens, fato que pode estar ligado às taxas consistentes de maior sobrevivência no sexo feminino em todo o mundo. Tal diferença guarda relação com as vantagens biológicas inerentes à mulher (por exemplo, a maior taxa de sobrevivência ao nascer, em relação aos bebês do sexo masculino e taxas relativamente mais baixas de doenças cardiovasculares e câncer) e com comportamentos adotados ao longo da vida, sendo um deles a menor exposição a riscos, como tabagismo, etilismo e exposição à violência (UNITED NATIONS, 2019).

Chama a atenção o reduzido número médio de filhos nascidos vivos por participante e alto grau de escolaridade do grupo, sendo que 31 deles tinham nível superior ou pós-graduação. Por se tratar de pessoas com idade média em torno dos 90 anos, nota-se que a coorte conta com mulheres componentes de uma geração vanguardista, que se encorajou a deixar de priorizar exclusivamente as atividades domésticas, passou a procurar formação em nível superior, alocação no mercado de trabalho e, provavelmente por esta razão, reduziu seu número de filhos. A participação das mulheres na força de trabalho vem aumentando desde os anos 70, sendo que em 2004 elas constituíam 48% dos trabalhadores dos EUA, número que dobrou em 30 anos, de 32,2 milhões em 1971 para 68,3 milhões em 2003 (BARNETT, 2004). Por outro lado, é válido ressaltar que os únicos três participantes com menor nível de escolaridade (ensino fundamental incompleto) eram mulheres, em consonância com a realidade da maioria delas que, quando jovens, eram estimuladas a se dedicar exclusivamente ao lar.

Há de se destacar, também, a predominância massiva de indivíduos brancos na coorte (91%), informação que pode ser reflexo do racismo estrutural, ainda mais arraigado no passado vivido por estes idosos. Ele tem impacto importante no formato da distribuição dos determinantes sociais da saúde e no perfil de saúde da população (BAILEY *et al*, 2017). Existe a possibilidade de indivíduos de minorias étnicas terem menor acesso à participação em estudos nos quais o recrutamento é feito por meios de comunicação em massa e, extrapolando, talvez tais minorias tenham menor número de representantes com as boas condições de saúde necessárias para participação nesta pesquisa.

Do ponto de vista clínico, a hipertensão e a hipercolesterolemia foram as comorbidades mais prevalentes no grupo, presentes em 70 e 59% dos participantes, respectivamente. Em seguida, as condições de saúde mais identificadas foram as neoplasias (vários sítios), doenças cardíacas (arritmia, doença arterial coronariana, infarto agudo do miocárdio, uso de marcapasso e insuficiência cardíaca), diabetes melitus e doenças vasculares (aneurismas e acidentes vasculares encefálicos). Tais condições estão diretamente relacionadas às principais causas de morte em indivíduos acima dos 65 anos (CDC, 2019), sendo hipertensão, hipercolesterolemia e diabetes os principais fatores de risco para desenvolvimento e agravamento de doenças cardiovasculares (ZHAO *et al*, 2019).

Em relação às quedas nos 6 meses anteriores e fraturas ao longo da vida, as frequências foram de 70,45 e 38,64, respectivamente. As quedas da própria altura são uma das principais causas de lesões evitáveis, como: fraturas de quadril, hematomas subdurais ou mesmo a morte como desfecho (DYKES *et al*, 2020). Os dados encontrados são alarmantes e evidenciam a necessidade da prevenção ostensiva da ocorrência de quedas nesta população. Entre os idosos que não caíram e não relataram fraturas, a média de idade foi de 90,44 anos. Entre os que sofreram quedas e/ou fraturas, a média foi de 91,32 anos. Estudos demonstram que pacientes com idade acima de 80 anos apresentam maior probabilidade de morte após fratura de fêmur proximal, se comparados com indivíduos na faixa etária de 60 a 80 anos, com aumento do risco a cada ano, e cerca de 20% evoluem a óbito no primeiro ano após o evento (MESQUITA *et al*, 2009). Os cuidados com a saúde óssea e muscular são fundamentais para a prevenção de quedas e fraturas, através de medidas farmacológicas (ZHOU *et al*, 2020) e não farmacológicas, como o estímulo a atividades físicas (SHERRINGTON *et al*, 2019). A necessidade de desenvolvimento de políticas públicas neste sentido é urgente.

Entre os 44 idosos reavaliados em 2019, dois relataram não terem qualquer uma das comorbidades ou condições clínicas consideradas no presente estudo, enquanto, por outro lado, um único idoso relatava ser portador de dez comorbidades e/ou condições clínicas prévias. Dentre estes três participantes alocados nos extremos, todos apresentaram resultados de 3MS e MMSE maior ou igual a 90 e 27, respectivamente e eram totalmente independentes para as ABVD. Uma participante sem comorbidades apresentava dependência para quatro das AIVD, tendo pontuado 22 na escala de Lawton&Brody. Tal declínio se devia à redução da acuidade visual, irreversível, o que trazia limitações especialmente para atividades que requeriam deslocamento e manejo de finanças. Esta informação evidencia a importância do bom desempenho dos órgãos do sentido e que nem sempre a ausência de doenças relacionadas ao aumento da morbimortalidade significa ausência de limitações. Em contrapartida, o idoso

portador de múltiplas comorbidades era independente para todas as AIVD, exceto para gerenciar suas medicações, atividade para a qual recebia ajuda. Levando-se em conta a quantidade de remédios que usava para manejo de suas condições clínicas é compreensível que necessitasse de auxílio para seu uso correto, sem que isso fosse considerado um prejuízo em sua cognição. Os resultados globais do estudo confirmam que ser portador de um maior número de comorbidades não está relacionado a pior desempenho nas AIVD. Um bom controle e acompanhamento das doenças está relacionado a melhor qualidade de vida e desempenho funcional (SOUZA *et al*, 2016).

Globalmente, o desempenho do grupo na avaliação cognitiva foi bastante satisfatório: doze idosos atingiram pontuação máxima (100) no 3MS e dezoito no MMSE, sendo que dentre estes últimos, todos obtiveram 3MS acima de 93. A média e a mediana da pontuação obtida para o 3MS foram 90,4 e 94 e para o MMSE 27,4 e 28, portanto, acima dos valores de corte para suspeição de declínio cognitivo. Tais achados são consistentes com a alta escolaridade do grupo, bem como com a boa condição de saúde geral da maioria dos participantes. Apesar destes bons resultados, 9 idosos dos 33 que foram submetidos à avaliação cognitiva em duas etapas apresentaram uma redução de dois pontos ou mais no MMSE, sendo que 7 deles obtiveram resultados abaixo do valor de corte (26) e 11 uma redução de cinco pontos ou mais no 3MS, com 5 idosos abaixo do valor de corte (76). Estes achados confirmam a possibilidade de piora de desempenho em avaliações cognitivas com o aumento da idade, já relatada em estudos publicados anteriormente (ALMEIDA, 1998).

Com relação à funcionalidade, 38 dos 44 idosos (86,4%) eram totalmente independentes para as ABVD e apenas 1 deles apresentava dependência completa. Quanto às AIVD, 19 eram completamente independentes e 3 totalmente dependentes. Tais achados demonstram que apesar da alta faixa etária do grupo, eles fazem parte de uma parcela da população idosa que supera a média das Américas, não somente nas expectativas em anos de vida, mas também pela capacidade de preservação da funcionalidade e manutenção da independência para os atos básicos da vida cotidiana. Em 2015, estimou-se que a expectativa de vida **saudável** média na Região das Américas era de 66,45 anos, e 12% das pessoas com mais de 60 anos de idade apresentavam alguma dependência para as AVD (OPAS, 2019).

Os resultados obtidos entre as avaliações de desempenho cognitivo e funcional (3MS x AIVD, MMSE x AIVD, 3MS x ABVD e MMSE x ABVD) comprovaram, com significância estatística para cada uma das correlações ($p < 0,01$), que os idosos mais funcionais estavam cognitivamente melhores. Há estudos que correlacionam a realização de atividades físicas à preservação ou mesmo melhora do desempenho cognitivo (JOURBERT & CHAINAY, 2018;

ERICKSON *et al*, 2019). Neste ponto deve-se considerar que o idoso com melhor funcionalidade está mais apto a realizar o exercício físico e, portanto, tem maior chance de obter os benefícios deste, como a melhora cognitiva. Por outro lado, a relação inversa deve ser considerada – o declínio cognitivo pode ser o disparador de perda de interesse por atividades, levando o idoso a reduzir a quantidade de tarefas executadas durante seu dia a dia, culminando em perda funcional. Aqui merece destaque algo bastante comum na prática clínica: o receio por parte dos cuidadores e familiares em deixar os idosos realizarem tarefas, especialmente após quedas da própria altura e fraturas, por receio de recorrência. Assim, há uma parcela considerável de idosos que passa a ficar mais restrita por esta razão. Essa diminuição da atividade, pode ter impacto na capacidade cognitiva.

5.2 *Correlação de dados clínicos e moleculares*

Para efeito de tal correlação foram analisados apenas os dados de saúde relativos aos antecedentes cardiológicos, vasculares, metabólicos e neoplásicos. Isto inclui a maioria das condições clínicas relacionadas aos 59 genes clinicamente acionáveis, nos quais as variantes patogênicas encontradas têm recomendação de serem reportadas, de acordo com a publicação da ACMG (KALIA, 2017). Em 20 de maio de 2021 foram publicadas as novas recomendações e a lista atualizada de genes da ACMG (MILLER *et al*, 2021a; MILLER *et al*, 2021b). No entanto, tendo em vista que os resultados do presente estudo já estavam prontos e analisados com base na lista de 2017 e os prazos a serem cumpridos, optou-se por manter a análise já realizada. É importante destacar que pode haver variantes patogênicas excluídas, como as intrônicas, por exemplo, devido às restrições impostas pelos critérios de filtragem.

A partir da estratégia de filtragem de variantes adotada, descrita na tabela 1, apenas uma variante patogênica de herança autossômica dominante foi encontrada entre os 121 idosos que tiveram o genoma sequenciado, localizada no gene *BRC1*, situado no cromossomo 17. Não há relato de história pessoal de câncer de mama ou ovário nesta participante até os 95 anos de idade e não há registro de dados de saúde de seus familiares ascendentes ou descendentes.

Variantes patogênicas da linhagem germinativa neste gene, em sua maioria são adquiridas de um dos pais, e predisponentes a maior risco de câncer de mama, ovário e pâncreas. As características clínicas da neoplasia maligna de mama familiar em comparação com a esporádica são: idade mais jovem ao diagnóstico, doença frequentemente encontrada em ambas as mamas e ocorrência mais frequente em homens em relação à população masculina em geral (HALL *et al*, 1990).

O gene *BRCA1* tem a função de supressão tumoral, envolvido nas funções celulares básicas necessárias, como a replicação celular e a síntese de DNA. Sua expressão reduzida, em decorrência de mutações ou inativação por mecanismos epigenéticos, leva à diferenciação celular e aumento no risco de câncer. Embora esteja presente em todas as células, onde é essencial para a manutenção da integridade do genoma, ainda não está claro por que mutações no gene *BRCA1* predisõem significativamente mais a câncer de mama e ovário, do que a outros tipos de câncer (ROMAGNOLO *et al*, 2015).

A variante encontrada nesta coorte é uma SNV, de localização citogenética 17q21.31, na posição 43093844, utilizando-se o hg38, onde há substituição de uma guanina por adenina, gerando um códon de parada prematuro, com perda de função, mecanismo amplamente conhecido como associado a doenças. No *ClinVar*, a variante é classificada como patogênica, com 3 estrelas, o que significa ter sido revisada por painel de especialistas.

Contudo, devido à penetrância incompleta, idade variável de desenvolvimento do câncer e outros fatores, alguns conhecidos e outros a serem descobertos, nem todos os indivíduos com tal variante irão, de fato, desenvolver o câncer (PETRUCCELLI *et al*, 1998).

Mutações em *BRCA1* são consideradas de alta penetrância; estudos estimam cerca de 50 a 80% de risco de desenvolvimento de câncer de mama até os 70 anos de idade (AMENDOLA & VIEIRA, 2005) e a penetrância estimada aos 80 anos foi de 36% para câncer de ovário e 68% para câncer de mama (RISCH *et al*, 2001). Por outro lado, deve-se considerar que fenótipos clínicos derivam, potencialmente, de influências digênicas, oligogênicas e poligênicas mais frequentemente do que se imagina. A ancestralidade é outro ponto que merece destaque, uma vez que diferentes ancestralidades têm polimorfismos específicos, que por sua vez podem interagir com a variante patogênica e modular seu efeito. O impacto dos genótipos em seus portadores também pode ser modificado por fatores epigenéticos e ambientais, permitindo interações sinérgicas e antagônicas, resultando em contribuições altamente individualizadas para o fenótipo (sejam deletérias ou protetoras) que irão influenciar, de forma variável, a expressão gênica (COOPER *et al*, 2013). Assim, pode-se explicar, ao menos parcialmente, a ausência de fenótipo clínico na participante portadora da mutação até seus 95 anos de idade.

Por fim, não foi possível o acesso às informações clínicas dos familiares da paciente (especialmente filhos e netos), pois a coleta de dados da família e o aconselhamento genético não estavam contemplados em termo de consentimento. Pelo mesmo motivo, não foi possível dar prosseguimento na investigação dos filhos de portadores de variantes patogênicas de

herança mendeliana autossômica recessiva, nos genes *MUTYH* e *ATP7B*, os quais poderiam ser portadores da mutação em homozigose ou heterozigose composta.

5.3 *Aconselhamento genético*

Dada a complexidade envolvida nos resultados do sequenciamento de genomas e exomas, a condução do processo necessita ser realizada por profissional de saúde capacitado e preparado para lidar com as angústias e consequências envolvidas. Uma revisão sistemática mostrou que o adequado aconselhamento genético pode levar a maior conhecimento e controle pessoal, comportamentos positivos em relação à saúde, como a melhor adesão às orientações profissionais, maior precisão da percepção de risco, bem como diminuição da ansiedade nos pacientes a ele submetidos (MADLENSKY *et al*, 2017).

Com o aumento expressivo da aplicação do sequenciamento, tanto na prática clínica, quanto no âmbito da pesquisa, e o crescente aumento na lista de variantes patogênicas predisponentes de condições clínicas para as quais é possível realizar prevenção ou tratamento, recomendada pela ACMG, faz-se mister o planejamento da consulta pré-teste, com coleta de história pessoal e familiar de alta qualidade (BYLSTRA *et al*, 2021). A discussão ativa sobre o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, antes da assinatura pelo consulente ou participante da pesquisa, é fundamental para alinhamento de expectativas, momento em que deve ser solicitada a expressão de seu desejo por saber ou não informações relevantes oriundas do teste, que podem impactar diretamente sua saúde ou de seus familiares.

O cumprimento das etapas do processo de aconselhamento pode tornar a devolutiva de resultados mais fluida e efetiva, uma vez que já foram realizadas escolhas prévias fundamentais para o melhor esclarecimento do portador da variante e, também, foram colhidos dados essenciais para dar segurança ao profissional que realiza as consultas.

Com base no exposto, o grupo identificou a importância do aperfeiçoamento contínuo dos termos de consentimento. Paralelamente, pesquisadores do grupo estão desenvolvendo estudos nesta área, com o intuito de aprimorar ainda mais os processos do CEGH-CEL.

6 CONCLUSÕES

- Os idosos participantes apresentam nível de escolaridade acima da média brasileira, o que pode ter influenciado nos resultados também acima da média nas avaliações cognitivas e funcionais.
- A presença de multimorbidades não significa, necessariamente, pior desempenho funcional.
- O prejuízo em órgãos do sentido pode causar dependência funcional, independente das condições de saúde geral e da cognição.
- Os índices de quedas e ocorrência de fraturas em idosos consistem em problema de saúde pública e requerem ações para redução da morbimortalidade por elas causadas.
- Melhores desempenhos funcionais estão relacionados à melhor resposta cognitiva, com significância estatística ($p < 0,01$).
- Os achados confirmam a possibilidade de piora de desempenho em avaliações cognitivas com o aumento da idade, já amplamente relatado em estudos anteriores.
- A variante patogênica em *BRCA1* presente na participante do estudo, sem histórico de câncer de mama ou ovário, pode ser justificada pela penetrância incompleta.
- A consulta pré-teste consiste em parte fundamental do processo de análise de variantes, para melhor correlação entre dados clínicos e genômicos.
- A assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido deve consistir em processo dinâmico, que envolve explicações ao participante sobre os possíveis resultados, alinhamento de expectativas sobre estes e deve conter espaço para expressão de seu desejo de conhecer ou não os achados relevantes para ele e sua família.
- Os processos de análise de variantes dos estudos futuros a serem realizados pelo grupo deverão acompanhar a lista mais recente de genes recomendados pela ACMG, tendo em vista que a atualização será anual a partir de 2021.

7 PERSPECTIVAS FUTURAS

Apesar dos esforços dos pesquisadores de diversas localidades no mundo no aprimoramento da análise de variantes, com o intuito de melhorar a padronização, a objetividade e a assertividade, a subjetividade ainda é parte do processo, o qual é examinador dependente, e pode levar a diferentes resultados quando comparadas as conclusões de laboratórios com as de centros de pesquisas distintos (WALSH *et al*, 2017). Ademais, os grandes bancos de dados genômicos são mais centrados em dados genéticos europeus, o que resulta em mais um viés, podendo tornar a comparação entre populações miscigenadas, como a brasileira, uma tarefa difícil e até imprecisa.

A construção e ampliação de bancos de dados genômicos incluindo as diferentes populações que compõem o heterogêneo povo brasileiro consiste em esforço primordial para o aperfeiçoamento da interpretação de achados genômicos neste país. Assim, o grupo tem o intuito de prosseguir com as investigações e pretende, em breve, submeter novo projeto que visa a aumentar a coorte 80+, bem como montar novas coortes, para ampliação da coleta de dados clínicos, epidemiológicos, genéticos, genômicos e celulares, a fim de expandir o conhecimento acerca das características desta população e, por consequência, prover dados que auxiliem na elaboração de estratégias para promoção do envelhecimento saudável, com melhor qualidade de vida.

8 REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, Osvaldo P. The Mini-Mental State Examination and the Diagnosis of Dementia in Brazil. **Arq. Neuro-Psiquiatr.** 56 (3B), Set 1998. <https://doi.org/10.1590/S0004-282X1998000400014>.
- AMENDOLA, Luis Cláudio B., VIEIRA, Roberto. A contribuição dos genes BRCA na predisposição hereditária ao câncer de mama / BRCA genes contribution in the hereditary predisposition for breast cancer. **Rev. bras. cancerol**; 51(4): 325-330, out. -dez. 2005.
- BAILEY, Zinzi D. *et al.* Structural Racism and Health Inequities in the USA: Evidence and Interventions. **The Lancet.** 2017; Volume 389, Issue 10077, p1453-1463. ISSN 0140-6736. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)30569-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)30569-X).
- BARNETT, Rosalind C. Women and Multiple Roles: Myths and Reality, **Harvard Review of Psychiatry**: May-June 2004 - Volume 12 - Issue 3 - p 158-164 doi: 10.1080/10673220490472418
- BIESSELS, Geert J., DESPA Florin. Cognitive decline and dementia in diabetes mellitus: mechanisms and clinical implications. **Nat Rev Endocrinol.** 2018 Oct;14(10):591-604. doi: 10.1038/s41574-018-0048-7. PMID: 30022099; PMCID: PMC6397437.
- BYLSTRA, Yasmin, *et al.* Family history assessment significantly enhances delivery of precision medicine in the genomics era. **Genome Med.** 2021 Jan 7;13(1):3. doi: 10.1186/s13073-020-00819-1. Erratum in: *Genome Med.* 2021 Jul 5;13(1):109. PMID: 33413596; PMCID: PMC7791763.
- CANNON, Jane A., *et al.* Cognitive Impairment and Heart Failure: Systematic Review and Meta-Analysis. **J Card Fail.** 2017 Jun;23(6):464-475. doi: 10.1016/j.cardfail.2017.04.007. Epub 2017 Apr 19. PMID: 28433667.
- CDC -Centers for Disease Control and Prevention- National Center for Injury Prevention and Control, Centers for Disease Control and Prevention. 10 Leading Causes of Death, United States 2019, All Races, Both Sexes. **Leading Causes of Death Reports, 1981 – 2019.** Disponível em: <https://webappa.cdc.gov/cgi-bin/broker.exe>
- COOPER, David N., *et al.* Where genotype is not predictive of phenotype: towards an understanding of the molecular basis of reduced penetrance in human inherited disease. **Hum Genet.** 2013 Oct;132(10):1077-130. doi: 10.1007/s00439-013-1331-2. Epub 2013 Jul 3. PMID: 23820649; PMCID: PMC3778950.
- CREMESP- Conselho Regional de Medicina do Estado de São Paulo. Consulta nº 3.681/15, Assunto: Avanço em Biologia molecular e uso de tecnologia de sequenciamento gênico de nova geração. Número: 3681. Emissão: 19-04-2016. Disponível em http://www.cremesp.org.br/?siteAcao=Pareceres&dif=a&ficha=1&id=13827&tipo=PARECER&orgao=Conselho%20Regional%20de%20Medicina%20do%20Estado%20de%20S%20E3o%20Paulo&numero=3681&situacao=&data=19-04-2016#anc_integra

CROOK, Ashley, *et al.* Genetic counseling and testing practices for late-onset neurodegenerative disease: a systematic review. **J Neurol.** 2021 Mar 1:1–17. doi: 10.1007/s00415-021-10461-5. Epub ahead of print. PMID: 33649871; PMCID: PMC7920548.

DYKES, Patricia C *et al.* “Evaluation of a Patient-Centered Fall-Prevention Tool Kit to Reduce Falls and Injuries: A Nonrandomized Controlled Trial.” **JAMA network open** vol. 3,11 e2025889. 2 Nov. 2020, doi:10.1001/jamanetworkopen.2020.25889

ERICKSON, Kirk I., *et al.* For 2018 physical activity guidelines advisory committee*. Physical Activity, Cognition, and Brain Outcomes: A Review of the 2018 Physical Activity Guidelines. **Med Sci Sports Exerc.** 2019 Jun;51(6):1242-1251. doi: 10.1249/MSS.0000000000001936. PMID: 31095081; PMCID: PMC6527141.

FOLSTEIN, Marshall F., *et al.* "Mini-mental state". A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. **J Psychiatr Res.** 1975 Nov;12(3):189-98. doi: 10.1016/0022-3956(75)90026-6. PMID: 1202204.

FREITAS, Elizabete, *et al.* **Tratado de geriatria e gerontologia.**3 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013. p.73. ISBN 978-85-277-2054-0.

GREEN, Robert C *et al.* ACMG Recommendations for Reporting of Incidental Findings in Clinical Exome and Genome Sequencing. **Genet Med.** 2013 July; 15(7): 565–574. doi:10.1038/gim.2013.73.

HAER-WIGMAN, Lonneke, *et al.* 1 in 38 individuals at risk of a dominant medically actionable disease. **Eur J Hum Genet.** 2019 Feb;27(2):325-330. doi: 10.1038/s41431-018-0284-2. Epub 2018 Oct 5. PMID: 30291343; PMCID: PMC6336841.

HALL, Jeff. M., *et al.* Linkage of early-onset familial breast cancer to chromosome 17q21. **Science** 250: 1684-1689, 1990. [PubMed: 2270482]

HEHIR-KWA, Jayne Y., *et al.* “Towards a European consensus for reporting incidental findings during clinical NGS testing.” **European journal of human genetics: EJHG** vol. 23,12 (2015): 1601-6. doi:10.1038/ejhg.2015.111

IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística). Projeções da população: Brasil e unidades da federação: revisão 2018. Rio de Janeiro. Coleção Ibgeana; **Relatórios metodológicos (IBGE)**, ISSN 0101-2843.

JACOB FILHO, Wilson; SOUZA, Romeu Rodrigues de. Anatomia e fisiologia do envelhecimento. **Geriatrics: Fundamentos, Clínica e Terapêutica** [S.l: s.n.], 1994.

JOUBERT, Clémence, CHAINAY Hanna. Aging brain: the effect of combined cognitive and physical training on cognition as compared to cognitive and physical training alone - a systematic review. **Clin Interv Aging.** 2018 Jul 20; 13:1267-1301. doi: 10.2147/CIA.S165399. PMID: 30057444; PMCID: PMC6057553.

KALIA, Sarah S, *et al.* Recommendations for reporting of secondary findings in clinical exome and genome sequencing, 2016 update (ACMG SF v2. 0): a policy statement of the American College of Medical Genetics and Genomics. **Genetics in medicine**, v. 19, n. 2, p. 249-255, 2017.

KATZ, Sidney, *et al.* Studies of Illness in the Aged: The Index of ADL: A Standardized Measure of Biological and Psychosocial Function. **JAMA**. 1963;185(12):914-919. doi:10.1001/jama.1963.03060120024016.

KOBOLDT, Daniel C., *et al.* The next-generation sequencing revolution and its impact on genomics. **Cell**. 2013 Sep 26;155(1):27-38. doi: 10.1016/j.cell.2013.09.006. PMID: 24074859; PMCID: PMC3969849.

KUMAR, Kishore R., *et al.* Next-Generation Sequencing and Emerging Technologies. **Semin Thromb Hemost**. 2019 Oct;45(7):661-673. doi: 10.1055/s-0039-1688446. Epub 2019 May 16. PMID: 31096307.

LAWTON, M. Powell, BRODY Elaine M. Assesment of older people: self-maintaining and instrumental activities of daily living. **Gerontologist**. 1969; 9:179–85.

LEBRÃO, Maria Lúcia; DUARTE, Yeda. A. D. O. PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION. **O Projeto SABE no município de São Paulo: uma abordagem inicial**. 1a. Brasília, DF, Brasil: Organização Pan-Americana de Saúde, OPAS/OMS, 2003. 255 p. ISBN 8587943308.

LEBRÃO, Maria. Lúcia.; LAURENTI, Rui. Saúde, bem-estar e envelhecimento: o estudo SABE no Município de São Paulo. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 8, p. 127-141, 2005. ISSN 1980-5497.

MADLENSKY, LISA, *et al.* A Rapid Systematic Review of Outcomes Studies in Genetic Counseling. **J Genet Couns**. 2017 Jun;26(3):361-378. doi: 10.1007/s10897-017-0067-x. Epub 2017 Feb 6. PMID: 28168332.

MARDIS, Elaine R. Next-generation DNA sequencing methods. **Annu Rev Genomics Hum Genet**. 2008; 9:387-402. doi: 10.1146/annurev.genom.9.081307.164359. PMID: 18576944.

MARESOVA, Petra, *et al.* Consequences of chronic diseases and other limitations associated with old age - a scoping review. **BMC Public Health**. 2019 Nov 1;19(1):1431. doi: 10.1186/s12889-019-7762-5. PMID: 31675997; PMCID: PMC6823935.

MARINHO, Christielle L.A. *et al.* Relationship Between Quality of Life and Combusiness in Chronic Renal Patients in Hemodialysis. **Rev. Saúde.Com**. 2019; 15(3):1563-1570 Revista Saúde.Com ISSN 1809-0761 www.uesb.br/revista/rsc/ojs. doi:10.22481/rsc. v15i3.4242

McCOMBIE, W. Richard, *et al.* Next-Generation Sequencing Technologies. **Cold Spring Harb Perspect Med**. 2019 Nov 1;9(11): a036798. doi: 10.1101/cshperspect. a036798. PMID: 30478097; PMCID: PMC6824406.

MESQUITA, Geraldo V. *et al.* Morbimortalidade em Idosos por Fratura Proximal do Fêmur. **Contexto Enferm**. 2009 Jan-Mar; 18(1): 67-73.

MILLER, David T., *et al.* Recommendations for reporting of secondary findings in clinical exome and genome sequencing, 2021 update: a policy statement of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). **Genet Med** (2021a). <https://doi.org/10.1038/s41436-021-01171-4>

MILLER, David T., *et al.* ACMG SF v3.0 list for reporting of secondary findings in clinical exome and genome sequencing: a policy statement of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). **Genet Med** (2021b). <https://doi.org/10.1038/s41436-021-01172-3>

MORAES, Edgar N. Como preparar o sistema de saúde brasileiro para enfrentar o envelhecimento, tendo em vista a mudança do perfil demográfico. **Consensus**. 2014 10^a Ed. janeiro, fevereiro e março de 2014. ISSN 2594-939X. Disponível em <https://www.conass.org.br/consensus/como-preparar-o-sistema-de-saude-brasileiro-para-enfrentar-o-envelhecimento-tendo-em-vista-a-mudanca-do-perfil-demografico/>. Acesso em 12 mai.2021.

NASLAVSKY, Michel S. The contribution of population studies in healthy elders: genomic database, understanding aging and brain laterality. 2015. 214p. **Thesis (PhD)- Biosciences Institute, University of São Paulo**, São Paulo, 2015.

NASLAVSKY, Michel S., *et al.* Exomic variants of an elderly cohort of Brazilians in the ABraOM database. **Hum Mutat**. 2017 Jul;38(7):751-763. doi: 10.1002/humu.23220. Epub 2017 May 3.

NASLAVSKY, Michel S., *et al.* Whole-genome sequencing of 1,171 elderly admixed individuals from the largest Latin American metropolis.2020, (São Paulo, Brazil). <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2020.09.15.298026v1>.

OLIVEIRA-CAMPOS, Maryane *et al.* The impact of risk factors of non-communicable chronic diseases on quality of life. **Ciênc. saúde coletiva**. 2012 18 (3). <https://doi.org/10.1590/S1413-81232013000300033>

OPAS (Organização Pan-Americana de Saúde). Plano De Ação Sobre A Saúde Dos Idosos, Incluindo O Envelhecimento Ativo E Saudável: Relatório Final. **164^a Sessão Do Comitê Executivo**. Washington, D.C., EUA, 24 a 28 de junho de 2019

PETRUCELLI, Nancie, *et al.* *BRCA1* and *BRCA2*-Associated Hereditary Breast and Ovarian Cancer. 1998 Sep 4 [updated 2016 Dec 15]. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJH, Mirzaa G, Amemiya A, editors. **GeneReviews®** [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993–2021. PMID: 20301425.

PINA-NETO, João Monteiro de. Aconselhamento genético. **Jornal de Pediatria**, v. 84, n. 4, p. S20-S26, 2008.

PLÖTHNER, Marika, *et al.* Which attributes of whole genome sequencing tests are most important to the general population? Results from a German preference study. **Pharmgenomics Pers Med**. 2018 Feb 14; 11:7-21. doi: 10.2147/PGPM.S149803. PMID: 29497326; PMCID: PMC5818841.

REHM, Heidi L., *et al.* ClinGen—the clinical genome resource. **New England Journal of Medicine**, v. 372, n. 23, p. 2235-2242, 2015.

RICHARDS, Sue, *et al.* Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. **Genetics in medicine**, v. 17, n. 5, p. 405-423, 2015.

RISCH, Harvey A., *et al.* Prevalence and penetrance of germline *BRCA1* and *BRCA2* mutations in a population series of 649 women with ovarian cancer. **Am J Hum Genet.** 2001 Mar;68(3):700-10. doi: 10.1086/318787. Epub 2001 Feb 15. PMID: 11179017; PMCID: PMC1274482.

ROMAGNOLO, Alberto P., *et al.* *BRCA1* as target for breast cancer prevention and therapy. **Anticancer Agents Med Chem.** 2015;15(1):4-14. doi: 10.2174/1871520614666141020153543. PMID: 25329591.

SANTOS, Cinthya C. C., *et al.* Análise da função cognitiva e capacidade funcional em idosos hipertensos. **Rev. bras. geriatr. gerontol.**, Rio de Janeiro, v. 14, n. 2, p. 241-250, June 2011. Available from <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1809-98232011000200006&lng=en&nrm=iso>. access on 17May2021. <https://doi.org/10.1590/S1809-98232011000200006>.

SHERRINGTON, Catherine, *et al.* Exercise for preventing falls in older people living in the community. **Cochrane Database Syst Rev.** 2019 Jan 31;1(1):CD012424. doi: 10.1002/14651858.CD012424.pub2. PMID: 30703272; PMCID: PMC6360922.

SILVA, Luciano D. Impacto das comorbidades na qualidade de vida de sobreviventes de UTI: um estudo de coorte prospectiva. 2017, **Dissertação (Mestrado)-Programa de Pós-Graduação em Ciências da Reabilitação**, Fundação Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre.

SOUZA Ana Célia, *et al.* Quality of life and treatment adherence in hypertensive patients: systematic review with meta-analysis. **Rev Saúde Pública.** 2016 Dec 22; 50:71. doi: 10.1590/S1518-8787.2016050006415. PMID: 28099657; PMCID: PMC5152803.

TENG EL, CHUI HC. The Modified Mini-Mental State (3MS) examination. **J Clin Psychiatry.** 1987 Aug;48(8):314-8. PMID: 3611032.

TELENTI, Amalio, *et al.* Deep sequencing of 10,000 human genomes. **Proc Natl Acad Sci U S A.** 2016 Oct 18;113(42):11901-11906. doi: 10.1073/pnas.1613365113. Epub 2016 Oct 4. PMID: 27702888; PMCID: PMC5081584.

THAN, Nandor G., PAPP Zoltan. Ethical issues in genetic counseling. **Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.** 2017 Aug; 43:32-49. doi: 10.1016/j.bpobgyn.2017.01.005. Epub 2017 Jan 23. PMID: 28259715.

TSABEDZE, Ngoba, *et al.* The prevalence of depression, stress and anxiety symptoms in patients with chronic heart failure. **Int J Ment Health Syst.** 2021 May 12;15(1):44. doi: 10.1186/s13033-021-00467-x. PMID: 33980322; PMCID: PMC8114712.

UNITED NATIONS. World Population Prospects 2019: **Highlights**. Disponível em https://population.un.org/wpp/Publications/Files/WPP2019_10KeyFindings.pdf. p.2, item 7. June 2019. Acesso em 14 abr.2021.

VEARS, Danya F., *et al.* Reporting practices for variants of uncertain significance from next generation sequencing technologies. **Eur J Med Genet.** 2017 Oct;60(10):553-558. doi: 10.1016/j.ejmg.2017.07.016. Epub 2017 Aug 1. PMID: 28774848.

VERONESE, Nicola; MAGGI Stefania. Epidemiology and social costs of hip fracture. **Injury.** 2018 Aug;49(8):1458-1460. doi: 10.1016/j.injury.2018.04.015. Epub 2018 Apr 20. PMID: 29699731.

WALSH, Roddy., *et al.* Reassessment of Mendelian gene pathogenicity using 7,855 cardiomyopathy cases and 60,706 reference samples. **Genet Med.** 19, 192–203 (2017). <https://doi.org/10.1038/gim.2016.90>

WISE, Anastasia L., *et al.* Genomic medicine for undiagnosed diseases. **Lancet.** 2019;394(10197):533-540. doi:10.1016/S0140-6736(19)31274-7.

YANG, Mina, KIM Jong-Won. Principles of Genetic Counseling in the Era of Next-Generation Sequencing. **Ann Lab Med.** 2018;38(4):291-295. doi:10.3343/alm.2018.38.4.291.

ZHAO, Dong, *et al.* Epidemiology of cardiovascular disease in China: current features and implications. **Nature Rev Cardiol.** 2019 Apr;16(4):203-212. doi: 10.1038/s4

ZHOU, Jian, *et al.* Fall Prevention and Anti-Osteoporosis in Osteopenia Patients of 80 Years of Age and Older: A Randomized Controlled Study. **Orthop Surg.** 2020 Jun;12(3):890-899. doi: 10.1111/os.12701. Epub 2020 Jun 3. PMID: 32495521; PMCID: PMC7307256. 1569-018-0119-4. PMID: 30467329.

9 ANEXOS

Anexo I: Questionário

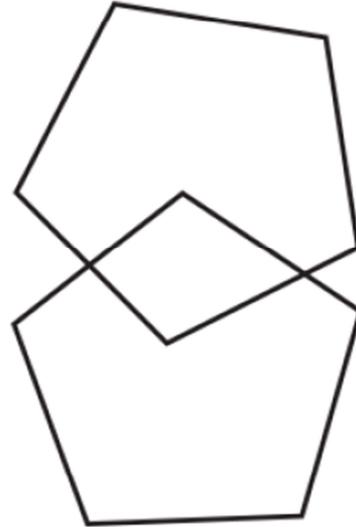
Identificação/ Dados Gerais
ID-Genoma BO:
Nome completo do entrevistado:
Data de nascimento:
Data desta entrevista:
Idade na avaliação:
Sexo:
Nome do acompanhante:
Parentesco com idoso:
Contato:
Altura: cm
Peso: kg
Estado Civil:
Filhos:
Com quem mora:
Escolaridade:
Profissão:
Cor autodeclarada:
Religião:
Comorbidades/ Sinais/ Sintomas
Hipertensão?
Asma?
Diabetes?
Tuberculose?
Bronquite?
Enfisema?
Doença Coronariana?
Infarto?

Uso de marcapasso?
Arritmia?
Insuficiência Cardíaca?
Doença de Chagas?
Acidente Vascular Encefálico - Ficou com sequela(s)? Se sim, qual (quais)?
Embolia?
Aneurisma?
Trombose?
Artrite?
Artrose?
Doença reumática?
Dor há mais de 3 meses - Onde?
Osteoporose?
Queda nos últimos 6 meses - Quantas? Houve fratura? Lesão na cabeça?
Fratura - Em que osso? Qual causa?
Anemia?
Transplante de órgão?
Dor no peito?
Inchaço persistente nos pés ou tornozelo?
Falta de ar quando está acordado?
Vertigem ou tontura persistentes?
Fadiga ou cansaço importante?
Tosse persistente há mais de 3 semanas?
Náusea persistente e vômito?
Falta de apetite?
Catarata?
Glaucoma?
Degeneração Macular Relacionada à Idade?
Consumo de álcool - Qual carga etílica? Parou? Se sim, há quanto tempo?
Tabagismo - Qual carga tabágica? Parou? Se sim, há quanto tempo?
Hipercolesterolemia?
Hipertrigliceridemia?

DST?
Hipotireoidismo?
Hipertireoidismo?
Ansiedade?
Depressão?
Síndrome do Pânico?
Esquizofrenia?
Câncer - Qual? Quando foi diagnosticado?
Doença das mamas - Qual? Quando foi diagnosticada?
Doença dos ovários - Qual? Quando foi diagnosticada?
Doença do útero - Qual? Quando foi diagnosticada?
Doença da próstata - Qual? Quando foi diagnosticada?
Adenoma intestinal/ pólipos?
Faz colonoscopia de rotina?
Cirurgia(s) prévia(s) - Qual? Quando?
Alergias medicamentosas - A que medicamento (s)?
Vacinação - Quais vacinas tomou?
Incontinência urinária? - Tipo?
Medicamentos - Quais? Posologia?
Observações:

Anexo II: Testes de Cognição – 3MS e MMSE

3MS	MMSE	Max	MMSE	Max	Observações
		3			
Data de Nascimento (DIA, MÊS, ANO)		2			
Local de Nascimento (CIDADE, ESTADO)		3		3	
Registro ("CAMISA", "MARROM", "HONESTIDADE")		2			1 pt = 1 ou 2 erros
Executivo ("5 até 1")		5		5	
Memória ("MUNDO" ao contrário)		9		3	2 pts = cada dica ("uma cor"), 1 pt = cada opção ("azul, marrom, preto")
Memória ("CAMISA", "MARROM", "HONESTIDADE")		8		1	4 pts = erro por 1 ano, 2 pts = erro por até 5 anos
Orientação Temporal ("ANO")		1		1	
Orientação Temporal ("ESTAÇÃO")		2		1	1 pt = erro por 1 mês
Orientação Temporal ("MÊS")		3		1	2 pts = erro por até 2 dias, 1 pt = erro por até 5 dias
Orientação Temporal ("DIA DO MÊS")		1		1	
Orientação Espacial ("ESTADO", "CIDADE", "BAIRRO", "HOSPITAL")		5		5	2 pts para "CIDADE"
Nomeação ("CANEJA", "RELÓGIO")				2	
Nomeação ("TESTA", "QUEIXO", "OMÍBRO", "COTOVELO", "PUNHO")		5			
Fluência ("ANIMAIS DE 4 PATAS") em 30 segundos		10			1 pt para cada
Similaridades ("BRAÇO-PERNA")		2		2	1 pt = resposta mais ou menos
Similaridades ("BRINCADEIRA")		2		2	1 pt = resposta mais ou menos
Similaridades ("COMER-DORMIR")		2		2	1 pt = resposta mais ou menos
Repetição ("EU QUERO IR PARA CASA")		2		2	1 pt = até 2 erros
Repetição ("NEM AQUI, NEM ALI, NEM LÁ")		3		1	1 pt cada parte
Leitura ("FECHE OS OLHOS")		3		1	2 pts = necessita estímulo, 1 pt = somente leitura
Escrita ("EU QUERO IR PARA CASA")		5		1	
Desenho dos Pentágonos		10		1	cada pentágono: 4 pts = lados parecidos 3 pts = lados assimétricos (≥2:1) 2 pts = outra figura fechada 1 pt = 2+ linhas
Comando Verbal ("PEGUE O PAPEL COM A MÃO ESQUERDA, DOBRE UMA VEZ, E COLOQUE NA MESA")		3		3	
Memória ("CAMISA", "MARROM", "HONESTIDADE")		9		9	2 pts = cada dica ("uma cor"), 1 pt = cada opção ("azul, marrom, preto")
Total		0	100	0	30



Anexo III: Índice de Katz

Atividade	Independente	SIM	NÃO
1. Banho	Não recebe assistência ou somente recebe em uma parte do corpo.	()	()
2. Vestir-se	Escolhe as roupas e se veste sem nenhuma ajuda, exceto para calçar sapatos.	()	()
3. Higiene Pessoal	Vai ao banheiro, usa-o, veste-se e retorna sem nenhuma assistência (pode usar bengala ou andador como apoio e usar comadre/urinol à noite).	()	()
4. Transferência	Consegue deitar e levantar de uma cama ou sentar e levantar de uma cadeira sem ajuda (pode usar bengala ou andador).	()	()
5. Continência	Tem autocontrole do intestino e da bexiga (sem "acidentes ocasionais").	()	()
6. Alimentação	Alimenta-se sem ajuda, exceto para cortar carne ou passar manteiga no pão.	()	()

FONTE: FREITAS, E.V. et al. **Tratado de Geriatria e Gerontologia**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, pp. 613, 2002

Anexo IV: Escala de Lawton & Brody

Atividade	Avaliação	
1	O(a) Sr(a) consegue usar o telefone?	Sem ajuda 3 Com ajuda parcial 2 Não consegue 1
2	O(a) Sr(a) consegue ir a locais distantes, usando algum transporte, sem necessidade de planejamentos especiais?	Sem ajuda 3 Com ajuda parcial 2 Não consegue 1
3	O(a) Sr(a) consegue fazer compras?	Sem ajuda 3 Com ajuda parcial 2 Não consegue 1
4	O(a) Sr(a) consegue preparar suas próprias refeições?	Sem ajuda 3 Com ajuda parcial 2 Não consegue 1
5	O(a) Sr(a) consegue arrumar a casa?	Sem ajuda 3 Com ajuda parcial 2 Não consegue 1
6	O(a) Sr(a) consegue fazer trabalhos manuais domésticos, como pequenos reparos?	Sem ajuda 3 Com ajuda parcial 2 Não consegue 1
7	O(a) Sr(a) consegue lavar e passar sua roupa?	Sem ajuda 3 Com ajuda parcial 2 Não consegue 1
8	O(a) Sr(a) consegue tomar seus remédios na dose e horários corretos?	Sem ajuda 3 Com ajuda parcial 2 Não consegue 1
9	O(a) Sr(a) consegue cuidar de suas finanças?	Sem ajuda 3 Com ajuda parcial 2 Não consegue 1
TOTAL		_____ pontos

Fonte: Adaptado de: BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. **Envelhecimento e saúde da pessoa idosa**. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2007. 192 p. (Série A. Normas e Manuais Técnicos) (Cadernos de Atenção Básica; n. 19). Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/abcad19.pdf>.