

**MINISTÉRIO DA SAÚDE
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
INSTITUTO RENÉ RACHOU - IRR/FIOCRUZ MINAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE COLETIVA**

**INFECÇÕES CRÔNICAS E PERFIL IMUNOLÓGICO NA COORTE DE IDOSOS DE
BAMBUÍ**

por

Beatriz Prado Noronha

**Belo Horizonte
2022**

TESE

DSC – IRR

B. P. NORONHA

2022

BEATRIZ PRADO NORONHA

**INFECÇÕES CRÔNICAS E PERFIL IMUNOLÓGICO NA COORTE DE IDOSOS DE
BAMBUÍ**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Saúde Coletiva do Instituto René Rachou, como requisito parcial para obtenção ao título de Doutora em Saúde Coletiva - área de concentração Epidemiologia.

Orientação: Prof. Dr. Sérgio William Viana Peixoto

Coorientação: Prof^a. Dr^a. Juliana Vaz de Melo Mambrini

**Belo Horizonte
2022**

Catálogo-na-fonte
Rede de Bibliotecas da FIOCRUZ
Biblioteca do IRR
CRB 6 3740/0

N85i
2022

Noronha, Beatriz Prado

Infecções crônicas e perfil imunológico na coorte de idosos de Bambuí/Beatriz Prado Noronha. – Belo Horizonte, 2022

XVII, 94 f., il.; 210 x 297mm.

Bibliografia: f. 69-87

Tese (Doutorado) – Tese para obtenção do título de Doutor em Saúde Coletiva pelo Programa de Pós-Graduação em Saúde Coletiva do Instituto René Rachou. Área de concentração: Epidemiologia

1. Citomegalovirus/patogenicidade 2. Herpes simples/patogenicidade 3. Chlamydia pneumoniae/patogenicidade 4. Sistema Imunitário I. Título. II. Peixoto, Sérgio William Viana (Orientação). III. Mambrini, Juliana Vaz de Melo (Coorientação)

CDD – 22. ed. – 616.9

BEATRIZ PRADO NORONHA

**INFECÇÕES CRÔNICAS E PERFIL IMUNOLÓGICO NA COORTE DE IDOSOS DE
BAMBUÍ**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Saúde Coletiva do Instituto René Rachou, como requisito parcial para obtenção ao título de Doutora em Saúde Coletiva - área de concentração Epidemiologia.

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Sérgio William Viana Peixoto - IRR/Fiocruz Minas (Presidente)

Prof. Dr. Márcio Sobreira Silva Araújo - IRR/Fiocruz Minas (Titular)

Profa. Dra. Tatiana Chama Borges Luz - IRR/Fiocruz Minas (Titular)

Profa. Dra. Mariângela Carneiro - UFMG (Titular)

Profa. Dra. Enirtes Caetano Prates - Melo ENSP/Fiocruz (Titular)

Profa. Dra. Sílvia Lanziotti Azevedo da Silva - UFJF (Suplente)

Tese defendida e aprovada em Belo Horizonte, 14/03/2022

*Dedico este trabalho aos meus pais, Maria e José Sebastião,
fonte inesgotável de amor e inspiração em todas as horas.*

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Professor Doutor Sérgio Peixoto, pelos valiosos ensinamentos e por participar de maneira determinante no meu processo de aprendizagem. Obrigada por incansavelmente apontar os erros e indicar com responsabilidade o rumo correto a seguir.

À minha coorientadora, Professora Doutora Juliana Mambrini, pela presteza e amabilidade em ensinar e por sempre encontrar tempo disponível para esclarecer dúvidas acerca da estatística deste trabalho.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Saúde Coletiva, pelos inestimáveis ensinamentos.

Aos parceiros do Grupo Integrado de Pesquisas em Biomarcadores (GIPB), Doutora Karen Torres, Doutor Olindo Martins-Filho e Doutora Andréa Teixeira-Carvalho, por compartilharem saberes que enriqueceram as discussões dos artigos.

Aos colegas do Núcleo de Estudos em Saúde Pública e Envelhecimento (NESPE) e do Instituto René Rachou (IRR), por todas as trocas de experiências.

Às queridas Jéssica Alves, Elislene Drummond, Gislaine Alves, Cecília Godoi e ao Juleimar Amorim, pela amizade, apoio e trocas. Vocês tornaram essa jornada mais leve e feliz.

Aos técnicos do NESPE e aos colaboradores do IRR, pelo suporte em todas as etapas, aqui representados pela Aline Sodré e Patricia Parreiras.

Aos participantes da Coorte de Idosos de Bambuí, pela colaboração importante, de maneira voluntária e solidária, para o desenvolvimento da ciência.

Ao IRR, pela infraestrutura técnica.

Às agências, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior Brasil - CAPES e a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais - FAPEMIG, pelo financiamento deste trabalho.

À banca examinadora, pela participação e contribuições para aperfeiçoamento deste trabalho.

Aos meus pais, pelo amor, dedicação, paciência e por não medirem esforços para viverem os meus sonhos comigo.

Aos meus familiares, pelas orações e por serem a melhor rede de apoio que eu poderia desejar. Obrigada por me ajudarem a perseverar nos momentos mais desafiadores.

Ao Álvaro, pelo amor, compreensão e incentivo constante, fundamentais para a realização deste trabalho.

Aos meus amados amigos, pelo apoio e por entenderem as minhas ausências.

Agradeço a Deus, por sua infinita bondade e cuidado em todo o tempo.

SUPORTE FINANCEIRO

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior Brasil - CAPES e a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais - FAPEMIG (Processos APQ-02439-15 e PPM00715-18).

RESUMO

A tese é composta por dois artigos que objetivaram investigar a associação entre infecções crônicas por diferentes agentes infecciosos e perfil imunológico, incluindo citocinas e quimiocinas, em idosos brasileiros. A exposição prévia a agentes infecciosos contribui para o aumento da inflamação entre idosos e está associada com alterações no processo de imunossenescência. No primeiro artigo, o objetivo foi identificar o perfil imunológico associado às infecções por Citomegalovírus (CMV) e Herpes vírus simples tipo 1 (HSV-1). Foi realizado um estudo transversal, com dados da linha de base da Coorte de Idosos de Bambuí - Minas Gerais. Para análise, considerou-se a presença de anticorpos G (IgG) para CMV e HSV-1 no soro dos participantes, avaliado pelo ensaio de electroquimioluminescência para CMV e o ensaio de imun absorção enzimática (ELISA) para HSV-1; os desfechos foram definidos pela titulação acima da mediana ($>399,5$ U/mL para CMV e $>160,0$ UR/mL para HSV-1). Foi definido o *Classification and Regression Tress* (CART) como método de primeira escolha para a definição de pontos de corte para cada um dos biomarcadores. Para os casos em que o método CART não conseguiu discriminar pontos de corte, optou-se por classificar os biomarcadores em tercils, exceto para aqueles que apresentaram 50% ou mais de valores não detectáveis pelo método de dosagem e que foram mantidos como detectável e não detectável. O segundo artigo foi realizado com a mesma população de estudo e teve como objetivo investigar as infecções bacterianas por *Chlamydia pneumoniae* (*C. pneumoniae*) e *Helicobacter pylori* (*H. pylori*), avaliada pelo método ELISA para as duas infecções (IgG $\geq 22,0$ UR/mL para *C. pneumoniae* e IgG $>50,0$ U/mL para *H. pylori*). Neste artigo, considerou-se o tercil da distribuição para a definição de pontos de corte dos biomarcadores, exceto para aqueles que apresentaram 50% ou mais de valores não detectáveis pelo método de dosagem e que foram mantidos como detectável e não detectável. Em ambos os artigos, foram considerados os seguintes biomarcadores: CXCL8, CXCL9, CXCL10, CCL2, CCL5, IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-12, TNF e PCR; quantificados pelo método de *Cytometric Bead Array* (CBA). As análises para determinação de pontos de corte pelo método CART foram realizadas usando a biblioteca rpart (Terry Therneau, Beth Atkinson and Brian Ripley, 2015) (R CORE TEAM, 2016) no ambiente R (R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria). Todas as outras análises foram realizadas no software Stata® versão 13.0 (StataCorp LLP, College Station, TX). Em todos os testes estatísticos foi considerado um nível de significância de 5%. Os resultados evidenciaram que a soroprevalência de anticorpos anti CMV, anti HSV-1, anti *C. pneumoniae* e anti *H. pylori* foi de 99,4%, 97,0%, 55,9% e 70,3%, respectivamente. Nas infecções por herpervírus, a associação

com IL-6 não foi consistente entre as duas infecções investigadas. Em contrapartida, a PCR foi diretamente associada a titulação de anticorpos acima da mediana para as duas infecções e também na coinfeção. Os resultados da infecção por *C. pneumoniae* revelaram a presença de um perfil misto pró-inflamatório (CXCL10) e anti-inflamatório (IL-10). Além disso, observou-se um perfil inverso de citocinas pró-inflamatórias (IL-1 β e IL-6) e anticorpos acima da mediana para *H. pylori*. Nossos dados evidenciaram altas prevalências de infecções virais e bacterianas em idosos residentes na comunidade, além da caracterização de diferentes perfis imunológicos frente às infecções crônicas. Dessa forma, os resultados contribuem com a epidemiologia das doenças infecciosas entre idosos, especialmente em países da América Latina, considerando a escassez de estudos nesta região.

Palavras-chave: Citomegalovírus; Herpes simples vírus tipo 1; *Chlamydia pneumoniae*; *Helicobacter pylori*; Inflamação; Perfil imunológico; Envelhecimento.

ABSTRACT

The thesis is composed of two studies that aimed to investigate the association between chronic infections by different infectious agents and the immunological profile, including cytokines and chemokines, of older adults Brazilians. Previous exposure to infectious agents contributes to increased inflammation among the older adults and is associated with alterations in the immunosenescence process. In the first article, the aim was to identify the immunological profile associated with Cytomegalovirus (CMV) and Herpes simplex virus type 1 (HSV-1) infections. A cross-sectional study was carried out with baseline of the Bambuí Cohort Study of Aging, Minas Gerais, Brazil. For analysis, the presence of antibodies G (IgG) for CMV and HSV-1 in the participants' serum was considered, assessed by the electrochemiluminescence assay for CMV, and the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for HSV-1; outcomes were defined by titers above the median (>399.5 U/mL for CMV, and >160.0 UR/mL for HSV-1). The Classification and Regression Trees (CART) was chosen as the first choice method for defining cutoff points for each of the biomarkers. For in cases where the CART method was unable to discriminate cutoff points, it was decided to classify the biomarkers in tertiles, except for those that presented 50% or more of values not detectable by the dosage method and that were kept as detectable and undetectable. The second article was carried out with the same study population, and aimed to investigate *Chlamydia pneumoniae* (*C. pneumoniae*) and *Helicobacter pylori* (*H. pylori*), evaluated by the ELISA method for both infections (IgG ≥ 22.0 UR/mL for *C. pneumoniae* and IgG >50.0 U/mL for *H. pylori*). In this study, the distribution tertile was considered for defining cutoff points for biomarkers, except also for those that presented 50% or more of values not detectable by the measurement method and that were kept as detectable and not detectable. In both studies, the following biomarkers were considered: CXCL8, CXCL9, CXCL10, CCL2, CCL5, IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-12, TNF and CRP; quantified by the Cytometric Bead Array (CBA) method. Analyses to determine cut-off points by the CART method were performed using the rpart library (Terry Therneau, Beth Atkinson and Brian Ripley, 2015) (R CORE TEAM, 2016) in the R environment (R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria). All other analyses were performed using Stata® software version 13.0 (StataCorp LLP, College Station, TX). In all statistical tests, a significance level of 5% was considered. The results showed that the seroprevalence of anti CMV, anti HSV-1, anti *C. pneumoniae* and anti *H. pylori* antibodies was 99.4%, 97.0%, 55.9% and 70.3%, respectively. In herpesvirus infections, the association with IL-6 was not consistent between the two infections investigated. In contrast, CRP was directly associated with antibody titers above the

median for both infections and also with co-infection. The results of *C. pneumoniae* infection revealed the presence of a mixed pro-inflammatory (CXCL10) and anti-inflammatory (IL-10) profile. In addition, an inverse profile of pro-inflammatory cytokines (IL-1 β and IL-6) and above-median antibodies to *H. pylori* was observed. Our data showed high prevalence of viral and bacterial infections in older adults living in the community, in addition to the characterization of different immunological profiles in the face of chronic infections. Thus, the results contribute to the epidemiology of infectious diseases among the older adults, especially in Latin American countries, considering the scarcity of studies in this region.

Keywords: Cytomegalovirus; Herpes simplex virus type 1; *Chlamydia pneumoniae*; *Helicobacter pylori*; Inflammation; Immunological profile; Ageing.

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Descrição das variáveis de ajuste e categorizações.....	46
--	----

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Múltiplos mecanismos pelos quais a infecção pode contribuir para o desenvolvimento e curso da aterosclerose.....39
- Figura 2 - Mecanismos patogênicos induzidos por infecções crônicas e papel da vacinação anti-aterosclerose (IL - Interleucinas, IFN - Interferon, TNF - fator de necrose tumoral, TLRs - receptores semelhantes a toll, MMP - metaloproteinase de matriz, HSP - proteína de choque térmico, Th - células T auxiliares, PAI - inibidor do ativador do plasminogênio, GM-CSF - fator estimulador de colônias de monócitos de granulócitos).....41
- Figura 3 - Seleção da população do estudo - Coorte de Idosos de Bambuí43

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- ATP - Trifosfato de Adenosina
- AVE - Acidente Vascular Encefálico
- C. pecorum - Chlamydia pecorum
- C. pneumoniae - Chlamydia pneumoniae
- C. psittaci - Chlamydia psittaci
- C. trachomatis - Chlamydia trachomatis
- CAC - Calcificação Arterial Coronariana
- CAPES - Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior Brasil
- CART - Classification and Regression Trees
- CBA - Cytometric Bead Array
- CCL2 - Quimiocina 2
- CCL5 - Ligante de Quimiocina CC 5 ou Rantes
- Células NK - Células Natural Killer
- CDC - Centers for Disease Control and Prevention
- CG - Câncer Gástrico
- CMV - Citomegalovírus
- CMVD - Grupo com Doença pelo CMV
- CNPq - Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
- CXCL10 - Proteína 10 Induzida por Interferon Gama
- CXCL8 - Membro da Família das Quimiocinas CXC
- CXCL9 - Monocina Induzida por Interferon Gama
- DCNT - Doenças Crônicas não Transmissíveis
- DCs - Células Dendríticas
- DCV - Doenças Cardiovasculares
- DNA - Ácido Desoxirribonucleico
- DPOC - Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica
- ECLIA - Electrochemiluminescence Immunoassay
- ELISA - Ezyme Linked Immunoabsorbent Assay
- EUA - Estados Unidos da América
- FAPEMIG - Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais
- GTP - Trifosfato de Guanosina
- H. pylori - Helicobacter Pylori

HAV - Vírus da Hepatite A
HHV - Herpervírus Humano
HHV-6 - Herpervírus Humano 6
HHV-7 - Herpervírus Humano 7
HHV-8 - Herpervírus Humano 8
HIV - Vírus da Imunodeficiência Adquirida
HSV-1 - Herpes Vírus Simples Tipo 1
HSV-2 - Herpes Vírus Simples Tipo 2
IC - Intervalo de Confiança
ICAM-1 - Molécula de Adesão Intercelular
IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IFNs - Interferons
IFN- γ - Interferon Gama
IgG - Imunoglobulina G
IgM - Imunoglobulina M
IL-10 - Interleucina-10
IL-12 - Interleucina-12
IL-1 β - Interleucina 1 Beta
IL-6 - Interleucina 6
INCA - Instituto Nacional do Câncer
IRR - Instituto René Rachou
LDL - Lipoproteínas de Baixa Densidade
LPS - Lipopolissacarídeos
MALT - Linfoma de Tecido Linfoide Associado à Mucosa
MET - Taxa de Equivalentes Metabólicos
MFI - Intensidade Média de Fluorescência
MIF - Teste De Microimunofluorescência
NESPE - Núcleo de Estudos em Saúde Pública e Envelhecimento
NF-kB - Fator Nuclear Kappa B
NIAAA - National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism
NOD - Nucleotide-Binding Oligomerization Domain
OMS - Organização Mundial de Saúde
OR - Odds Ratio
PAMPs - Padrões Moleculares Associados a Patógenos

PCR - Reação em Cadeia da Polimerase (Polymerase Chain Reaction)

PCRus - Proteína C Reativa Ultra Sensível

PGN - Peptidoglicano

PIR - Perfil Imunológico de Risco

RNAm - Ácido Ribonucleico Mensageiro

SAT - Teste do Antígeno das Fezes

SIDA - Síndrome da Imunodeficiência Adquirida

SNC - Sistema Nervoso Central

TCLE - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Th1 - Células Helpers T do Tipo 1

Th2 - Células Helpers T do Tipo 2

TNF-alfa - Fator de Necrose Tumoral Alfa

TLRs - Receptores Toll-like

UFMG - Universidade Federal de Minas Gerais

UV - Raios Ultravioletas

VCAM-1 - Molécula de Adesão Vascular

VZV - Varicela Zoster Vírus

WHO - World Health Organization

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA	18
2. OBJETIVOS	20
2.1 Objetivo Geral	20
2.2 Objetivos Específicos	20
3. REVISÃO DE LITERATURA	21
3.1 Infecções Crônicas	21
3.1.1 Citomegalovírus	21
3.1.2 Herpes Vírus Simples Tipo 1	24
3.1.3 <i>Chlamydia pneumoniae</i>	26
3.1.4 <i>Helicobacter pylori</i>	29
3.2 Infecções, Imunologia e Envelhecimento.....	33
3.2.1 Infecções Crônicas e Imunologia.....	35
4. METODOLOGIA	42
4.1 Fonte de Dados e Desenho do Estudo	42
4.2 Variáveis.....	43
4.2.1 Infecções (Variáveis dependentes)	43
4.2.2 Biomarcadores (Variáveis independentes).....	44
4.2.3 Variáveis de ajuste	45
4.3 Análise Estatística.....	47
5. APRESENTAÇÃO DOS ARTIGOS	49
5.1 Artigo 1	50
5.2 Artigo 2	58
6. CONCLUSÃO	65
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS	67
REFERÊNCIAS	69
APÊNDICE	88
ANEXO	93

APRESENTAÇÃO

Este volume contém a tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Saúde Coletiva do Instituto René Rachou - Fiocruz Minas, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutora em Saúde Coletiva, área de concentração Epidemiologia. A tese insere-se na linha de pesquisa Envelhecimento e Saúde e foi desenvolvida no Núcleo de Estudos em Saúde Pública e Envelhecimento - NESPE. A liderança do NESPE está a cargo dos pesquisadores Maria Fernanda Furtado de Lima e Costa e Sérgio Viana Peixoto. O grupo tem como missão desenvolver pesquisas em Saúde Pública, com ênfase em Saúde do Idoso. Os principais projetos do grupo são: Coorte de Idosos de Bambuí, EPIGEN-Brasil - Epidemiologia genômica de doenças complexas em coortes brasileiras de base populacional e ELSI-Brasil - Estudo longitudinal da saúde dos idosos brasileiros.

O trabalho final foi elaborado em formato de coletânea de artigos científicos originais em conformidade com o que estabelece o Regimento do Programa de Pós-Graduação em Saúde Coletiva. O volume contém dois artigos que utilizaram como fonte de informações os dados Coorte de Idosos de Bambuí - Minas Gerais. O primeiro artigo intitula-se “Cytomegalovirus and herpes simplex type 1 infections and immunological profile of community-dwelling older adults” e o segundo artigo “Chlamydia pneumoniae and Helicobacter pylori infections and immunological profile of community-dwelling older adults”, ambos publicados na *Experimental Gerontology*.

1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

A longevidade foi uma das grandes conquistas do século 20 e hoje o envelhecimento populacional faz parte da realidade da maioria das sociedades. No entanto, enquanto os países desenvolvidos levaram anos para envelhecer, os países em desenvolvimento estão envelhecendo em ritmo acelerado e antes de conseguirem reduzir suas disparidades econômicas e sociais (WHO, 2012). A França, por exemplo, teve um aumento de 10 a 20% de sua população com 60 anos ou mais de idade e esse crescimento levou cerca de 150 anos para acontecer. Por outro lado, o Brasil vivencia um aumento significativo da população idosa em menos de 20 anos (WHO, 2015).

Nos países em desenvolvimento, são considerados idosos indivíduos com 60 anos ou mais de idade (BRASIL, 2007b; BRASIL, 2007c). No Brasil, esse grupo representava 9,7% da população em 2004 e 13,7% em 2014. Nos últimos anos, a população brasileira manteve a tendência de crescimento superando a marca dos 30,2 milhões em 2017, com a projeção de que os idosos representarão 18,6% da população do país em 2030 e 33,7% em 2060 (IBGE, 2015; IBGE, 2018). O rápido envelhecimento da população aumenta os desafios em áreas como saúde, seguridade social, emprego, educação, habitação e desenvolvimento urbano.

Frente a esse contexto, observou-se a necessidade de conhecer melhor aspectos relacionados à saúde dos idosos, como estratégia fundamental para o planejamento das ações em Saúde Pública (VASCONCELOS, 2004). O aumento da longevidade da população trouxe um incremento da incidência e prevalência de doenças crônicas não transmissíveis (DCNT), bem como alterações no perfil de transmissão de doenças infecciosas (GOTTLIEB et al., 2011). As infecções crônicas exercem importante influência no processo de envelhecimento, tanto pelo dano direto causado pelo microrganismo nos tecidos infectados, quanto pelo impacto indireto no organismo, sobretudo pela indução do processo inflamatório (GAVAZZI & KRAUSE, 2002; CHATZIDIMITRIOU et al., 2012).

A inflamação aumenta com a idade e está associada a muitas doenças crônicas prevalentes entre idosos. Patógenos persistentes, como herpesvírus latente e agentes infecciosos bacterianos, podem atuar como fonte de inflamação. Os herpesvírus, incluindo o citomegalovírus (CMV) e o herpes vírus simples tipo 1 (HSV-1), e infecções bacterianas por *Chlamydia pneumoniae* (*C. pneumoniae*) e *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) estabelecem infecções latentes após a infecção primária e são reativados quando o sistema imunológico celular está comprometido. A replicação desses agentes infecciosos pode induzir a produção de

citocinas pró-inflamatórias e desencadear um processo de inflamação sistêmica. A inflamação prediz morbidade e mortalidade por todas as causas em idosos (DE MARTINIS et al., 2006).

Além disso, níveis elevados de citocinas pró-inflamatórias estão associados a muitas doenças relacionadas à idade, incluindo diabetes tipo 2, câncer, doença de Alzheimer, doenças cardiovasculares (DCV), síndrome metabólica e artrite (SCHMALTZ et al., 2005; AIELLO et al., 2006; SZKLO et al., 2009; WANG et al., 2010; CHATZIDIMITRIOU et al., 2012; PADMAVATI et al., 2012; HAESEKER et al., 2013; LAEK et al., 2013). Embora alguns biomarcadores tenham seus níveis basais aumentados em função da idade, outros fatores além do envelhecimento contribuem para a inflamação sistêmica entre idosos (SHURIN et al., 2007).

A soroprevalência de CMV em idosos está compreendida entre 80-100% em países em desenvolvimento (JUNQUEIRA et al., 2008; PANNUTI, 2009). De modo semelhante, as infecções por *C. pneumoniae* e HSV-1 apresentam elevadas taxas de prevalência na população idosa, 67,2% e 87,0% respectivamente, e são consideradas infecções comuns e endêmicas no mundo (COSTA CLEMENS & FARHAT, 2010; SEHNEM et al., 2010). A bactéria *H. pylori*, por sua vez, coloniza o estômago de mais da metade da população idosa mundial e a infecção por este agente infeccioso é a causa mais comum de gastrite e úlcera péptica (KUSTERS et al., 2006; BIONDA et al., 2020).

Considerando o crescente aumento da população idosa, o estudo dos fatores associados ao processo de envelhecimento é fundamental. A maior parte da literatura sobre o envelhecimento foi produzida em países desenvolvidos com características socioeconômicas que diferem muito de países em desenvolvimento. Uma vez que os determinantes do envelhecimento ativo são influenciados por condições territoriais, como baixos níveis socioeconômico e educacional, ressalta-se a importância de investir em estudos que acompanham a saúde e qualidade de vida da população idosa em países em desenvolvimento nos quais os quadros infecciosos podem ser ainda mais graves (LIMA-COSTA, 2012). Pelo nosso conhecimento, este constitui o primeiro estudo dessas associações em um país latino-americano, o que poderá contribuir para um melhor entendimento sobre a associação de infecções crônicas e o perfil imunológico entre idosos residentes nessa região.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Estudar a associação entre perfil imunológico e infecções crônicas em idosos.

2.2 Objetivos Específicos

- Estimar a prevalência das infecções por citomegalovírus, herpes simples vírus tipo 1, *Chlamydia pneumoniae* e *Helicobacter pylori* na Coorte de Idosos de Bambuí.
- Avaliar a associação entre perfil imunológico e a presença de infecções crônicas por citomegalovírus, herpes simples vírus tipo 1, *Chlamydia pneumoniae* e *Helicobacter pylori* na Coorte de Idosos de Bambuí.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Infecções crônicas

Os quadros infecciosos podem manifestar-se de duas formas: aguda e crônica (persistente). Nas infecções agudas o agente infeccioso é eliminado rapidamente do organismo do hospedeiro e esse processo pode acontecer de modo sintomático ou assintomático, isto é, sem sintomas aparentes. Nas infecções crônicas, os patógenos apresentam mecanismos imunológicos que garantem sua permanência por mais tempo e desencadeiam um estado de latência que pode permanecer assintomático por meses ou até anos (BARKER, 2004).

As infecções em idosos apresentam-se de maneira diferente em comparação a adultos mais jovens e comumente são mais frequentes e mais graves (GAVAZZI & KRAUSE, 2002). Em função disso, as taxas de hospitalização e mortalidade por doenças infecciosas são mais altas entre idosos, sobretudo em pessoas com 85 anos ou mais de idade (CURNS et al., 2005). Eventos adversos de saúde como pneumonia, gripe e complicações derivadas de bacteremia estão entre as dez principais causas de morte neste grupo etário (YOSHIKAWA, 2000).

Os motivos para o aumento da suscetibilidade às infecções em idosos são complexos, multifatoriais e ainda não foram completamente compreendidos. No entanto, sabe-se que as comorbidades relacionadas a idade e a maior probabilidade de passar tempo em hospitais ou lares de idosos, somadas às mudanças normais do envelhecimento, aumentam o risco de infecção em idosos (GAVAZZI & KRAUSE, 2002; CURNS et al., 2005).

3.1.1 Citomegalovírus

A histopatologia do citomegalovírus (CMV) foi descrita pela primeira vez em 1904, quando observou-se a presença de células contendo inclusões intranucleares nos rins de uma criança com sífilis congênita. Porém, o vírus foi isolado apenas em 1975 por Craig e colaboradores (CRAIG et al., 1957). Em 1960, foi proposta por Weller as denominações citomegalovirose e citomegalovírus, em função da observação de uma alteração celular (citomegalia) induzida pela infecção viral em questão (KLUGE et al., 1960). Em sua composição, o CMV apresenta genoma constituído de um ácido desoxirribonucleico linear (DNA) de cadeia dupla que se encontra no interior do capsídeo icosaedro, envolvido por uma matriz amorfa protéica (tegumento) e por uma bicamada lipídica de envelopes que cobrem as glicoproteínas virais (TAYLOR, 2003; CROUGH & KHANNA; 2009; PANNUTI, 2009).

Em relação aos aspectos epidemiológicos, a infecção por CMV é universal e acomete pessoas de todas as faixas etárias, classes sociais e raças (TAYLOR, 2003; MARSHALL &

STOUT, 2005; SHEEMAR et al., 2005; PANNUTI, 2009). As taxas de soroprevalência para o CMV em populações em desenvolvimento são maiores, como observado no continente Sul Americano e Africano, (80-100%); enquanto populações de países desenvolvidos apresentam prevalências entre 40-60% (ATAMAN et al., 2007; JUNQUEIRA et al., 2008). No Brasil, a prevalência para o CMV é considerada elevada, com taxas que variam de 65,0 a 85,0% na população geral (PANNUTI et al., 2009; MENDRONE, 2010).

A elevada frequência de anticorpos na população economicamente menos favorecida está relacionada aos maus hábitos de higiene, às más condições sanitárias e de moradia e a piores níveis socioeconômico e educacional (CANNON et al., 2010). Certamente que o conjunto desses fatores, associados à biologia viral e à deficiência imunológica, contribuem para a manutenção do perfil epidemiológico do vírus na população (PLOSA et al., 2012; DIOVERTI & RAZONABLE, 2016).

A infecção pelo CMV pode ocorrer por vias naturais, pelo contato pessoal íntimo, troca de líquidos e secreções corporais (saliva, sangue, fezes, sêmen, lágrima, etc.) e também por via iatrogênica (medicamento ou tratamento médico) (TAYLOR, 2003; PANNUTI, 2009). O contato com o vírus ocorre frequentemente no início da vida e a probabilidade de infecção aumenta proporcionalmente com a idade (CANNON et al., 2010). A infecção primária tem um pico bimodal, o primeiro pico ocorre durante a gestação ou a primeira infância e o segundo durante a vida adulta (GRIFFITHS & BABOONIAN, 1984; STAGNO & WHITLEY, 1985).

A doença associada à infecção por CMV é menos prevalente e recebe o nome de citomegalovirose ou doença de inclusão citomegálica. A citomegalovirose pode comprometer órgãos específicos, como os olhos, pulmões, sistema nervoso central, fígado, pâncreas e o trato gastrointestinal (RENE et al., 1988; KAUFMAN et al., 1999; GALIATSATOS et al., 2005). Além disso, pode causar quadros de hepatite, pneumonia e inflamação da retina com possibilidade de evoluir para cegueira (BURNY et al., 2004; GRIFFITHS & WALTER, 2005). Portanto, a citomegalovirose é considerada importante causa de morbimortalidade, especialmente em indivíduos imunodeprimidos que encontram-se mais vulneráveis aos sintomas graves da doença durante o processo de reativação do vírus no organismo (LANG et al., 2002; ASSY et al., 2007). A reativação do CMV apresenta uma taxa que varia de 0,5 a 1,0% por ano entre indivíduos com 60 a 65 anos e, possivelmente, apresenta um pico aos 30 e 35 anos de idade (HECKER et al., 2004).

A infecção por CMV é considerada uma das principais causas de infecção congênita e perinatal, ao mesmo tempo em que apresenta-se como um evento de saúde grave no período pós-natal em indivíduos imunodeprimidos e imunossuprimidos (STAGNO et al., 1982;

STAGNO & WHITLEY, 1985; YAMAMOTO et al., 1999; JUST-NUBLING et al., 2003; SILVA et al, 2011). A citomegalovirose congênita pode ser grave, sobretudo se adquirida no primeiro trimestre da gestação, quando é capaz de acarretar sequelas neurológicas, oculares e auditivas no bebê. Todavia, apenas 5 a 20% das infecções congênitas pelo CMV são sintomáticas ao nascimento; dentre os sintomas observa-se os quadros de hepatoesplenomegalia (aumento do fígado e baço) e microcefalia (condição em que a cabeça é significativamente menor do que o esperado devido ao desenvolvimento anormal do cérebro) em recém-nascidos (AZEVEDO et al., 2005).

Outras doenças também podem ser desenvolvidas a partir do contato com o CMV. Em crianças, é comum observar a doença de inclusão congênita fulminante. Já em adultos, o quadro mais frequente é o de mononucleose infecciosa que é uma doença febril aguda e transmissível (FONSECA et al, 1994; BRASIL, 2010). Em pessoas imunocomprometidas, a primo-infecção manifesta-se como um quadro mais grave de mononucleose infecciosa que pode evoluir para infecção latente ou para citomegalovirose (ESCOBAR et al., 1970; ERICE et al., 2003; GRIFFITHS & WALTER, 2005).

O isolamento viral na urina é o método de diagnóstico clássico devido aos elevados títulos de DNA nesse meio, principalmente na infecção congênita e sintomática (DEMMLER et al., 1988; MUSSI-PINHATA & YAMAMOTO, 1999). Em idosos, alguns estudos não evidenciaram a presença de DNA de CMV no plasma ou em leucócitos periféricos, reforçando, assim, a importância dos testes na urina para essa população (KHAN et al., 2002; VESCOVINI et al., 2004; STOWE et al., 2007). A *Polymerase Chain Reaction* (PCR), técnica baseada na amplificação seletiva de sequências específicas de ácido nucléico, funciona como método alternativo e apresenta vantagens sobre isolamento viral, como a rapidez na obtenção dos resultados (DEMMLER et al., 1988).

No entanto, como a infecção pelo CMV pode apresentar sintomas comuns a outras infecções, o diagnóstico mais indicado é a combinação de dados clínicos e de testes imunológicos. Caso o quadro de infecção esteja acompanhado de alguma síndrome clínica, como o quadro de citomegalovirose, o isolamento viral em culturas de fibroblastos humanos também é um método adotado como padrão ouro. Além disso, os métodos sorológicos para detecção de imunoglobulina M (IgM) e G (IgG), como imunofluorescência indireta (IFI), *Enzyme Linked Immunoabsorbent Assay* (ELISA) e radioimunoensaio, são amplamente utilizados para rastrear doenças relacionadas à infecção por CMV (BENNETT et al., 2015).

Alguns autores sugerem que os repetidos ciclos de reativação e replicação do CMV têm o potencial de amplificar ou perpetuar o estado pró-inflamatório dos indivíduos, podendo

explicar o sinergismo entre infecção e inflamação (ABECASSIS & HUMEL, 2002; SCHMALTZ et al., 2005). Ressalta-se ainda, que o dano celular provocado pela ativação da via inflamatória devido à constante reativação do CMV ao longo da vida, tem sido considerado um componente importante do processo de imunossenescência que impacta no aumento da suscetibilidade a outras infecções (CRISCUOLI et al., 2006; LAWLOR & MOSS, 2010). O CMV vem sendo associado ao desenvolvimento de DCV, fragilidade, câncer, alterações no funcionamento cognitivo, incluindo demência, comprometimento funcional e mortalidade entre idosos (PAPADAKIS et al., 2001; SCHMALTZ et al., 2005; AYRE et al., 2009; CROUGH et al., 2009; CRUMPACKER, 2010; ROBERTS et al., 2010). Acredita-se que o CMV contribua para a progressão de processos patológicos, principalmente por meio de mecanismos inflamatórios, nos quais a infecção induz a produção de citocinas e proteínas de fase aguda (CRISCUOLI et al., 2006).

3.1.2 Herpes Vírus Simples Tipo 1

O herpesvírus simples pertence a família *herpesviridae* e que ao todo abrange oito herpesvírus humanos (HHV) envelopados. Os vírus desta família foram agrupados em três subfamílias: alphaherpesvirinae (herpesvírus simples e varicela zoster vírus -VZV), betaherpesvirinae (citomegalovírus humano, herpesvírus humano 6 e 7 - HHV-6; HHV-7) e gammaherpesvirinae (vírus Epstein-Bar e HHV-8) (WHITLEY & ROIZMAN, 2001).

O herpesvírus simples chama a atenção devido às suas propriedades biológicas, particularmente a habilidade de causar diferentes tipos de infecções e de permanecer latente no seu hospedeiro (WHITLEY & ROIZMAN, 2001). Existem dois sorotipos de herpesvírus simples, o herpes simples tipo 1 (HSV-1) e herpes simples tipo 2 (HSV-2) (NAHMIAS & DOWDLE, 1968). Do ponto de vista estrutural, os sorotipos HSV-1 e HSV-2 diferem quanto aos sítios de restrição e também em relação ao tamanho de suas proteínas virais. Outra diferença significativa é devido ao local das manifestações clínicas associadas a cada infecção. Infecções orais, na conjuntiva e encefalites geralmente são causadas pelo HSV-1; enquanto infecções genitais e neonatais são associadas mais frequentemente pelo HSV-2 (WHITLEY & ROIZMAN, 2001; WHITLEY & KIMBERLIN, 2005). Por isso, costuma-se dizer que o HSV-1 é responsável por causar infecções acima da cintura, ao passo que o HSV-2 é responsável por infecções abaixo da cintura nos seres humanos.

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), 3,7 bilhões de pessoas com menos de 50 anos, 67% da população, tiveram infecção por HSV-1 em 2012 (WHO, 2017). Os seres humanos são os hospedeiros naturais do HSV-1 e a infecção por esse agente infeccioso é

altamente contagiosa, comum e endêmica no mundo (STANBERRY et al, 1999). A infecção primária ocorre basicamente na infância, geralmente entre 2 e 10 anos de idade. O principal mecanismo de transmissão do HSV-1 ocorre via oral-oral, quando o vírus entra em contato com a saliva, superfícies dentro ou ao redor da boca e, principalmente, em feridas ativas (STANBERRY et al, 1999; PANNUTI, 2009). Esse mecanismo de transmissão é conhecido por infecção herpes oral e ocorre na maioria das vezes de forma assintomática (KOLOKOTRONIS & DOUMAS, 2006). Ainda assim, podem haver sintomas como bolhas dolorosas ou feridas abertas (úlceras), comumente chamadas de herpes labial. Indivíduos sintomáticos frequentemente experimentam uma sensação de formigamento, coceira ou ardor ao redor da boca antes do aparecimento de feridas. Além disso, após a infecção inicial, as bolhas ou úlceras podem reaparecer periodicamente (STANBERRY et al, 1999). Gengivostomatites herpéticas representam a manifestação clínica mais comum da infecção primária por HSV-1, com uma taxa de prevalência de 25 a 30% das crianças infectadas (AMIR et al., 1999). O HSV-1 é mais contagioso durante um surto de herpes oral sintomático, mas também pode ser transmitido na ausência de sintomas (WHO, 2017).

Além disso, a infecção por HSV-1 também pode ser transmitida através da área genital por meio do contato oral-genital, caracterizando o quadro de herpes genital (MERTZ et al., 2003). O herpes genital causado pelo HSV-1 pode ser assintomático ou apresentar sintomas leves (WHO, 2017). Quando os sintomas ocorrem, o herpes genital é caracterizado por uma ou mais bolhas/úlceras genitais ou anais. Após um episódio inicial de herpes genital, os sintomas podem reaparecer em períodos diferentes (STANBERRY et al, 1999; MERTZ et al., 2003). Observa-se que a maioria das infecções genitais por HSV-1 ocorre nas Américas, Europa e no Pacífico Ocidental (COHEN, 2012).

Em indivíduos imunodeprimidos, como HIV positivos ou transplantados, o HSV-1 pode ter sintomas mais graves e apresentar-se mais frequentemente (WEINBERG et al., 1989; PANNUTI, 1995; PANNUTI, 2003). A maior parte das pessoas imunodeprimidas apresenta lesões logo após o início da excreção viral no organismo. As lesões podem ser localizadas e autolimitadas ou causar quadros sistêmicos com disseminação hematogênica que acomete pele, fígado, pulmões, glândulas adrenais e o sistema nervoso central (SNC) (PANNUTI, 1995).

Em raras circunstâncias, a infecção por HSV-1 pode ser transmitida de uma mãe com infecção genital para o seu bebê durante o parto. Apesar da frequência deste evento ser considerada baixa, 10 em cada 100.000 nascimentos em todo o mundo, a infecção por transmissão vertical pode levar à incapacidade neurológica duradoura e evoluir para óbito do bebê (CARVALHO et al., 2014). O risco de herpes neonatal é maior quando a mãe adquire a

primeira infecção por HSV-1 no final da gravidez. Todavia, as mulheres que têm herpes genital antes de engravidar têm um risco baixo de transmitir o HSV-1 aos seus filhos (CARVALHO et al., 2014).

Até o final da década de 50, a maioria dos isolamentos virais era realizada através da inoculação em animais ou em membrana corioalantóica (membrana extraembrionária do embrião da galinha) (COMÇA et al., 2017). A introdução da técnica de cultura celular tornou mais eficaz o isolamento viral e, desse modo, foi possível realizar o diagnóstico clínico nas lesões físicas provocadas pelo vírus (PANNUTI, 2003). O exame de PCR, além de fornecer um diagnóstico rápido, também tem se mostrado mais sensível que o clássico isolamento viral para detecção do vírus em úlceras causadas pelo HSV-1 e ainda permite a diferenciação direta entre HSV-1 e HSV-2 (YIP et al., 2019; NISHAT et al., 2021).

Após a instalação do HSV-1 no organismo, podem ocorrer repetidos ciclos de reativação e replicação viral, processo responsável por perpetuar o estado pró-inflamatório no indivíduo infectado (SCHMALTZ et al., 2005). A reativação ocorre em função de estímulos que podem ser locais ou sistêmicos, como sobrecarga física e mental, febre, exposição aos raios ultravioletas (UV), dano tecidual e imunossupressão. As alterações induzidas pela replicação do HSV-1 são similares na infecção primária e recorrente, mas a severidade da lesão pode variar consideravelmente (WHITLEY & ROIZMAN, 2001).

3.1.3 *Chlamydia pneumoniae*

Os microrganismos pertencentes ao gênero *Chlamydia* não podem sintetizar Trifosfato de Adenosina (ATP) ou Trifosfato de Guanosina (GTP), sendo assim, são obrigatoriamente parasitas intracelulares; classificados como bactérias Gram-negativas devido à composição da parede celular e o crescimento por divisão binária (MURRAY et al., 2006). As bactérias do gênero *Chlamydia* têm ciclo de vida bifásico único com uma forma extracelular menor, o corpo elementar e uma forma maior intracelular replicante, o corpo reticulado (ELWELL et al., 2016). Quatro espécies do gênero *Chlamydia* são conhecidas: *Chlamydia trachomatis* (*C. trachomatis*), *Chlamydia psittaci* (*C. psittaci*), *Chlamydia pneumoniae* (*C. pneumoniae*) e *Chlamydia pecorum* (*C. pecorum*) (MURRAY et al., 2006).

A *C. pneumoniae* foi a terceira espécie a ser identificada, sendo isolada pela primeira vez em 1965 da conjuntiva de uma criança taiwanesa que participava da fase de teste de uma pesquisa para o desenvolvimento de vacina contra o tracoma (KUO et al., 1986). A bactéria isolada foi inoculada no saco vitelino de um ovo de galinha embrionado, o único método disponível para crescimento de *Chlamydia* na época. Posteriormente, quando os meios de

cultura celular foram enriquecidos e se tornaram mais acessíveis, outros experimentos foram realizados e comprovaram que se tratava de uma nova espécie de *Chlamydia*, mesmo depois que os resultados sorológicos sugeriram que a *C. pneumoniae* não estava relacionada à doença ocular em questão (DWYER et al., 1972). Posteriormente, verificou-se que algumas doenças anteriormente atribuídas a *C. psittaci* foram na verdade devido a *C. pneumoniae* (SCHAFFNER et al., 1967).

O primeiro isolado respiratório com *C. pneumoniae* foi obtido de estudantes universitários com infecções respiratórias agudas residentes em Seattle - Washington (GRAYSTON et al., 1986). Em seguida, verificou-se que outra cepa da *C. pneumoniae* estava associada à pneumonia e, a partir de então, este microrganismo foi classificado como agente infeccioso para humanos, tornando-se responsável por uma enorme carga de doenças (SCHACHTER & CALDWELL, 1980; SAIKKU et al., 1985; FEIN, 1999). Esse fato foi confirmado em uma epidemia de Ornithosis no norte da Europa na década de 1980 e também durante um surto de doença respiratória em uma escola de meninos ingleses em 1983 (PERSSON & TREHARNE, 1989; PETHER et al., 1989). Embora a infecção por *C. pneumoniae* seja predominantemente assintomática, alguns casos podem resultar no desenvolvimento de doenças respiratórias aguda superior e/ou inferior, incluindo bronquite, faringite, sinusite e pneumonia (FEIN, 1999).

A infecção primária por *C. pneumoniae* ocorre mais frequentemente em crianças, principalmente com idades entre 5 e 15 anos, com uma prevalência que varia de 15 a 59% (GRAYSTON et al., 1990). Um estudo realizado no Japão com 4.756 pessoas com idades entre 6 meses e 88 anos, revelou que os níveis de anticorpos anti *C. pneumoniae* aumentaram rapidamente em crianças com idades entre 5-9 anos (40%). A prevalência foi de 57% entre pessoas na faixa etária dos 20-29 anos e atingiu um pico de 70% em mulheres e 80% em homens com 60 anos ou mais de idade (KANAMOTO et al., 1991; GRAYSTON, 2000). Portanto, parte significativa dos adultos tem evidência sorológica de infecção passada para *C. pneumoniae* e estima-se que as reinfecções são frequentes, sobretudo entre idosos (GRAYSTON et al., 1990; KUO et al., 1995).

As infecções por *C. pneumoniae* ocorrem todos os anos, mas há mudanças cíclicas na incidência. Na Dinamarca, durante aproximadamente dois a três anos ocorreu uma alta incidência de casos de infecções por *C. pneumoniae*, porém esse período foi seguido por três a quatro anos de baixa incidência (GRAYSTON et al., 1989). Testes retrospectivos de soros coletados de pacientes com pneumonia em Seattle entre 1963 e 1975, indicaram que a alta

incidência de infecção por *C. pneumoniae* segue um ciclo de quatro anos nessa população (ALDOUS et al., 1992; GRAYSTON, 1992).

Os seres humanos são o único reservatório conhecido de *C. pneumoniae* e acredita-se que a transmissão ocorra de pessoa para pessoa através de secreções respiratórias (FALSEY & WALSH, 1993; HAMMERSCHLAG & KUMAR, 2008). Esse tipo de transmissão pode ocorrer dentro de casa através do contato familiar, mas é mais comum adquiri-la fora de casa, em ambientes com aglomeração de pessoas. A transmissão em ambiente hospitalar também já foi evidenciada, embora o mecanismo exato de transmissão não tenha sido determinado (HAMMERSCHLAG & KUMAR, 2008). Já a transmissão secundária parece ser menos relevante, conforme demonstrado por um estudo que acompanhou estudantes da Universidade de Washington com infecção por *C. pneumoniae* e também por um estudo longitudinal realizado com famílias de Seattle, nos quais poucos casos de infecção secundária foram identificados (ALDOUS et al., 1992; GRAYSTON et al., 1993).

A infecção por *C. pneumoniae* tem ganhado a atenção de pesquisadores e vem sendo colocada no centro de discussões sobre saúde, dado que esse agente infeccioso é responsável pela maioria das infecções por *Chlamydia* em humanos (CDC, 2016). Estudos revelam que a *C. pneumoniae* é responsável por 10% dos casos de pneumonia adquirida na comunidade e 5% dos casos totais de bronquite e de sinusite (KAUPPINEN & SAIKKU, 1995; CUNHA, 2006).

Parte significativa do conhecimento epidemiológico sobre a infecção por *C. pneumoniae* foi consequência da realização de estudos sorológicos que utilizaram o teste de microimunofluorescência (MIF) (BLACK, 1997). Novos testes diagnósticos acrescentaram melhorias na qualidade dos resultados através da inserção de técnicas de isolamento e a aplicação da técnica de PCR que proporcionaram uma avaliação microbiológica mais profunda (DOWELL et al., 2001). Os métodos de identificação de RNA mensageiro (RNAm) de *C. pneumoniae* por PCR em tempo real também podem ser usados para determinar se a bactéria está em um estado ativado metabolicamente (SHOR et al., 1992). Outros métodos diagnósticos utilizados são cultura bacteriana, imunohistoquímica e microscopia eletrônica (KUO et al., 1993). Nos últimos anos, o método sorológico considerado padrão ouro para detecção de anticorpos específicos anti *C. pneumoniae* é o teste de imunofluorescência (DOWELL et al., 2001).

Em relação aos testes sorológicos, é sabido que os níveis de IgM atingem o pico entre a 2^a e a 3^a semana após início da infecção, mas tornam-se indetectáveis no período de dois a três meses. Em contrapartida, os anticorpos do tipo IgG atingem o pico entre a 6^a e a 8^a semana após infecção inicial e são rapidamente induzidos em infecções subsequentes (uma a duas semanas).

A infecção crônica é mais difícil de ser determinada pelo fato dos anticorpos IgG apresentarem tempo de meia-vida que pode permanecer por semanas ou meses e, portanto, estarem presentes por algum tempo após a infecção aguda (DOWELL et al., 2001).

A *C. pneumoniae* se relaciona diretamente com o processo de imunossenescência, pois infecta macrófagos, células endoteliais, células musculares lisas e induz a produção de citocinas, metaloproteinases de matriz. Já sua associação com doenças inflamatórias crônicas ainda permanece sendo um tema controverso. No entanto, muitos estudos vêm demonstrando a relação entre *C. pneumoniae* e DCV, sobretudo o processo de aterosclerose (SAIKKU et al., 1992; THOM et al., 1992; KUO et al., 1995). Já foi evidenciado que esta bactéria está envolvida em todos os estágios do processo de formação do ateroma (placas de lipídeos e tecido fibroso que se formam nas paredes dos vasos sanguíneos), desde a lesão inflamatória inicial, até a ruptura da placa aterosclerótica no vaso (CAMPBELL & KUO, 2004; BOBRY SHEV et al., 2006). Acredita-se que *C. pneumoniae* pode infectar potencialmente todas as células envolvidas na aterogênese, principalmente células endoteliais, células musculares lisas e macrófagos (YANG et al., 1995; CAMPBELL & KUO, 2004). Além disso, estudos científicos evidenciaram que a *C. pneumoniae* pode contribuir potencialmente para o processo de calcificação arterial coronariana (CAC) - caracterizado pelo acúmulo de sais de cálcio nos tecidos moles que provoca rigidez (GAYDOS et al., 1996; RAJAMANNAN et al., 2003; BOBRY SHEV et al., 2006). O mecanismo exato da associação entre *C. pneumoniae* e o desenvolvimento da CAC não foi completamente elucidado, mas acredita-se que a intensa inflamação desencadeada pelo processo infeccioso pode resultar na liberação de detritos de membranas das bactérias e células hospedeiras que em conjunto criam um substrato para a depósito de cálcio (BAYRAM et al., 2011).

Além disso, a infecção por *C. pneumoniae* foi mencionada como fator de risco para a patogênese de outras doenças inflamatórias, incluindo artrite, asma, câncer de pulmão, doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC), distúrbios neurológicos, doença de *Alzheimer*, esclerose múltipla e esquizofrenia (PORRITT & CROTHER, 2016).

3.1.4 *Helicobacter pylori*

H. pylori é um microrganismo que pertence originalmente ao gênero *Campylobacter* (MCNULTY, 1999). É uma bactéria Gram-negativa de forma espiral gástrica, microaerófila e associada exclusivamente a células da mucosa gástrica (WARREN & MARSHALL, 1983). Em 1982, Warren e Marshall demonstraram que se tratava de uma bactéria associada ao

desenvolvimento de gastrite e úlceras pépticas, um marco importante para a gastroenterologia em todo o mundo (WARREN & MARSHALL, 1984).

Embora a *H. pylori* esteja desaparecendo devido a questões fisiológicas e a erradicação da bactéria, a infecção por esse microrganismo continua sendo uma das mais comuns, com uma prevalência de 50% na população mundial (PARKIN, 2006). Dentre as populações do norte da Europa e da América do Norte, cerca de um terço dos adultos ainda estão infectados, enquanto nas regiões sul e leste da Europa, América do Sul e na Ásia, a prevalência de *H. pylori* é superior a 60% (EUSEBI et al., 2014; BURUCOA & AXON, 2017). Um estudo realizado com crianças brasileiras revelou que as taxas de prevalência podem variar em função da condição socioeconômica, mesmo em um país em desenvolvimento como o Brasil. Este estudo observou que taxas de prevalência de 55,0% e 16,4% entre crianças de baixo e alto nível socioeconômico, respectivamente, e sugeriram, assim, que uma melhor condição de vida é acompanhada por uma diminuição significativa da prevalência de anticorpos para *H. pylori* em crianças (PARENTE et al., 2006).

A infecção pela *H. pylori* é adquirida geralmente na infância e pode permanecer por décadas ou toda a vida do hospedeiro. Durante a infância ocorre um pico de transmissão, particularmente nos cinco primeiros anos de vida. Aproximadamente aos 15 anos de idade, o aumento da prevalência passa a ser lento e constante, e em indivíduos com mais de 60 anos a curva de prevalência entra em leve declínio (KODAIRA et al., 2002). O ser humano é o único reservatório e fonte primária de transmissão da bactéria *H. pylori* (CORREA & PIAZUELO, 2008). Esta bactéria se desenvolve na camada da mucosa protetora do revestimento gástrico, local no qual encontra-se menos exposta aos sucos ácidos produzidos pelo estômago. Além disso, a *H. pylori* produz amoníaco, substância que ajuda a protegê-la do ácido gástrico e permite, assim, romper e penetrar mais facilmente a camada mucosa do estômago (KODAIRA, 2002).

Apesar da infecção por *H. pylori* ser comum, o mecanismo de transmissão ainda não foi completamente elucidado. No entanto, é consenso na literatura que essa bactéria só consiga alcançar a mucosa gástrica pela boca, pois trata-se de um microrganismo não invasivo (CAVE, 1997; COELHO et al., 2018). A transmissão intrafamiliar é comum, especialmente da mãe para filho, conforme demonstrou um estudo realizado com crianças menores de 15 anos no Irã. Neste estudo, pais e mães de crianças com teste respiratório de uréia positivo forneceram amostras de sangue para análises e observou-se que das 30 famílias investigadas, 10 crianças tinham genótipos *H. pylori* ligados às mães e apenas duas crianças apresentaram genótipos dos pais (MAMISHI et al., 2016).

A transmissão da *H. pylori* por via oral já foi corroborada por meio da identificação do microrganismo em diferentes amostras, como na placa dentária, saliva, língua, tecido tonsilar, canais radiculares e mucosa oral (PAYÃO & RASMUSSEN, 2016). A relevância da transmissão por via fecal obteve evidência após um estudo transversal realizado nos Estados Unidos da América (EUA) cujos resultados demonstraram que as infecções por *H. pylori* e o vírus da hepatite A (HAV) estavam fortemente associadas (OR = 2,27; IC 95% = 1,79 - 2,87) (BUI et al., 2016). Dessa forma, como o HAV é transmitido principalmente por via fecal-oral, a hipótese sobre a relevância da via fecal na disseminação do *H. pylori* foi reforçada.

Nos países desenvolvidos, observa-se uma prevalência maior da transmissão de *H. pylori* via oral-oral, mas a via gastro-oral também pode predominar em grupos de indivíduos institucionalizados. As altas taxas de prevalência em indivíduos que vivem em condições de aglomeração humana sugerem que a transmissão direta de pessoa para pessoa seja um mecanismo importante de contágio (BROWN, 2000; MLADENOVA & DURAZZO, 2018). Nos países em desenvolvimento ainda não foi determinado se a principal via de transmissão é oral-oral ou fecal-oral, mas acredita-se que o mais provável é que ambas atuem simultaneamente (CULLEN et al., 1993; MLADENOVA & DURAZZO, 2018).

De maneira semelhante às infecções anteriormente apresentadas, uma característica importante da infecção pela bactéria *H. pylori* é a cronicidade, característica que pode predispor os indivíduos a ocorrência de outros problemas de saúde em longo prazo. Praticamente todos os indivíduos que têm infecção pela *H. pylori* desenvolvem gastrite, quadro patológico que pode afetar o estômago totalmente ou apenas sua parte inferior (GRAHAM, 2005; SALEHI, 2010). O quadro de gastrite crônica é a inflamação da mucosa do estômago, que tem como principal fator etiológico a *H. pylori* e apresenta uma prevalência em torno de 50% na população mundial (WHO, 2017). Às vezes, a infecção pode resultar em gastrite erosiva e, em muitos casos, evoluir para um quadro de úlcera estomacal (gástrica) (SALEHI, 2010). Além disso, a *H. pylori* desempenha importante papel na gênese da úlcera péptica (YEO & YANG, 2016).

Em 1987, após a constatação de que a erradicação da *H. pylori* acarreta a cicatrização da doença ulcerativa péptica, estabeleceu-se que todos os pacientes com essa alteração, relacionada à infecção pela *H. pylori*, deveriam receber tratamento específico (FASNER & GITU, 2015; YEO & YANG, 2016). Em 1994, a bactéria foi classificada como carcinógeno do tipo 1 para câncer de estômago pelo *International Agency for Research on Cancer*. O câncer gástrico (CG) é a neoplasia gástrica epitelial mais comum desse tipo e representa 95% dos tumores malignos que afetam o estômago (SMITH & GENTA, 2000). Embora a incidência de CG tenha diminuído nas últimas décadas, este evento ainda representa a terceira principal causa

de morte por câncer no mundo, com mais de 900.000 casos novos por ano (NORERO et al., 2019). A taxa de CG é geralmente duas a três vezes maior nos países em desenvolvimento do que nos países desenvolvidos e mais prevalente em homens. O Instituto Nacional do Câncer (INCA) estimou 20.520 novos casos desse tipo de câncer em 2016 no Brasil, sendo 12.920 casos em homens e 7.600 casos em mulheres (INCA, 2016). Em relação às taxas de mortalidade por CG, observa-se que a mesma vem diminuindo em todo o mundo (BOSETTI et al., 2005; BOSETTI et al., 2011). No entanto, no Brasil, apesar de um declínio, a mortalidade por CG ainda é alta, e a taxa de sobrevivência durante o primeiro ano da doença foi estimada em 32%, com uma redução para 9% ao final de cinco anos (CHATENOUD et al., 2010; SILVA et al., 2011).

Para rastreio da infecção pela *H. pylori*, os métodos podem ser divididos em dois grupos: invasivos e não invasivos. Dentre os procedimentos invasivos, observa-se a coleta histológica, o teste rápido da urease, técnicas microbiológicas e testes de biologia molecular (RICCI et al., 2007). O teste respiratório com ¹³C-ureia e a sorologia pertencem ao grupo dos métodos não invasivos (RICCI et al., 2007; BEST et al., 2018).

O teste respiratório com ¹³C-ureia é realizado através de coleta de gases após administração oral de uréia com carbono 13 marcado. Na presença da bactéria, a urease degrada a uréia e libera o carbono 13 que é absorvido e posteriormente exalado (GRAHAM et al., 1987). Este teste é considerado padrão ouro no diagnóstico da *H. pylori* e apresenta vantagens em relação aos outros testes por se tratar de um método não invasivo, com alta precisão, baixo custo e de fácil execução. No entanto, o exame histológico é considerado padrão ouro para o diagnóstico invasivo da infecção pela *H. pylori* e pode oferecer importantes informações sobre as alterações da mucosa gástrica (COELHO et al., 2018).

O teste do antígeno nas fezes (SAT) apresenta-se como uma boa opção ao teste respiratório com ¹³C-ureia, desde que o antígeno monoclonal seja usado como reagente (GISBERT & PAJARES, 2004; GISBERT et al., 2006; MEGRAUD & LEHOURS, 2007; DA SILVA-ETTO et al., 2017). O SAT foi validado para o diagnóstico inicial de infecção e terapia de erradicação do *H. pylori* em adultos; o teste apresenta valores de sensibilidade e especificidade superiores a 92% (VAIRA et al., 1999; VAIRA et al., 2002; CALVET et al., 2010). No Brasil, o teste SAT também foi validado para as populações adulta e pediátrica (RAGUZA et al., 2010). Testes sorológicos validados são geralmente os métodos de escolha para estudos de rastreio de base populacional. A sorologia pode ser usada como teste inicial para diagnosticar infecção por *H. pylori*, especialmente na infecção sintomática na presença de sangramento gastrointestinal, gastrite atrófica, linfoma de tecido linfóide (linfático) associado

a mucosa e CG (KOSUNEN et al., 1992; WHO, 2013). A identificação microbiológica baseia-se em testes positivos de uréia, catalase e oxidase, assim como na ausência de hidrólise de hipurato e da redutase do nitrato (RICCI et al., 2007).

Há registros de várias doenças associadas à infecção por *H. pylori*, como o linfoma de tecido linfóide associado à mucosa (MALT), dispepsia não ulcerativa, enxaqueca, urticária idiopática crônica, doenças autoimunes (púrpura de Henoch-Shönlein, trombocitopenia e síndrome de Sjögren) e DCV (BERNERSEN et al., 1992; PARSONNET et al., 1994; MURRAY et al., 1995; PATEL et al., 1995; REINAUER et al., 1995; TEBBE et al., 1996). Em razão de sua abrangência mundial, a *H. pylori* pode provocar grande desconforto em milhares de pessoas, levando a óbito aproximadamente um milhão de indivíduos por ano (DE MARTEL et al., 2012; FARLAY et al., 2012).

3.2 Envelhecimento e Sistema Imunológico

Por conta do desenvolvimento tecnológico e da medicina, assim como da melhora da qualidade de vida e saúde, a expectativa de vida da população tem aumentado continuamente e o envelhecimento populacional tornou-se uma realidade mundial. No entanto, o crescimento da população idosa traz mudanças e desafios nas esferas sociais, políticas, econômicas, culturais e de saúde para todas as sociedades (WONG & CARVALHO, 2006; BATISTA et al., 2008; VERAS, 2009).

O envelhecimento, compreendido como um processo natural do ser humano, é caracterizado pela diminuição progressiva da reserva funcional do organismo que em condições normais pode desencadear limitações funcionais. O envelhecimento somado a situações de sobrecarga pode ocasionar condições patológicas e predispor a uma maior morbimortalidade na população geronte (MINAYO, 2012). Nas últimas décadas, observou-se que a maioria dos idosos apresenta ao menos uma doença crônica e/ou limitação de saúde (LLOYD-SHERLOCK et al., 2012; MINAYO, 2012).

De um lado temos o envelhecimento percebido como um processo natural (envelhecimento primário), caracterizado por um conjunto de modificações orgânicas, com implicação na redução da capacidade de manutenção da homeostasia corporal, processo que recebe o nome de senescência. Por outro lado, o envelhecimento compreendido como uma condição patológica (envelhecimento secundário) - a senilidade (COMFORT, 1979). A senilidade provém do conjunto de alterações decorrentes de situações de sobrecarga, como estresse emocional, ansiedade, depressão, alcoolismo, acidentes, condições nutricionais inadequadas, limitações e doenças (Alzheimer, Parkinson, Esclerose Lateral Amiotrófica,

Esclerose múltipla, etc) (BRASIL, 2006). A sobrecarga resultante do processo de doença, somada à perda da capacidade de manutenção da homeostase, desencadeia o surgimento de manifestações clínicas e determina prejuízo à autonomia e independência do indivíduo.

Dentre os órgãos e sistemas do organismo humano que sofrem alterações com o envelhecimento, o sistema imunológico é um dos mais atingidos e apresenta modificações nas subpopulações celulares, nos padrões de secreção de citocinas, na tolerância imunológica e outras funções (PERES et al., 2003). Desse modo, denomina-se imunossenescência o envelhecimento que está associado ao declínio progressivo da função imunológica e que interfere no aumento da suscetibilidade a infecções e outras doenças (WEISKOPF et al., 2009; ADEMOKUN et al., 2010).

O fenômeno da imunossenescência é complexo, multifatorial e envolve múltiplas reorganizações do sistema regulatório do organismo (CASTLE, 2000; LUZ et al., 2003; EWERS et al., 2008; ADEMOKUN et al., 2010). Por se tratar de um sistema relacionado à homeostase do organismo, faz-se necessário entender possíveis causas e consequências que podem estar associadas às alterações imunológicas com impacto no equilíbrio corporal e, consequentemente, na qualidade de vida dos idosos (TONET & NÓBREGA, 2008).

Apesar de alguns dados controversos, a maioria dos estudos em imunogerontologia realizados com idosos saudáveis revela que no envelhecimento fisiológico ocorre um remodelamento do sistema imunológico com reflexo nas respostas inatas e adquiridas (ESQUENAZI, 2008). No entanto, essas alterações progressivas com o aumento da idade atingem em particular a imunidade adaptativa, que é orientada por mecanismos complexos que pressionam o sistema imunológico a buscar equilíbrio entre a manutenção da homeostase e a adaptação às agressões externas (ESQUENAZI, 2008).

Uma das principais manifestações clínicas do envelhecimento imunológico é o aumento da suscetibilidade às infecções (LE SAUX et al., 2012). Apesar da plasticidade e capacidade de renovação do sistema imune, uma vez que novas células de defesa são geradas a cada dia, os órgãos linfóides são afetados por mecanismos biológicos responsáveis pela perda de atividade funcional e morte celular de diferentes tecidos. Dentre estes mecanismos, destacam-se o estresse oxidativo e o encurtamento dos telômeros, estado em que as células cessam o processo de divisão celular, responsáveis pela diminuição do repertório imunológico relacionado à idade - senescência celular replicativa (FERRUCCI et al., 2005).

Além disso, acredita-se que a involução do timo é o evento crítico central para as alterações observadas na imunidade adquirida em decorrência do envelhecimento, e ocorre simultaneamente à inibição da produção do hormônio do crescimento e da interleucina 7 (IL-

7), citocina que estimula o crescimento, a maturação de linfócitos B e ativação de linfócitos T (ESQUENAZI, 2008). Estudos sobre transdução de sinais mostram que eventos como a mobilização de cálcio, fosforilação de proteínas, ativação de quinases e do ciclo celular estão modificadas nos linfócitos T virgens de indivíduos idosos.

3.2.1 Infecções crônicas e Imunologia

A infecção ativa ou a reativação do CMV provoca alterações na função e disponibilidade de células T3, provocando um intenso processo de replicação viral (atividade viral), com ativação de outras células T (CD4, CD34 e CD28) e de citocinas inflamatórias (KOCH et al., 2007). Durante a infecção crônica pelo CMV há uma diminuição da disponibilidade de células T nativas, particularmente de CD8 (LOONEY et al., 1999). Estudos anteriores demonstraram que o mecanismo responsável por esse evento está associado à presença do vírus latente em células precursoras da medula óssea. Durante o processo de diferenciação desses precursores, o CMV estimula cronicamente o sistema imune, levando, no caso de idosos, a uma grande expansão clonal de células TCD8+ CMV pp65-específicas. Este evento reduz a disponibilidade de células TCD8+ em carregar receptores específicos para patógenos ou antígenos estranhos diferentes do CMV (TRZONKOWSKI et al., 2003; OUYANG et al., 2004; ALMANZAR et al., 2005; PITA-LOPEZ et al., 2009). Acredita-se que uma fração significativa do recurso imunológico adaptativo do hospedeiro esteja focada no controle da infecção - em indivíduos mais velhos aproximadamente 10% de todas as células CD4 e CD8 estão envolvidas em atividades que buscam conter a replicação viral (POURGHEYSARI et al., 2007; VESCOVINI et al., 2007). Dessa forma, o CMV limita a capacidade de resposta do sistema imune do hospedeiro e aumenta a predisposição a outras infecções e doenças.

A infecção crônica por CMV ainda promove alterações qualitativas de funcionalidade de células TCD4+, com consequente agravamento da função de células B. Além disso, o processo inflamatório decorrente da infecção, estimula a expressão gênica viral e a reativação do CMV no organismo (SÖDERBERG-NAUCLER & NELSON, 1999; MOGENSEN & PALUDAN, 2001). Por sua vez, os produtos do gene viral regulam a produção de uma variedade de mediadores pró-inflamatórios, incluindo IL-6, interleucina 1 (IL-1), interleucina 2 (IL-2), interferon-gamma (IFN- γ), fator de necrose tumoral (TNF) e diferentes quimiocinas no hospedeiro (MOGENSEN & PALUDAN, 2001; TONG et al., 2001). Um estudo de base populacional conduzido em uma população idosa residente na Califórnia, demonstrou que elevados níveis de anticorpos IgG para CMV foram significativamente associados à

mortalidade e que grande parte dessa associação foi mediada por IL-6 e TNF (ROBERTS et al., 2010).

Apesar da interação entre o CMV e o sistema imunológico do hospedeiro, a infecção crônica em adultos saudáveis geralmente é considerada assintomática e benigna, visto que na maioria dos casos a memória de células T é rapidamente restabelecida e mantida indefinidamente, até mesmo em recém-nascidos (BARBI et al., 2006; DIOVERTI & RAZONABLE, 2016). No entanto, a importância de manter uma defesa constante contra a infecção por CMV é reforçada, sobretudo quando analisado o efeito da infecção em indivíduos imunodeprimidos, nos quais a fuga viral pode ser fatal (GALLANT et al.; 1992; GALIATSATOS et al., 2005).

Dos vírus pertencentes a família *herpesviridae*, o CMV encontra-se particularmente implicado na imunossenescência (PAWELEC & DERHOVANESSIAN, 2011). Isso porque já foi evidenciado que as alterações nos padrões de células T podem ser aceleradas se existir infecção latente por CMV (WIKBY et al., 1998). Estudos anteriores constataram que o número de células T citotóxicas CMV-específicas está inversamente relacionado a sobrevida entre idosos, o que constitui um argumento a favor da teoria do perfil imunológico de risco (PIR) que considera a infecção pelo CMV um dos principais fatores que potencializa a imunossenescência prematura e sua associação com outras infecções e doenças (WIKBY et al., 1998; SIMPSON, 2011). A partir disso, esse tema tem sido objeto de investigação intensa e recorrente nos estudos de imunossenescência, pois acredita-se que infecções persistentes por HSV-1 e outros herpesvírus poderiam apresentar associações semelhantes (WERTHEIMER et al., 2014).

A resposta imunológica do organismo contra a infecção por HSV-1 engloba mecanismos da imunidade inata e adaptativa que atuam de forma síncrona no controle da infecção (MOSSMAN et al., 2005; AKIRA et al., 2006). A resposta imune inata caracteriza-se por ser a primeira linha de defesa do organismo e, por esta razão, desempenha um papel crucial em determinar o curso da infecção. Por outro lado, a resposta imune adaptativa, mais tardia, é fundamental para controlar a progressão da doença, propagação e latência do vírus (ROIZMAN et al., 2013). De forma geral, a infecção primária por HSV-1 induz uma resposta inflamatória intensa no sítio de infecção. Esta resposta estimula a infiltração de células, principalmente linfócitos, macrófagos, células dendríticas (DCs) e natural killer (NK), e, ainda, induz a produção de citocinas variadas, como interferons (IFNs) do tipo I e tipo II. Mediante a apresentação de antígenos, os linfócitos T têm suas funções efetoras ativadas, sendo a atividade de células T CD8+ importante para o combate à infecção (BIRON et al., 2001; BROBERG & HUKKANEN, 2005). A produção de IFNs do tipo I (IFN- α e IFN- β), também estimula a

expressão de citocinas pró-inflamatórias como IL-1 β , IL-6 e TNF- α , e de quimiocinas. Porquanto, a expressão destas moléculas varia entre os diferentes receptores *Toll-Like* (TLRs) e leva à indução e maturação de células do sistema imune (WEST et al., 2006; NEILL & BOWIE, 2007).

Durante a infecção bacteriana, a resposta imunológica inata é estimulada por uma grande variedade de componentes bacterianos denominados padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs), que incluem principalmente lipopolissacarídeos (LPS) de bactérias Gram-negativas, peptidoglicano (PGN) de bactérias Gram-positivas, ácido lipoteitóico, lipoarabinomananas, lipopeptídeos e DNA bacteriano. O reconhecimento e as respostas a essas moléculas ocorrem principalmente via receptores do tipo TLRs e NOD (*Nucleotide-Binding Oligomerization Domain*). Após reconhecerem produtos microbianos, os receptores desencadeiam uma cascata de eventos intracelulares com a ativação de NF- κ B (*Nuclear Factor-Kappa B*) e, conseqüentemente, ativação de genes relacionados à produção de citocinas pró-inflamatórias (SMITH et al., 2003; ECKMANN, 2006).

Algumas citocinas já apresentam papéis bem definidos durante o processo infeccioso, como IL-1, IL-6, TNF- α , quimiocina 8 (CXCL8) e quimiocina 2 (CCL2), que desempenham atividades de expressão de moléculas de adesão, quimiotaxia de células inflamatórias, diferenciação celular, produção de proteínas positivas de fase aguda e proliferação de células musculares lisas (BEVILACQUA et al., 1986; VADDI et al., 1994; WYKRETOWICZ et al., 2004). Todas essas atividades amplificam a resposta inflamatória local e sistêmica e inflamam o indivíduo.

A infecção por *H. pylori* também induz inflamação por diferentes mecanismos, entre eles destaca-se o contato direto do microrganismo com células epiteliais gástricas, do mesmo modo que o contato com células específicas da resposta imunológica. Há evidências de que antígenos da bactéria são reconhecidos por receptores TLR 2 e 4 (extra-celulares) e TLR 7, 8 e 9 (intracelulares), com indícios da participação de receptores NOD1 e NOD2 (VIALA et al., 2004; ROSENSTIEL et al., 2006; RAD et al., 2009). O *H. pylori* é um microrganismo não invasivo e a infecção desencadeia uma intensa resposta humoral. A literatura mostra que a maioria dos clones de células T específicos presentes na mucosa gástrica infectada pela bactéria *H. pylori* produz níveis elevados de IFN- γ , principal produto das células Th1 (D'ELIOS et al., 1997).

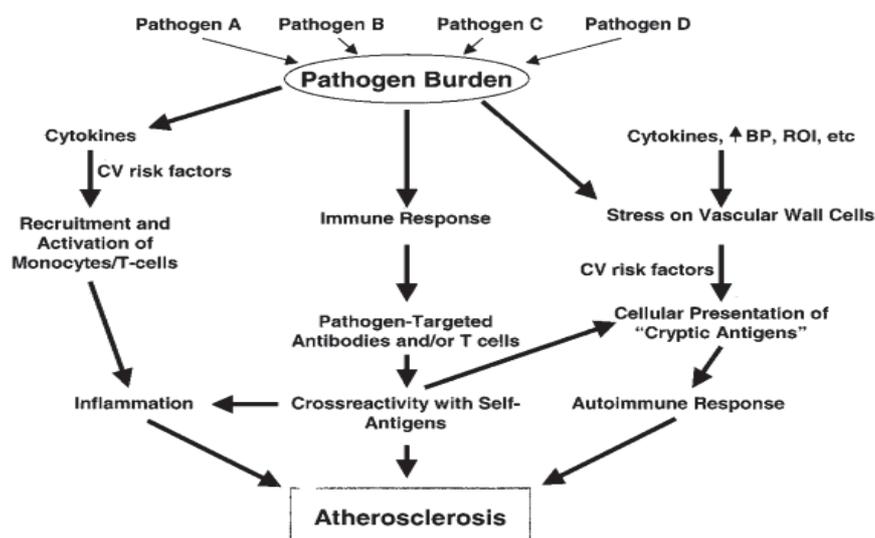
O perfil imunológico frente à infecção por *H. pylori* tem sido investigado nas últimas décadas. Um estudo realizado por Crabtree e colaboradores (1991), usando ensaio imunoenzimático, demonstrou níveis gástricos aumentados de citocina IL-6 e TNF- α em

adultos ingleses e infectados com *H. pylori*. Posteriormente, outros estudos reforçaram estes achados e evidenciaram em adultos com *H. pylori* níveis aumentados de outros biomarcadores, como IL-1 β , IL-8, IL-10, IL-12, CXCL8 e CXCL10 (FAN et al., 1995; HIDA et al., 1999; HOLCK et al., 2003; JALAPOUR et al., 2020; SALAVATI et al., 2020; LIU et al., 2021; SANTOS et al., 2021).

No Brasil, um estudo prospectivo realizado em Belém do Pará investigou o perfil imunológico de pacientes com doenças gastroduodenais que estavam internados no Hospital Ophir Loyola. Por meio da análise histológica de biopsias coletadas de 554 participantes, observou-se que as concentrações gástricas de IFN- γ e IL-12 foram significativamente maiores em pacientes infectados com *H. pylori* e, além disso, níveis mais elevados dessas citocinas foram detectados em pacientes com úlcera gástrica e câncer. Em contrapartida, níveis de IL-4 e IL-10 na mucosa gástrica foram menores em pacientes com *H. pylori*. Portanto, a resposta imune Th1 pode influenciar e perpetuar a inflamação gástrica e, dessa forma, contribuir para o desenvolvimento de diferentes manifestações clínicas associadas à infecção por *H. pylori* (VINAGRE et al., 2018).

Biomarcadores inflamatórios são proteínas de baixo peso molecular envolvidas no controle metabólico e endócrino do organismo humano. Dosagens elevadas dessas substâncias atuam no mecanismo da inflamação subclínica, envolvida na patogênese de diferentes DCNT. A relação entre o sistema imunológico e infecções crônicas com impacto no desenvolvimento de outros eventos adversos à saúde ainda não foi completamente elucidada, mas sabe-se que os mecanismos envolvidos nessa associação são complexos. A literatura demonstra que níveis aumentados de citocinas circulantes induzidos por infecções podem constituir um mecanismo indireto pelo qual a infecção pode contribuir, por exemplo, para a aterogênese - formação de ateromas nas paredes internas das artérias (LIBBY & HANSSON, 1991). Epstein (2002) propôs um modelo teórico para ilustrar alguns dos múltiplos mecanismos pelos quais as infecções podem contribuir para o desenvolvimento e o curso da aterosclerose, importante evento cardiovascular entre idosos (Figura 1). Os mecanismos incluem fatores que conduzem à inflamação, o sistema imunológico e as respostas autoimunes, além de evidenciar suas complexas interações. A associação com DCV é um dos desfechos importantes e chama atenção para a relevância do tema em idosos.

Figura 1 - Múltiplos mecanismos pelos quais a infecção pode contribuir para o desenvolvimento e curso da aterosclerose.



Fonte: Epstein, 2002.

A literatura traz registros de que existe uma forte associação epidemiológica entre infecções crônicas e eventos cardiovasculares. Como é o caso da aterosclerose, visto que já foi evidenciado a presença de microrganismos bacterianos e virais na placa aterosclerótica. Os agentes infecciosos podem ser alojados em estado latente ou replicar em células como macrófagos, criando um ambiente inflamatório crônico. A maioria dos microrganismos implicados nesse processo são intracelulares e exercem suas atividades dentro da célula, evitando, assim, os mecanismos imunológicos de defesa do hospedeiro (ROSENFELD, 2013; CAMPBELL & ROSENFELD, 2015).

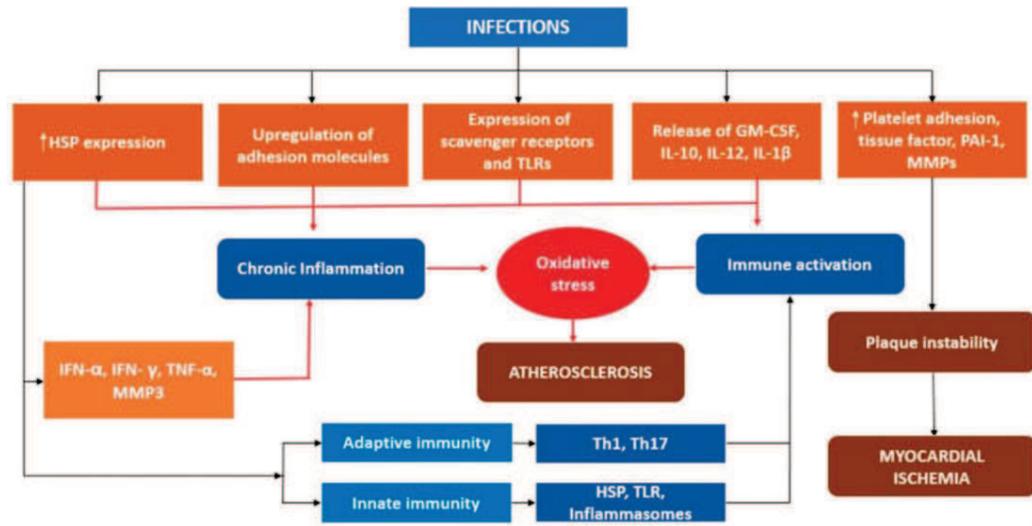
De acordo com modelos teóricos propostos anteriores, são muitos os mecanismos causais envolvidos na associação entre infecções crônicas, biomarcadores e DCV. Alguns mecanismos atuam de forma aguda (precipitando a ruptura da placa), outros de forma crônica (promovendo o crescimento da placa), sendo que alguns desses mecanismos podem ser consequência direta da presença do agente infeccioso na parede arterial, incluindo lesão endotelial ou disfunção, proliferação de células do músculo liso e inflamação local (GILL et al., 1992). No entanto, acredita-se que os principais mecanismos envolvam efeitos indiretos na circulação mediados pela inflamação crônica, além de anticorpos de reação cruzada ou alterações nos fatores de risco cardiovascular (lipídios, proteínas de coagulação, metabólitos oxidativos e homocisteína) (LEINONEN, 1993; NIEMELA et al., 1996; MENDALL et al.,

1997). As principais consequências diretas das infecções crônicas no hospedeiro são: aumento da expressão de proteínas de choque térmico, regulação positiva de moléculas de adesão, expressão de receptores scavenger e TLRs, liberação de GM-CSF, IL-10, IL-12 e IL-1beta e aumento da adesão plaquetária, do fator tecidual, PAI-1 e MMPs (Figura 2).

Como mencionado anteriormente, infecções crônicas e aterosclerose compartilham múltiplos mecanismos biológicos com ampla evidência experimental que apoiam a natureza pró-aterosclerótica de muitas infecções bacterianas e virais (POTHINENI et al., 2017). No entanto, apesar da correlação fisiopatológica, a terapia anti-infecciosa (hipótese de que a erradicação de estímulos infecciosos diminuiria a resposta inflamatória crônica e, portanto, reduziria a incidência de eventos cardiovasculares) falhou em satisfazer o postulado de Koch (relação causal com vários testes em humanos) e demonstrou resultados negativos. Portanto, essa associação ainda permanece um tema controverso na literatura. A partir disso, faz-se necessário compreender várias questões, visto que não se sabe ainda se são os microrganismos ou a ativação das vias de sinalização que atuam como estímulos pró-aterogênicos nessas associações.

A maioria dos estudos realizados até o momento foi realizada com o CMV, *C. pneumoniae* e *H. pylori*; alguns consideraram a presença do agente infeccioso no sangue, mas a maioria é de natureza soropidemiológica e teve como referência a concentração de anticorpos. No entanto, a principal dificuldade em tentar prever uma associação causal é o fato de que muitos fatores de confusão apresentam-se fortemente associados tanto com as infecções por CMV, HSV-1, *C. pneumoniae* e *H. pylori*, quanto com eventos cardiovasculares e outras doenças de natureza inflamatória; como é o caso das variáveis sobre condição socioeconômica e tabagismo. Os erros de ajustes para possíveis fatores de confusão – por não terem sido coletados corretamente ou medidos sem precisão – podem levar a associações espúrias entre infecções e eventos de saúde ou, ainda, inflar estimativas da força de associação entre as variáveis (POTHINENI et al., 2017).

Figura 2: Mecanismos patogênicos induzidos por infecções crônicas e papel da vacinação anti-aterosclerose (IL - Interleucinas, IFN - Interferon, TNF - fator de necrose tumoral - TLRs, receptores semelhantes a toll, MMP - metaloproteinase de matriz, HSP - proteína de choque térmico, Th - células T auxiliares, PAI - inibidor do ativador do plasminogênio, GM-CSF - fator estimulador de colônias de monócitos de granulócitos).



Fonte: Pothineni et al., 2017.

4. METODOLOGIA

4.1 Fonte de dados e desenho do estudo

Os dados são da Coorte de Idosos de Bambuí, um estudo longitudinal, de base populacional desenvolvido na sede do município de Bambuí, a 215 Km de Belo Horizonte, localizado na região oeste de Minas Gerais - Brasil. A condução da coorte é feita pelo Núcleo de Estudos em Saúde Pública e Envelhecimento (NESPE) do Instituto René Rachou - Fiocruz Minas (IRR).

Em 1996, a cidade de Bambuí apresentava 21.187 habitantes e 70% desses viviam na zona urbana do município. Antes de iniciar o estudo, todos os participantes da coorte foram identificados por meio de um censo completo conduzido na cidade pela equipe do projeto entre novembro e dezembro de 1996. Todos os residentes com sessenta anos ou mais de idade em 1º de janeiro de 1997 (n=1.742) foram convidados para participar da linha de base do estudo. A coleta de dados da linha de base da coorte ocorreu no período de fevereiro a maio de 1997 e foi realizada em diferentes etapas: entrevistas, visita clínica de campo (coleta de sangue, medidas antropométricas e eletrocardiograma), testes laboratoriais (análises bioquímicas e hematológicas que foram realizadas no laboratório central em Belo Horizonte) e armazenamento de amostras (soro, plasma, camada de leucócitos e alíquotas de DNA) em freezers -80° no IRR para investigações futuras.

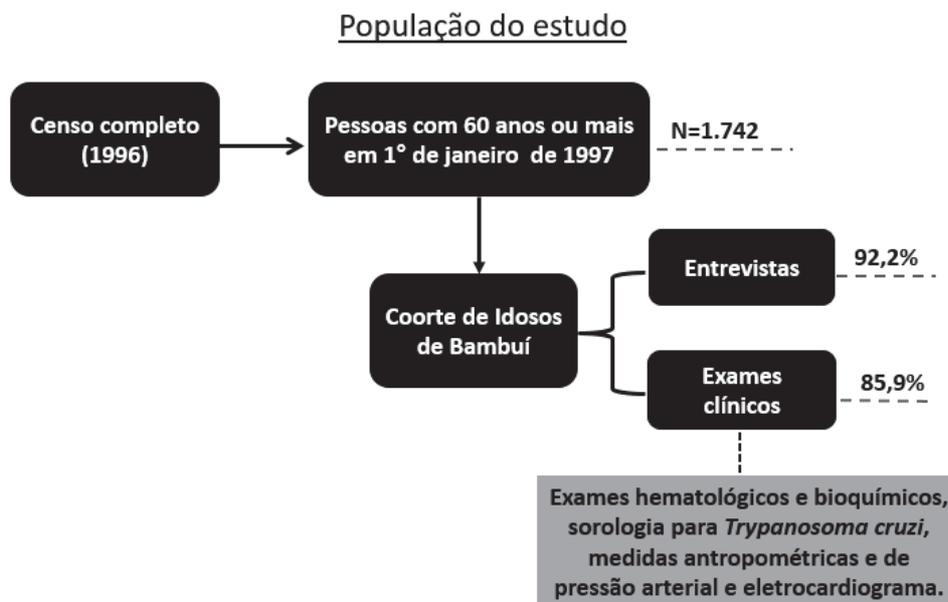
A resposta às entrevistas era dada pelo próprio indivíduo, com ressalva apenas no caso do entrevistado não ter condições de responder por motivo de saúde física ou mental, em que outra pessoa do domicílio poderia responder eventualmente. As informações coletadas na linha de base incluíram características sociais e demográficas, fatores psicossociais, estilo de vida, condições de saúde autorreferidas, sintomas físicos, sintomas mentais, história da saúde reprodutiva, exames cognitivos, quedas, uso dos serviços de saúde e uso de medicamentos. Dos 1.742 residentes na faixa etária selecionada, 60 anos ou mais de idade, 92,2% foram entrevistados e 85,9% foram examinados na linha de base (exames de sangue, medidas de pressão arterial, medidas antropométricas e eletrocardiograma).

Nos anos seguintes à linha de base, foram realizadas entrevistas anuais, além de exame físico (antropometria e pressão arterial) e coleta de sangue em algumas ondas selecionadas do estudo. Maiores informações sobre o delineamento da coorte e os procedimentos adotados foram descritos em publicações anteriores (LIMA-COSTA et al, 2011a, LIMA-COSTA et al., 2011b, OLIVEIRA & LIMA-COSTA, 2013).

Trata-se de um estudo transversal, no qual foram incluídos todos os participantes da linha de base da coorte (1997) que possuíam informações completas para todas as variáveis

incluídas na análise. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Fiocruz e todos os participantes assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

Figura 3: Seleção da população do estudo - Coorte de Idosos de Bambuí.



Fonte: elaborado pelo autor.

4.2 Variáveis

4.2.1 Infecções (Variáveis dependentes)

Todas as infecções foram avaliadas por meio de ensaios imunológicos capazes de detectar a presença e os títulos de anticorpos anti IgG, através de kits diagnósticos comerciais e procedimentos padronizados em laboratórios de referência.

As infecções por *C. pneumoniae* e HSV-1 foram avaliadas através do ensaio de imunoabsorção enzimática (anti-*Chlamydia pneumoniae* ELISA - IgG, Brasil; anti-HSV-1 (gC1) pelo método ELISA (IgG), Brasil), da EUROIMMUN. Os kits utilizados fornecem um ensaio quantitativo ou semiquantitativo *in vitro* para anticorpos humanos da classe IgG contra *Chlamydia pneumoniae* e IgG contra a glicoproteína específica gC1 do Herpes vírus simples tipo 1, tendo sido conduzidos em soro. O teste é realizado através utilização de tiras de microplacas, cada uma com oito poços de reagentes destacáveis revestidos com antígenos específicos. Na primeira etapa da reação, amostras diluídas dos soros dos pacientes são incubadas nos poços. No caso de amostra positiva, os anticorpos IgG específicos se ligam aos antígenos. Para detecção da ligação do anticorpo-antígeno foi realizada uma segunda incubação com uso da enzima anti-IgG humano (conjugado enzimático), e a mesma catalisa uma reação

colorimétrica. De acordo com as informações do fabricante, o resultado foi considerado positivo para HSV-1 quando superior a 22,0 UR/mL e positivo para *C. pneumoniae* quando igual ou superior a 22,0 UR/mL.

Para a dosagem de infecção por CMV, utilizou-se o imunoensaio para a determinação quantitativa *in vitro* dos anticorpos IgG anti-citomegalovírus em soro humano. O ensaio de electroquimioluminescência (*electrochemiluminescence immunoassay* - ECLIA) foi criado para ser utilizado nos analisadores de imunoensaios *Elecsys* e *cobas*. O princípio do teste é determinado por meio da técnica *sandwich*, e o analisador calcula automaticamente a concentração de analito de cada amostra em U/mL. Para interpretação dos resultados, considerou-se o resultado positivo quando igual ou superior a 1,0 U/mL.

Para identificação da infecção por *H. pylori*, utilizou-se o teste SERION ELISA classic *Helicobacter pylori* IgG. Trata-se de um imunoensaio quantitativo e qualitativo para a detecção de anticorpos humanos no soro ou no plasma. O teste ELISA é especialmente adequado para a determinação de anticorpos no campo das doenças infecciosas com base na interação específica de anticorpos com os antígenos correspondentes. As cavidades das microplacas do kit SERION ELISA CLASSIC são revestidas com antígenos específicos do agente patogênico de interesse. Se existirem anticorpos na amostra de soro do paciente, eles são ligados ao antígeno fixo. Um anticorpo secundário, que foi conjugado com a enzima fosfatase alcalina, detecta e liga-se ao complexo imune. O substrato incolor p-nitrofenilfosfato é então convertido no produto corado p-nitrofenol. A intensidade do sinal do produto desta reação é proporcional à concentração do analito na amostra e é medido por fotometria. Para interpretação dos resultados, considera-se positivo o resultado superior a 50,0 U/mL.

4.2.2 Biomarcadores (Variáveis independentes)

Para as dosagens dos biomarcadores, foram colhidos 5 mL de sangue por punção venosa pelo sistema de coleta a vácuo (Vacutainer, Becton Dickinson, Estados Unidos) em um frasco contendo heparina sódica. Os participantes foram orientados a realizarem jejum de 12 horas e as amostras de sangue foram centrifugadas, refrigeradas, encaminhadas ao Instituto René Rachou - Fundação Oswaldo Cruz em Belo Horizonte e, posteriormente, estocadas em freezer a -80°C.

Foram considerados os seguintes biomarcadores: citocinas (IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-12 e TNF), quimiocinas (CXCL8, CXCL9, CXCL10, CCL2 e CCL5) e proteína (PCR) que compuseram o perfil imunológico investigado neste estudo. Todos os biomarcadores foram dosados no plasma dos participantes a partir do método de *Cytometric Bead Array* (CBA), que

consiste em um ensaio de imunofluorescência do tipo *sandwich*. Foram utilizados anticorpos anti-citocinas marcados com ficoeritrina para indicar a intensidade média de fluorescência (MFI). Os dados de MFI foram obtidos usando citômetro de fluxo *FACSVerse flow cytometer* (Becton Dickinson, Estados Unidos), os resultados de concentração foram obtidos em pg/mL e calculados por meio do *software BD FCAP Array 3.0* (Becton Dickinson, Estados Unidos).

Além disso, também foram considerados níveis de proteína C reativa ultra-sensível (PCRus), obtidos pelo método imunonefelométrico em um analisador de proteínas automático (BNII™, Dade Behring, Alemanha) e calculado em mg/L.

4.2.3 Variáveis de ajuste

Para ajuste das análises estatísticas, foram incluídas variáveis selecionadas com base em pesquisas anteriores (Shikata et al., 2008; Dattoli et al., 2010; Zhan et al., 2011; Porritt & Crother, 2016), incluindo características sociodemográficas (sexo, idade e escolaridade), hábitos de vida (tabagismo, consumo de bebidas alcoólicas e prática de atividade física) e condições de saúde (hipertensão arterial, diabetes *mellitus*, acidente vascular encefálico - AVE, infarto do miocárdio, artrite e reumatismo).

Entre os fatores sociodemográficos, considerou-se a idade em anos (variável contínua), sexo (masculino e feminino) e a escolaridade em anos de estudo (0 a 3 anos e 4 ou mais). Foram classificados como tabagistas atuais aqueles que relataram ter fumado pelo menos 100 cigarros no decorrer da vida e continuavam fumando no momento da entrevista. Em relação ao consumo de bebidas alcoólicas, considerou-se o consumo semanal de sete doses ou mais, nos 12 meses anteriores à entrevista, segundo referência proposta pelo *National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism* (NIAAA) para verificar o consumo de álcool entre idosos. Para a avaliação das doses, foram apresentados cartões demonstrando a quantidade de líquido correspondente a uma dose de cerveja, vinho ou aguardente. A prática de atividade física foi avaliada pelo relato de 23 atividades desenvolvidas nos últimos 90 dias, em todos os domínios, que foram convertidas em gasto energético (taxa de equivalentes metabólicos - MET). A prática insuficiente de atividade física foi definida como o gasto energético inferior a 450 MET minuto/semana (RAMALHO et al., 2011).

Para avaliação da hipertensão arterial foram realizadas três medidas da pressão arterial usando um protocolo padrão. Essas medidas foram tomadas usando esfigmomanômetros de mercúrio com o manguito de tamanho apropriado (Tycos 5097-30; Tycos, Arden, EUA) e estetoscópios padronizados (Littman Cardiology II; 3M, St. Paul, EUA). A variável hipertensão arterial foi definida pela pressão sistólica e diastólica igual ou superior a 140 mmHg e 90

mmHg, respectivamente. O quadro de diabetes *mellitus* foi avaliado tendo como referência um nível de glicose sanguínea em jejum igual ou superior a 126 mg/dL. O tratamento medicamentoso para ambas as doenças, hipertensão arterial e diabetes *mellitus*, também foi considerado diagnóstico.

A história de acidente vascular encefálico (AVE) foi avaliada por meio de questionários padronizados (*Plan and Operation of the Third National Health and Nutrition Examination Survey*, 1988-1994, 1994). O relato de infarto e artrite ou reumatismo foram avaliados pela história de diagnóstico médico para essas condições (LIMA-COSTA et al., 2011b). Todas as variáveis pertencentes ao grupo condições de saúde foram avaliadas em conjunto para compor uma variável única “número de doenças crônicas”, categorizada em: nenhuma, uma e duas ou mais.

Quadro 1 - Descrição das variáveis de ajuste e categorizações.

Variáveis Sociodemográficas	
Sexo	Masculino Feminino
Idade	0 a 3 anos 4 ou mais
Escolaridade	< 4 anos de estudo ≥ 4 anos de estudo
Variáveis sobre Hábitos de Vida	
Tabagismo	Não tabagistas: < 100 cigarros na vida e/ou não fumante ativo no momento da entrevista Tabagistas: Pelo menos 100 cigarros na vida e fumante ativo no momento da entrevista
Consumo de álcool (doses de álcool)	Não: < 7 doses/semana nos 12 meses anteriores à entrevista Sim: ≥ 7 doses/semana nos 12 meses anteriores à entrevista
Atividade física	Inativo: < 450 MET minutos/semana nos 90 dias anteriores à entrevista Ativo: ≥ 450 MET minutos/semana nos 90 dias anteriores à entrevista
Variáveis sobre Condições de Saúde	
Doenças crônicas (diagnóstico de hipertensão arterial e diabetes <i>mellitus</i> ; histórico de acidente vascular encefálico (AVE), infarto do miocárdio e artrite ou reumatismo).	Nenhuma Uma Duas ou mais

Fonte: elaborado pelo autor.

4.3 Análise Estatística

Foi realizada uma caracterização da amostra com distribuição de frequências para as variáveis qualitativas e medidas descritivas (mediana e percentis 25 e 75; ou média e desvio-padrão) para as variáveis quantitativas.

Para categorização dos biomarcadores, segundo a presença das infecções, utilizou-se o método *Classification and Regression Trees* (CART), método não-paramétrico que comporta bem a análise de variáveis com distribuições assimétricas (como os biomarcadores), além de variáveis multimodais ou categóricas em problemas de modelagem preditiva de classificação ou regressão. A metodologia CART foi desenvolvida nos anos 80 por Breiman e colaboradores (1984) e utiliza a chamada amostra de aprendizado (conjunto de dados com classes pré-atribuídas para todas as observações) para construir árvores de decisão (TIMOFEEV, 2004). As árvores de decisão são representadas por um conjunto de questões que divide a amostra em partes cada vez menores, com a máxima homogeneidade, através de perguntas do tipo sim/não (BREIMAN et al, 1984). Nesse método, todos os valores são alinhados e diferentes pontos de divisão são testados várias vezes, de modo que o algoritmo CART procurará para todas as variáveis e valores possíveis, a melhor divisão (BROWNLEE, 2016). A representação do modelo CART é uma árvore binária, sendo que cada nó na raiz da árvore representa uma única variável de entrada (x) e um ponto de divisão nessa variável (supondo que a variável seja numérica). Os nós das folhas da árvore contêm uma variável de saída (y) que é usada para fazer uma previsão. Uma árvore binária é, na verdade, um particionamento do espaço de entrada (BROWNLEE, 2016). Então, o método CART utiliza de particionamento recursivo dos dados por meio de divisões binárias progressivas, a fim de se obter subgrupos com o máximo de homogeneidade interna e heterogeneidade entre eles (TIMOFEEV, 2004).

No artigo 1, o método CART foi utilizado como método de primeira escolha para a definição de pontos de corte de cada um dos biomarcadores, visando à composição de grupos homogêneos em relação à presença ou não de diferentes infecções (CMV e HSV-1), e, portanto, discriminando a população com níveis de anticorpos acima e abaixo da mediana para cada desfecho. Na implementação do método CART estabeleceu-se como condições de interrupção do processo de partição do conjunto de dados a formação de um número máximo de três grupos, com pelo menos 30 participantes em cada. Como método de segunda escolha, para os casos em que o método CART não conseguiu discriminar pontos de corte, optou-se por classificar os biomarcadores em tercís, exceto para aqueles que apresentaram 50% ou mais de valores não detectáveis pelo método de dosagem e que foram mantidos como detectável e não detectável.

No artigo 2, considerou-se o tercil como método de primeira escolha para a definição dos pontos de corte de cada um dos biomarcadores, exceto para aqueles que apresentaram 50% ou mais de valores não detectáveis pelo método de dosagem e que foram mantidos como detectável e não detectável.

Para avaliação da associação entre as infecções e os biomarcadores utilizou-se a regressão logística para estimar os valores de *odds ratio* (OR) e respectivos intervalos de 95% de confiança, sem ajustamento e com ajustamento progressivo, incluindo as variáveis sociodemográficas (modelo 1), acrescentando-se as variáveis relacionadas aos comportamentos em saúde (modelo 2) e, por fim, a variável sobre condições de saúde (modelo 3). Essa análise foi realizada para todos os biomarcadores incluídos no estudo. Todos esses modelos de regressão logística foram estimados para cada infecção, considerando titulação acima da mediana, e para a ocorrência de coinfeção, ou seja, os idosos que apresentaram valores acima da mediana para ambas as infecções crônicas consideradas, no caso da análise com CMV e HSV-1.

As análises para determinação de pontos de corte pelo método CART foram realizadas usando a biblioteca rpart (Terry Therneau, Beth Atkinson and Brian Ripley, 2015) (R CORE TEAM, 2016) no ambiente R (R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria). Todas as outras análises foram realizadas no software Stata® versão 13.0 (StataCorp LLP, College Station, TX). Em todos os testes estatísticos foi considerado um nível de significância de 5%.

5. APRESENTAÇÃO DOS ARTIGOS

Os resultados foram apresentados em dois artigos:

- Artigo 1: Cytomegalovirus and herpes simplex type 1 infections and immunological profile of community-dwelling older adults. Publicado na *Experimental Gerontology* (fator de impacto 4,032) em março de 2021.
- Artigo 2: Chlamydia pneumoniae and Helicobacter pylori infections and immunological profile of community-dwelling older adults. Publicado na *Experimental Gerontology* (fator de impacto 4,032) em outubro de 2021.

5.1 Artigo: Cytomegalovirus and herpes simplex type 1 infections and immunological profile of community-dwelling older adults¹

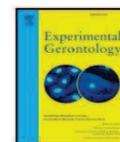
Experimental Gerontology 149 (2021) 111337



Contents lists available at ScienceDirect

Experimental Gerontology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/expgero



Cytomegalovirus and herpes simplex type 1 infections and immunological profile of community-dwelling older adults

Beatriz Prado Noronha^a, Juliana Vaz de Melo Mambrini^a, Karen Cecília Lima Torres^{b,c},
Olindo Assis Martins-Filho^b, Andréa Teixeira-Carvalho^b, Maria Fernanda Lima-Costa^a,
Sérgio Viana Peixoto^{a,d,*}

^a Instituto René Rachou, Oswaldo Cruz Foundation (Fiocruz) Fiocruz Minas, Health Studies Center, Public Health and Aging, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil

^b Instituto René Rachou, Oswaldo Cruz Foundation (Fiocruz) Fiocruz Minas, Integrated Research Group on Biomarkers, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil

^c José do Rosário Vellano University – UNIFENAS, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil

^d Federal University of Minas Gerais, Nursing School, Department of Health Management, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil

ARTICLE INFO

Section Editor: Christiaan Leeuwenburgh

Keywords:

Cytomegalovirus
Herpes simplex virus type 1
Inflammation
Immunological profile

ABSTRACT

Chronic infections, such as cytomegalovirus (CMV) and herpes simplex virus type 1 (HSV-1), contribute to the inflammation process among older adults and are associated with the immunosenescence process. The aim was to identify the immunological profile associated with CMV and HSV-1 infections among older adults. This is a cross-sectional study, carried out with 1492 participants from the Bambuí Cohort Study of Aging – Minas Gerais, Brazil. For analysis purposes, we considered the presence of immunoglobulin G (IgG) for CMV and HSV-1 in the participants' serum, assessed by the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA); outcomes were defined by titration above the median (>160 UR/mL for HSV-1 and >399.5 U/mL for CMV). In order to assess the immunological profile, the following biomarkers were considered: IL-1 beta, IL-10, IL-12, TNF, CXCL8, CXCL9, CXCL10, CCL2, CCL5, IL-6 and CRP; the first four being categorized as detectable levels or not, and the others using the Classification and Regression Tree (CART) method. The analysis was adjusted for sociodemographic variables, health behaviors and health conditions. The seroprevalence of anti CMV and anti HSV-1 antibodies was 99.4% and 97.0%, respectively. Higher concentrations of CXCL8 and CCL5 chemokines were associated with lower antibody titers for CMV, and higher concentrations of CXCL9, IL-6 and CRP were associated with higher levels of antibodies to CMV. Moreover, intermediate levels of CXCL10 were also associated with higher levels of antibodies to CMV. In HSV-1 infection, intermediate levels of CXCL9, CCL5 and IL-6 were less likely to have higher antibody titers for this infection. On the other hand, higher levels of CXCL10 and CRP were positively associated with higher antibody titers for HSV-1. The results describe important immunological changes and reinforce the potential effect of CMV and HSV-1 on the immunosenescence process.

1. Introduction

Knowledge about health conditions of older adults is essential for planning public health measures, in view of the rapid population aging. It is noteworthy that, similarly to other health problems, some infections may be more frequent and more severe among older adults, as a result of the natural aging of the immune system (immunosenescence), which modifies the immune tolerance and increases the susceptibility to infections (Le Saux et al., 2012).

On the other hand, exposure to infections can intensify changes related to senescence process. Recent evidence suggests that persistent infections caused by infectious agents of the *Herpesviridae* family promote a homeostatic disorder of T cells and intensify the secretion of a variety of inflammatory cytokines and chemokines (Carr and Tomanek, 2006; Wuest and Carr, 2008). Among the most studied biomarkers are several interleukins (IL-1, IL-2 and IL-6), interferon-gamma (IFN-gamma), tumor necrosis factor (TNF), chemokines (CCL2, CCL3, CCL5, CXCL1, CXCL2, CXCL3, CXCL8 and CXCL10) and C-reactive protein

* Corresponding author at: Rene Rachou Institute, Oswaldo Cruz Foundation, Avenida Augusto de Lima, 1715 – Barro Preto, 30190-009 Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil.

E-mail addresses: juliana.mambrini@fiocruz.br (J.V.M. Mambrini), olindo.filho@fiocruz.br (O.A. Martins-Filho), andrea.teixeira@fiocruz.br (A. Teixeira-Carvalho), liama.costa@fiocruz.br (M.F. Lima-Costa), sergio.peixoto@fiocruz.br (S.V. Peixoto).

<https://doi.org/10.1016/j.exger.2021.111337>

Received 19 October 2020; Received in revised form 25 February 2021; Accepted 28 March 2021

Available online 31 March 2021

0531-5565/© 2021 Elsevier Inc. All rights reserved.

¹This article was published in Experimental Gerontology, Vol 149, Beatriz Prado Noronha, Juliana Vaz de Melo Mambrini, Karen Cecília Lima Torres, Olindo Assis Martins-Filho, Andréa Teixeira-Carvalho, Maria Fernanda Lima-Costa, Sérgio Viana Peixoto, Cytomegalovirus and herpes simplex type 1 infections and immunological profile of community-dwelling older adults, 111337, Copyright Elsevier (2021).

(CRP), which help control the infection and also function as signaling agents (Tizonkowski et al., 2003).

Besides the changes involving the immune system, it has been proposed that viral infections caused by agents such as cytomegalovirus (CMV) and herpes simplex virus type 1 (HSV-1) play an important role in the development of chronic inflammatory processes, such as cardiovascular disease, metabolic syndrome, overweight, diabetes and rheumatoid arthritis; in frailty, disability and even in mortality (Wang et al., 2010; Haeseke et al., 2013).

Therefore, infections seem to influence the aging process, both because of the direct damage caused by pathogens in the infected tissues, and also because of the indirect damage to the body, mainly mediated by the inflammatory process (Gavazzi and Krause, 2002). The identification of immunological changes in the presence of common chronic infections among older adults helps to understand the role of viruses in immunosenescence. Furthermore, it is an important public health problem, since these events are associated with failures in the vaccine response, the worsening of infectious processes, the increase in mortality due to the deleterious action of viral infections in the body and the association with different diseases.

Cross-sectional studies sought to evaluate the immunosenescence process and revealed major differences in the blood immune cell types distribution among the older adults and also differences in the functional integrity of these cells; most of these changes would be associated with the presence of CMV infection (Pawelec et al., 2009). Additionally, some longitudinal studies have been observing relevant immunological changes, in addition to revealing immune biomarkers of aging that do not consist of a single parameter, but rather a set of parameters called "immunological risk profile" (IRP) (Derhovanessian et al., 2009). The hypothesis that guides this work is that the identification of immune biomarkers of aging associated with chronic infections with an impact on immunosenescence can help to predict adverse health events among the older adults and to understand the IRP.

It should also be noted that most studies are conducted in developed countries, but these associations are little explored in low and middle-income countries, in which chronic infections can be even more serious (Roberts et al., 2010). The aim of the present study is to identify the immunological profile associated with CMV and HSV-1 infections among community-dwelling older adults. As far as we know, this is the first study of these associations in a Latin American country, which may contribute to a better understanding of this relation in populations living in these areas.

2. Methodology

2.1. Study design and population

The data are from the Bambuí Cohort Study of Aging, a longitudinal study developed at the seat of the municipality of Bambuí, located in western region of Minas Gerais, Brazil. All cohort participants were identified by a complete census that was conducted in the city, and residents aged sixty or older on January 1st, 1997 ($n = 1742$) were invited to participate in the study's baseline. Among all these older adults, 1606 (92.0%) were interviewed and 1495 (86.0%) underwent laboratory tests, physical measurements and electrocardiogram in specific waves of the study.

The present work is a cross-sectional study, including all baseline participants in the cohort who had complete information for the all variables included in this analysis. The study was approved by the FIOCRUZ (Oswaldo Cruz Foundation) Ethics Committee, and all participants provided written informed consent. More information about the cohort design and the procedures adopted were described in a previous publication (Lima-Costa et al., 2011).

2.2. Chronic infections (dependent variables)

HSV-1 and CMV infections were considered through the evaluation of antibodies (IgG) in the participants' serum that was collected at the cohort baseline and stored at $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$; the dosages were performed in 2018. The quantitative enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to assess antibodies to HSV-1, using kits from Euroimmun (Germany). The anti-cytomegalovirus IgG antibodies were evaluated using the electrochemiluminescence assay, using the Elecsys kit (Roche Diagnostics, Switzerland). All tests were performed following the kit manufacturers' guidelines, using standardized procedures and automated analyzers, in reference laboratories with experience in this type of dosage.

Following the manufacturers' guidelines, the tests were considered positive for the infectious agent using the following cutoff points: HSV-1 ($>22\text{ UR/mL}$) and CMV ($\geq 1.00\text{ U/mL}$). For the present analysis, due to the high positivity for HSV-1 and CMV, and considering the influence of the level of antibodies of these infections in several adverse health events (Roberts et al., 2010; Wang et al., 2010), the outcomes were defined by titration above the median ($>160\text{ UR/mL}$ for HSV-1 and $>399.5\text{ U/mL}$ for CMV). Additionally, the simultaneous occurrence of both infections was also verified, considering the values above the median that were mentioned above.

2.3. Biomarkers (independent variables)

For the serum measurements of the biomarkers, 5 mL of blood were collected by venipuncture using the vacuum collection system (Vacutainer, Becton Dickinson, United States) in a flask containing sodium heparin. Participants were instructed to fast 12 h prior to the collection. The following biomarkers were considered: cytokines (IL-1beta, IL-6, IL-10, IL-12 and TNF) and chemokines (CXCL8, CXCL9, CCL2, CXCL10 and CCL5), measured in the participants' serum using the Cytometric Bead Array (CBA), which consists of a sandwich-type immunofluorescence assay. Anti-cytokine antibodies labeled with phycoerythrin (PE) were used to indicate the mean fluorescence intensity (MFI). MFI data were obtained using the FACSsuite program (7.0 - Becton Dickinson, United States) using FACSVerse flow cytometer (Becton Dickinson, United States), and the concentrations were calculated in pg/mL, using the BD FCAP Array 3.0 program (Becton Dickinson, United States). On top of that, the levels of ultra-sensitive CRP measured by the immunonephelometric method in an automatic nephelometric (BNIP™, Dade Behring, Germany) and the concentrations calculated in mg/L were also considered.

2.4. Confounding variables

The adjustment variables were defined by consulting the literature (Melchjorsen et al., 2002; Cook et al., 2004; Carr and Tomanek, 2006) and grouped in three blocks: i) sociodemographic: sex, age and education; ii) health behaviors: current smoking, consumption of alcoholic beverages and physical inactivity and iii) health conditions: number of chronic diseases (arterial hypertension, diabetes mellitus, stroke, myocardial infarction, arthritis or rheumatism).

Among the sociodemographic factors, age in years, sex (male and female) and education in years of study (0 to 3 years and 4 or more) were considered. Older adults who reported having smoked at least 100 cigarettes in their lifetime and continued to smoke at the time of the interview were classified as current smokers. Regarding alcoholism, the weekly consumption of seven doses or more in the 12 months prior to the interview was considered high and cards were presented to standardize the doses showing the amount of liquid corresponding to a dose of beer, wine or brandy (Moos et al., 2009). The practice of physical activity was assessed through the report of 23 activities developed in the last 90 days, in all domains, which were converted into energy expenditure (rate of metabolic equivalents - MET). Insufficient physical

activity was defined as energy expenditure of less than 450 MET minutes/week (Ramalho et al., 2011).

To measure arterial hypertension, three blood pressure measurements were taken after 5 min of rest and with two-minute intervals between them, following a standardized protocol. These measurements were taken using mercury sphygmomanometers (Tycos 5097-30; Tycos, Arden, USA) and standardized stethoscopes (Littman Cardiology II; 3M, St. Paul, USA). The arterial hypertension variable was defined by systolic and/or diastolic pressure equal to or greater than 140 mmHg and 90 mmHg, respectively, considering the average of the last two measurements, and/or consumption of antihypertensive drugs. The presence of diabetes mellitus was considered when the fasting blood glucose level was equal to or greater than 126 mg/dL and/or the use of insulin or oral hypoglycemic agents. The use of medications was assessed according to the participant's report, considering the last 90 days, and confirmed by consulting the packaging of the mentioned medications.

The history of stroke was assessed by standardized questionnaires (Plan and Operation of the Third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988–1994, 1994). The reports of myocardial infarction and arthritis or rheumatism were evaluated based on the medical diagnosis history for these conditions. The variables arterial hypertension, diabetes mellitus, stroke, myocardial infarction and arthritis or rheumatism comprised a single variable, namely "number of chronic diseases", categorized into: none, one, and two or more.

2.5. Statistical analysis

The sample was characterized with frequency distribution for qualitative variables and descriptive measures (median and 25th and 75th percentiles; or mean and standard deviation) for quantitative variables. To categorize the biomarkers (independent variables), according to the presence of infections (dependent variables), the Classification and Regression Trees (CART) method was used, a non-parametric method that handles the analysis of variables with asymmetric distributions, in addition to multimodal or categorical variables in problems of predictive modeling of classification or regression. The CART method uses recursive partitioning of data through progressive binary divisions, in order to obtain subgroups with maximum internal homogeneity, and heterogeneous among them (Timofeev, 2004). In this study, it was used as the first-choice method for defining cutoff points for each of the biomarkers, aiming at the composition of homogeneous groups in relation to infections, and, in consequence, discriminating the population with levels of antibodies above and below the median for each outcome. In the implementation of the CART method, the formation of a maximum number of three groups was established as conditions for interrupting the data set partition process, with at least 30 participants in each. As a second-choice method, in cases where the CART method was unable to discriminate cutoff points, it was decided to classify the biomarkers in tertiles, except for those that presented 50% or more of values not detectable by the dosage method and that were kept as detectable and undetectable.

To assess the association between infections and biomarkers, logistic regression was used to estimate the values of odds ratio (OR) and the respective 95% confidence intervals, without adjustment and with progressive adjustment, including sociodemographic variables (model 1), adding the variables related to health behaviors (model 2) and, finally, the health conditions variable (model 3). This analysis was performed for all markers included in the study. All these logistic regression models were estimated for each infection, considering titration above the median as dependent variable; and for the older adults who presented values above the median for both chronic infections considered, as dependent variable in this analysis.

The analyzes for determining cutoff points by the CART method were performed using the *ipart* library (Terry Themeau, Beth Atkinson and Brian Ripley, 2015) (R CORE TEAM, 2016) in the R environment (R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria). All other

analyzes were performed using software Stata® version 13.0 (StataCorp LLP, College Station, TX). In all the statistical tests, a significance level of 5% was considered.

3. Results

1492 older adults participated in this analysis, with complete information for all the variables that were investigated. The seroprevalence of anti CMV and anti HSV-1 antibodies was 99.4% and 97.0%, respectively. The distributions of the characteristics of the sample analyzed were reported in Table 1. The average age of the participants was 69.3 years (standard deviation = 7.4 years), the majority being female (60.1%) and with low education (65.3%). In relation to health behaviors, current smokers (18.7%) and those with consumption equal to or greater than seven weekly doses of alcoholic beverages (5.5%) represented a small proportion of the sample, while 33.4% were considered insufficiently active. Regarding the number of chronic diseases, 44.1% reported having one disease and 32.6% two or more.

Table 2 shows the distribution of the biomarkers studied among the participants in the present analysis. The results demonstrate the high variability of chemokines, described as median values and interquartile ranges. Among the cytokines, IL-1beta, IL-10, IL-12 and TNF showed detectable levels below 50%.

In the CMV infection, the CART method demonstrated that the best discrimination between the population with antibody levels above and below the median occurred with one cutoff point for five biomarkers (CXCL8, CXCL9, CCL5, IL-6 and CRP), generating two groups, and two cutoff points for two other biomarkers (CXCL10 and CCL2), generating three categories for these variables. For the other biomarkers analyzed (IL-1beta, IL-10, IL-12 and TNF), the CART method did not identify cutoff points that discriminated between groups with higher titers of antibodies to CMV. In relation to HSV-1, this method demonstrated that the best discrimination between the population with antibody levels above and below the median for this infection occurred with one cutoff point for four biomarkers (CXCL8, CXCL10, IL-10 and CRP), generating two groups, and two cutoff points for four other markers (CXCL9, CCL2, CCL5 and IL-6), generating three categories. For the other biomarkers analyzed (IL-1beta, IL-12 and TNF), the CART method was also unable to obtain cutoff points that discriminated between groups with higher antibody titers for HSV-1.

The CART method was unable to identify homogeneous groups in relation to the prevalence of the older adults who presented values above the median for both chronic infections for any of the investigated

Table 1
Characteristics of the studied sample. Baseline of the Bambuí Cohort Study of Aging, Minas Gerais, Brazil.

Variables	Total sample (n = 1492) %
Female	60.1 (n = 897)
Age in years: mean and standard deviation	69.3; 7.4 (n = 1034)
Education (<4 years)	65.3 (n = 974)
Current smoking ^b	18.7 (n = 279)
Consumption of alcoholic beverages (≥7 doses/week)	5.5 (n = 82)
Insufficient physical activity (<450 MET minutes/week)	33.4 (n = 498)
Number of chronic diseases ^c	
None	22.3 (333)
One	44.1 (658)
Two or more	32.6 (486)
Cytomegalovirus infection (IgG > 399.5 U/mL)	99.4 (1483)
Herpes simplex virus type 1 infection (IgG > 160 UR/mL)	97.0 (1447)

^a Values expressed in percentage, except when specified.

^b Current smoking: at least 100 cigarettes in their lifetime and active smoker at the time of the interview.

^c Number of chronic diseases: arterial hypertension, diabetes mellitus, stroke, myocardial infarction and arthritis or rheumatism.

Table 2

Distribution of inflammatory markers (independent variables) in the studied sample. Bambuí Cohort Study of Aging Baseline, Minas Gerais, Brazil.

Biomarkers	Total sample (n = 1492)
CXCL8 in pg/mL ^a	3.06 (1.6–5.6)
CXCL9 in pg/mL ^a	2346.89 (1231.8–4279.2)
CXCL10 in pg/mL ^a	3047.08 (1984.2–4847.7)
CCL2 in pg/mL ^a	39.01 (25.4–57.5)
CCL5 in pg/mL ^a	875.44 (553.3–1622.9)
IL-1beta (>0.01 pg/mL) ^b	22.0 (20.0–24.2)
IL-6 pg/mL ^a	1.08 (0.4–2.1)
IL-10 (<0.01 pg/mL) ^b	42.0 (39.5–44.5)
IL-12 (>0.02 pg/mL) ^b	7.4 (6.2–8.9)
TNF (>0.02 pg/mL) ^b	17.3 (15.4–19.3)
CRP in mg/mL ^a	3.25 (1.42–6.70)

TNF: tumor necrosis factor. CRP: C-reactive protein.

^a Median and interquartile range (percentiles 25 and 75).

^b Detectable levels; (95% confidence interval).

biomarkers. The interleukins IL-1beta, IL-10, IL-12 and TNF showed 50% or more of non-detectable values by the CBA method and thus were classified as detectable and non-detectable. For the other biomarkers, the categorization was done by the tertiles of the distribution.

The cutoff points used for each biomarker in each of the analyzes (CMV, HSV-1 and the simultaneous occurrence of higher antibody titers for both infections) are described, respectively, in Tables 3, 4 and 5.

Table 3 shows the association between the titration of antibodies to CMV and the biomarkers studied, without adjustment and with the progressive adjustments considered in the present study. In the crude analysis, the biomarkers CXCL8, CXCL9, CXCL10, CCL5, IL-6 and CRP were significantly associated with infection, with CXCL8 and CCL5 being inversely related and all of these associations remained significant after adjustment for all variables considered in the analysis. In the final model (Model 3), higher concentrations of chemokines CXCL8 (OR: 0.64; 95% CI: 0.47–0.86) and CCL5 (OR: 0.68; 95% CI: 0.50–0.93) were associated with a lower chance of higher titration of specific CMV antibodies (antibody values above the median). On the other hand, higher concentrations of CXCL9 (OR: 1.44; 95% CI: 1.10–1.88), IL-6 (OR: 1.35; 95% CI: 1.08–1.69) and CRP (OR: 1.81; 95% CI: 1.40–2.33) were associated with higher levels of antibodies to CMV. Moreover, intermediate levels of CXCL10 (OR: 1.69; 95% CI: 1.29–2.27) were also associated with higher levels of antibodies to CMV (Table 3).

Table 4 shows the association between antibody levels for HSV-1 and the biomarkers studied, before and after adjustment for sociodemographic conditions, health behaviors and health conditions. Before the adjustments, the biomarkers CXCL10, CXCL9, CCL5 and IL-6 were significantly associated with the levels of antibodies to HSV-1, with the last 3 being inversely related. After adjusting for all confounding factors included in this analysis, the intermediate levels of CXCL9 (OR: 0.62; 95% CI: 0.39–0.99), CCL5 (OR: 0.41; 95% CI: 0.24–0.70) and IL-6 (OR: 0.71; 95% CI: 0.53–0.95) had a lower chance of higher antibody titers for this infection. On the other hand, higher levels of CXCL10 (OR: 1.64; 95% CI: 1.13–2.37) and CRP (OR: 1.71; 95% CI: 1.03–2.84) were positively associated with HSV-1 infection (Table 4).

The prevalence of simultaneous occurrence of values above the median for both infections was 26.8% (95% CI: 24.6–29.1). The associations between the simultaneous occurrence of high levels of antibodies for both infections and the biomarkers studied are shown in Table 5. For this analysis, only the CRP dosage at intermediate (OR: 1.43; 95% CI: 1.05–1.93) and high (OR: 1.61; 95% CI: 1.19–2.17) showed a significant association with higher antibody titers simultaneously for HSV-1 and CMV, even after adjusting for all the confounding factors considered.

The associations between antibody levels for CMV, HSV-1 and the simultaneous occurrence of higher antibody titers for both infections and the biomarkers studied are described, respectively, in Figs. 1 and 2.

Table 3

Association between cytomegalovirus infection (IgG > 399.5 U/mL), the dependent variable, and biomarkers (independent variables) in the study population, with and without adjustment by confounding factors. Baseline of the Bambuí Cohort Study of Aging, Minas Gerais, Brazil.

Biomarkers	Gross model OR (95% CI)	Model 1 OR (95% CI)	Model 2 OR (95% CI)	Model 3 OR (95% CI)	
CXCL8 (pg/mL) ^a	<8.475	1.00	1.00	1.00	
	≥8.475	0.66 (0.49–0.87)	0.65 (0.48–0.87)	0.65 (0.48–0.87)	0.64 (0.47–0.86)
CXCL9 (pg/mL) ^a	<1078	1.00	1.00	1.00	
	≥1078	1.40 (1.09–1.81)	1.36 (1.05–1.77)	1.40 (1.08–1.82)	1.44 (1.10–1.88)
CXCL10 (pg/mL) ^a	<3676	1.00	1.00	1.00	
	3676–5981	1.71 (1.32–2.22)	1.61 (1.24–2.11)	1.68 (1.29–2.20)	1.69 (1.29–2.27)
	≥5982	1.14 (0.87–1.51)	1.00 (0.76–1.33)	1.02 (0.76–1.36)	0.98 (0.73–1.31)
CCL2 (pg/mL) ^a	<11.15	1.00	1.00	1.00	
	11.15–57.02	1.58 (0.99–2.52)	1.64 (1.01–2.64)	1.59 (0.98–2.57)	1.60 (0.97–2.61)
CCL5 (pg/mL) ^a	≥57.03	1.10 (0.67–1.80)	1.13 (0.68–1.88)	1.09 (0.65–1.81)	1.07 (0.64–1.81)
	<420.4	1.00	1.00	1.00	1.00
IL1beta (pg/mL) ^b	≥420.4	0.59 (0.44–0.79)	0.64 (0.47–0.86)	0.65 (0.48–0.88)	0.68 (0.50–0.93)
	Absent	1.00	1.00	1.00	1.00
IL-6 (pg/mL) ^a	>0.01	0.95 (0.74–1.21)	0.91 (0.70–1.17)	0.91 (0.70–1.17)	0.92 (0.71–1.19)
	<1.395	1.00	1.00	1.00	1.00
IL-10 (pg/mL) ^b	≥1.395	1.39 (1.13–1.71)	1.38 (1.11–1.71)	1.34 (1.08–1.67)	1.35 (1.08–1.69)
	Absent	1.00	1.00	1.00	1.00
IL-12 (pg/mL) ^b	>0.01	0.95 (0.77–1.17)	0.94 (0.76–1.16)	0.94 (0.76–1.16)	0.93 (0.75–1.16)
	Absent	1.00	1.00	1.00	1.00
TNF (pg/mL) ^b	>0.02	0.77 (0.52–1.14)	0.79 (0.53–1.18)	0.80 (0.54–1.19)	0.77 (0.51–1.16)
	Absent	1.00	1.00	1.00	1.00
CRP (mg/L) ^a	>0.02	0.98 (0.75–1.28)	0.97 (0.74–1.28)	0.95 (0.72–1.25)	0.90 (0.68–1.20)
	<1.455	1.00	1.00	1.00	1.00
CRP (mg/L) ^a	≥1.455	1.91 (1.50–2.42)	1.81 (1.42–2.32)	1.81 (1.41–2.31)	1.81 (1.40–2.33)

OR (95% CI) Odds ratio and 95% confidence interval; Model 1: adjusted for sociodemographic variables; Model 2: adjusted for sociodemographic variables and health behaviors; Model 3: adjusted for sociodemographic variables, health behaviors and health conditions.

^a Categorized by the CART method.

^b Categorized as detectable and undetectable.

4. Discussion

The high prevalence observed for the two infections among the older adults characterizes a chronic infectious process in this group, and is in line with studies conducted in Brazil and other countries (Smith and Robinson, 2002; Looker and Garnet, 2005; Cannon et al., 2010; Conde-Glez et al., 2013). In Brazil, previous studies revealed a prevalence of 87.9% for CMV in the population between 18 and 66 years old in Salvador and approximately 100% in Santa Catarina for adults between 50 and 90 years old (Do Amaral et al., 2008; Matos et al., 2009). Similarly, high prevalence for HSV-1 has already been reported in the adult population of the US (90.0%) and Brazil (94.6%) (Geller et al., 2012). In

Table 4

Association between infection by herpes simplex virus type 1 (IgG > 160 UR/mL). The dependent variable, and biomarkers (independent variables) in the study population, with and without adjustment by confounders. Baseline of the Bambuí Cohort Study of Aging, Minas Gerais, Brazil.

Biomarkers	Gross model OR (95% CI)	Model 1 OR (95% CI)	Model 2 OR (95% CI)	Model 3 OR (95% CI)
CXCL8 (pg/mL)^a				
<9.98	1.00	1.00	1.00	1.00
≥9.98	0.80 (0.59–1.10)	0.80 (0.58–1.09)	0.79 (0.57–1.08)	0.76 (0.55–1.04)
CXCL9 (pg/mL)^a				
<4690	1.00	1.00	1.00	1.00
4690–6131	0.61 (0.39–0.97)	0.63 (0.40–1.01)	0.64 (0.40–1.01)	0.62 (0.39–0.99)
≥6132	1.20 (0.91–1.58)	1.26 (0.94–1.69)	1.25 (0.93–1.68)	1.28 (0.94–1.73)
CXCL10 (pg/mL)^a				
<672.1	1.00	1.00	1.00	1.00
≥672.1	1.67 (1.17–2.37)	1.57 (1.09–2.25)	1.55 (1.08–2.23)	1.64 (1.13–2.37)
CCL2 (pg/mL)^a				
<7.85	1.00	1.00	1.00	1.00
7.85–52.47	0.59 (0.31–1.13)	0.60 (0.31–1.16)	0.61 (0.32–1.18)	0.55 (0.28–1.10)
≥52.48	0.84 (0.43–1.62)	0.83 (0.43–1.63)	0.84 (0.43–1.64)	0.75 (0.37–1.50)
CCL5 (pg/mL)^a				
<451.9	1.00	1.00	1.00	1.00
451.9–512.6	0.42 (0.25–0.72)	0.41 (0.24–0.70)	0.41 (0.24–0.71)	0.41 (0.24–0.70)
≥512.7	0.90 (0.68–1.19)	0.83 (0.62–1.09)	0.82 (0.62–1.09)	0.82 (0.61–1.10)
IL1beta (pg/mL)^b				
Absent	1.00	1.00	1.00	1.00
>0.01	0.91 (0.71–1.17)	0.93 (0.72–1.19)	0.93 (0.72–1.19)	0.94 (0.73–1.21)
IL-6 (pg/mL)^a				
<0.615	1.00	1.00	1.00	1.00
0.615–1.254	0.70 (0.53–0.93)	0.72 (0.54–0.95)	0.73 (0.55–0.98)	0.71 (0.53–0.95)
≥1.255	1.16 (0.92–1.47)	1.17 (0.92–1.49)	1.19 (0.93–1.52)	1.13 (0.88–1.45)
IL-10 (pg/mL)^b				
Absent	1.00	1.00	1.00	1.00
>0.01	1.07 (0.87–1.32)	1.07 (0.87–1.32)	1.08 (0.87–1.33)	1.03 (0.83–1.28)
IL-12 (pg/mL)^b				
Absent	1.00	1.00	1.00	1.00
>0.02	0.96 (0.65–1.41)	0.95 (0.64–1.42)	0.96 (0.64–1.42)	0.93 (0.62–1.39)
TNF (pg/mL)^b				
Absent	1.00	1.00	1.00	1.00
>0.02	0.91 (0.70–1.20)	0.93 (0.71–1.22)	0.94 (0.71–1.23)	0.90 (0.68–1.19)
CRP (mg/L)^a				
<0.515	1.00	1.00	1.00	1.00
≥0.515	1.52 (0.94–2.46)	1.69 (1.03–2.75)	1.74 (1.06–2.84)	1.71 (1.03–2.84)

OR (95% CI) Odds ratio and 95% confidence interval; Model 1: adjusted for sociodemographic variables; Model 2: adjusted for sociodemographic variables and health behaviors; Model 3: adjusted for sociodemographic variables, health behaviors and health conditions.

^a Categorized by the CART method.

^b Categorized as detectable and undetectable.

general, these infections are more common in less industrialized regions, with low income, less education and poor sanitary conditions (Geller et al., 2012).

The high prevalence rates of infections observed among older adults shows the immunological vulnerability to which this group is exposed. Viral infections throughout aging and the immune response profile to these pathogens are imperative in the immunosenescence process. In this context, characteristic changes in immunosenescence are particularly important in immunity to viral infections, due to the overload of

Table 5

Association between simultaneous infection with cytomegalovirus (IgG > 399.5 U/mL) and herpes simplex type 1 (IgG > 160 UR/mL), the dependent variable, and biomarkers (independent variables) in the study population, with and without adjustment by confounders. Baseline of the Bambuí Cohort Study of Aging, Minas Gerais, Brazil.

Biomarkers	Gross model OR (95% CI)	Model 1 OR (95% CI)	Model 2 OR (95% CI)	Model 3 OR (95% CI)
CXCL8 (pg/mL)^a				
<2.00	1.00	1.00	1.00	1.00
2.00–4.42	1.04 (0.79–1.37)	1.03 (0.78–1.36)	1.02 (0.77–1.35)	1.00 (0.75–1.33)
≥4.43	0.86 (0.65–1.15)	0.85 (0.64–1.13)	0.85 (0.64–1.14)	0.81 (0.61–1.09)
CXCL9 (pg/mL)^a				
<1568.88	1.00	1.00	1.00	1.00
1568.88–3482.98	1.03 (0.77–1.36)	1.02 (0.77–1.36)	1.02 (0.77–1.36)	1.02 (0.76–1.36)
≥3482.99	1.12 (0.84–1.48)	1.08 (0.80–1.45)	1.07 (0.80–1.44)	1.07 (0.79–1.45)
CXCL10 (pg/mL)^a				
<2352.8	1.00	1.00	1.00	1.00
2352.8–4017.96	0.98 (0.74–1.31)	0.97 (0.73–1.30)	0.98 (0.73–1.31)	0.96 (0.72–1.29)
≥4017.97	1.31 (0.99–1.74)	1.29 (0.97–1.71)	1.29 (0.97–1.72)	1.31 (0.98–1.76)
CCL2 (pg/mL)^a				
<30.42	1.00	1.00	1.00	1.00
30.42–50.24	1.12 (0.84–1.48)	1.12 (0.85–1.49)	1.12 (0.85–1.49)	1.06 (0.79–1.41)
≥50.25	1.04 (0.78–1.38)	1.03 (0.78–1.37)	1.03 (0.77–1.37)	0.97 (0.73–1.30)
CCL5 (pg/mL)^a				
7.07–643.05	1.00	1.00	1.00	1.00
643.06–1263.56	0.89 (0.67–1.18)	0.90 (0.68–1.20)	0.90 (0.68–1.19)	0.93 (0.70–1.25)
≥1263.57	0.89 (0.67–1.18)	0.89 (0.67–1.19)	0.90 (0.68–1.20)	0.96 (0.72–1.28)
IL1beta (pg/mL)^b				
Absent	1.00	1.00	1.00	1.00
>0.01	0.98 (0.74–1.29)	0.98 (0.74–1.29)	0.98 (0.74–1.29)	0.99 (0.74–1.32)
IL-6 (pg/mL)^a				
<0.66	1.00	1.00	1.00	1.00
0.66–1.70	1.03 (0.77–1.37)	1.02 (0.76–1.35)	1.01 (0.75–1.35)	0.99 (0.74–1.33)
≥1.71	1.23 (0.93–1.63)	1.21 (0.91–1.62)	1.19 (0.89–1.59)	1.15 (0.85–1.55)
IL-10 (pg/mL)^b				
Absent	1.00	1.00	1.00	1.00
>0.01	0.96 (0.76–1.21)	0.95 (0.75–1.20)	0.95 (0.75–1.20)	0.94 (0.74–1.19)
IL-12 (pg/mL)^b				
Absent	1.00	1.00	1.00	1.00
>0.02	0.79 (0.50–1.26)	0.80 (0.50–1.27)	0.80 (0.50–1.27)	0.75 (0.46–1.21)
TNF (pg/mL)^b				
Absent	1.00	1.00	1.00	1.00
>0.02	1.03 (0.76–1.39)	1.04 (0.76–1.40)	1.03 (0.76–1.40)	0.95 (0.70–1.31)
CRP (mg/L)^a				
0.16–1.88	1.00	1.00	1.00	1.00
1.89–5.16	1.42 (1.06–1.91)	1.43 (1.06–1.92)	1.44 (1.07–1.94)	1.43 (1.05–1.93)
≥5.17	1.70 (1.27–2.27)	1.69 (1.26–2.27)	1.67 (1.25–2.24)	1.61 (1.19–2.17)

OR (95% CI) Odds ratio and 95% confidence interval; Model 1: adjusted for sociodemographic variables; Model 2: adjusted for sociodemographic variables and health behaviors; Model 3: adjusted for sociodemographic variables, health behaviors and health conditions.

^a Categorized in tertiles.

^b Categorized as detectable and undetectable.

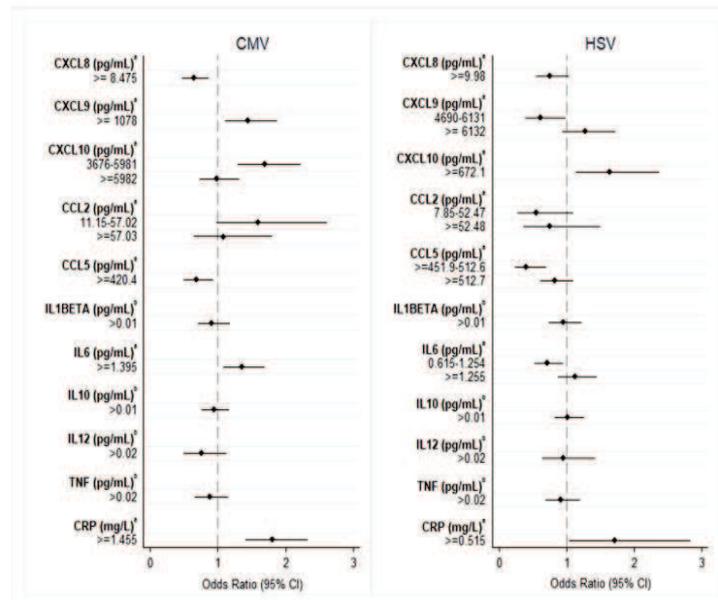


Fig. 1. Association between cytomegalovirus infection (IgG > 399.5 U/mL), herpes simplex virus type 1 (IgG > 160 UR/mL), the dependent variables, and biomarkers (independent variables) in the study population. Baseline of the Bambuí Cohort Study of Aging, Minas Gerais, Brazil.

^aCategorized by the CART method; ^bcategorized as detectable and undetectable. Odds ratio and 95% confidence interval adjusted for socio-demographic variables, health behaviors and health conditions.

viral diseases in older adults and important immunological changes, such as loss of balance between the Th1 and Th2 cytokines (Simpson, 2011).

We found that the results of the association between CXCL8 and CMV do not corroborate the main hypothesis about the role of this biomarker in chronic inflammatory processes, since high levels of CXCL8 were expected because it is a systemic mediator with pro-inflammatory properties present in the acute phase of inflammation (Gerard and Rollins, 2001). This result should be further investigated in other studies, seeking to establish the role of this chemokine in chronic infections among older adults.

The CXCL9 is part of a group of chemokines induced by interferon gamma (IFN-gamma) and its main activity is to limit the spread of viral infections (Melchjorsen et al., 2002). Thus, our result for CMV corroborated with the main findings of the literature on the topic, since high levels of CXCL9 were expected due to the role of this chemokine in viral infections (Cook et al., 2004; Wuest and Carr, 2006). In contrast, the result for HSV-1 was divergent and it is assumed that this difference can be explained by the ability of some viruses to interfere with the immune response considered standard, in this particular case it interferes with the production and activity of IFNs. Some viruses are capable of subverting the host's immune response by encoding proteins that antagonize chemokine functions, and the members of the *Hesperiidae* family are very efficient regarding this property (García-Sastre, 2001; Wuest and Carr, 2006).

The CXCL10 is also induced by IFN-gamma and acts in modulating the immune response to infections. Increased levels have already been seen in other viral infections, such as infection by the human immunodeficiency virus (HIV) and in chronic inflammatory events of other types (Dawson et al., 2000; Cook et al., 2004; Carr and Tomanek, 2006; Wuest et al., 2006; Ramirez et al., 2014). Consequently, our results show that the increase in CXCL10 levels may also be associated with other chronic infections, such as CMV and HSV-1, although for the first infectious agent the association was only observed for the intermediate levels of this biomarker.

Regarding CCL5 chemokine, both infections showed similar results. Contrarily, our results differ from other studies on the subject, since CCL5 seems to be invariably associated with viral infections, with few

exceptions (Melchjorsen et al., 2002; Cook et al., 2004; Wuest and Carr, 2006). The consistency of this statement is supported by the nature of this biomarker, since it is a chemotactic mediator present in infectious processes, and the most studied in relation to the molecular mechanisms that guide the expression of chemokines induced by viruses, in addition to the wide variety of infectious agents (herpes simplex virus type 1, herpes simplex virus type 2, herpesvirus MHV-68, influenza virus, hepatitis C virus, respiratory syncytial virus) that have already been associated with the increased production of CCL5 (Chen et al., 2000; Dawson et al., 2000; Haeberle et al., 2001; Apolinario et al., 2002; Melchjorsen et al., 2002; Weinberg et al., 2002). Chen and collaborators demonstrated that the stimulus for CCL5 production is accentuated in such a way that although HSV-1 was quickly eliminated from the organism, this chemokine remained present until one month after the infection, constantly stimulating the immune system in areas of latent infections, even in the absence of viral replication (Chen et al., 2000). Of note, along immunosenescence, HSV-1 and CMV establishes latency avoiding robust immune response that involves both innate and adaptive humoral and cell-mediated immunity. This scenario may reflect a possible low state of immunogenicity that might contribute to a steady state as a latent infection (Sansoni et al., 2014).

The results of IL-6 were conflicting for the two infections. Higher concentrations of IL-6 were associated with higher antibody titers for CMV infection, which is in line with the role of this pathogen in the process known as inflamm-aging (Trzonkowski et al., 2003; Li et al., 2014; Pawelec and Derhovanessian, 2011). Herpetic infections have been considered to induce the expression of IL-6, a cytokine with an important pro-inflammatory action in the immunosenescence (Li et al., 2014). However, other evidence suggests a lack of consistency for the association between infections by different herpesviruses and IL-6, as reported in the older adult population of Bambuí for HSV-1 (Bartlett et al., 2012).

The classic associations between CRP and infections were replicated in this study, for both outcomes. In general, mild inflammations and viral infections lead to elevations of this protein in the range of 10–40 mg/L (Clyne and Olsaker, 1999). Our results add that these associations can be seen at much lower levels of CRP for the two viral infections. Our study also found that the results were similar when investigating the

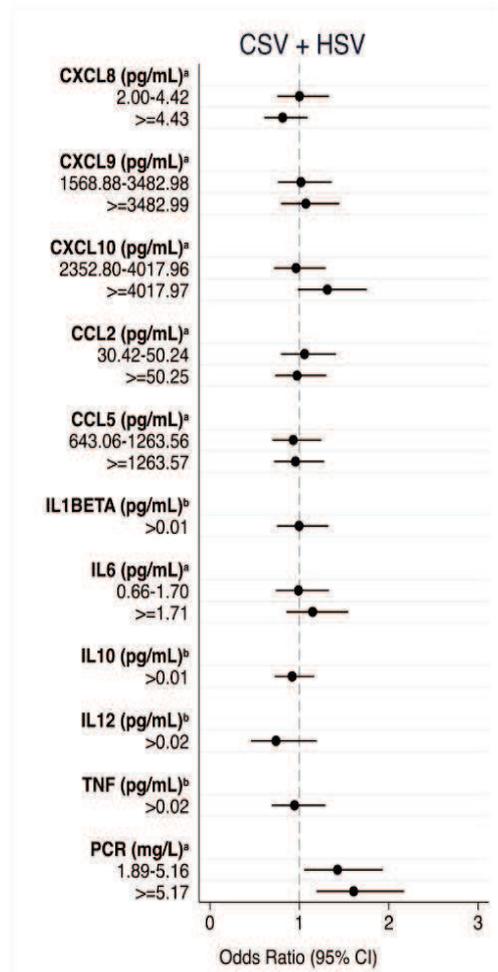


Fig. 2. Association between simultaneous infection with cytomegalovirus (IgG > 399.5 U/mL) and herpes simplex type 1 (IgG > 160 UR/mL) and biomarkers in the study population. Baseline of the Bambuí Cohort Study of Aging, Minas Gerais, Brazil.

^aCategorized in tertiles; ^bcategorized as detectable and undetectable. Odds ratio and 95% confidence interval adjusted for sociodemographic variables, health behaviors and health conditions.

simultaneous presence of antibody titers above the median for both infections and higher concentrations of CRP, reinforcing the importance of this marker for viral infections.

The infectious hypothesis suggests that aging and infections function as a vicious cycle, in which on the one hand aging increases the susceptibility to infections and, on the other hand, exacerbated responses to some infections contribute to the immune phenotype of risk during aging (Pawelec and Derhovanessian, 2011). Thus, it is believed that the repeated reactivation of viral infections represents a constant antigenic stimulus, contributing to a greater number of cell divisions and the premature senescence of immune cells (Simpson, 2011), in addition to the oligoclonal expansion of CD8+ T lymphocytes harming immune responses to new viruses, which would be particularly important in pandemics of emerging viral diseases like COVID-19. Persistent herpetic infections that reactivate in humans and are highly prevalent in older adults, such as the two infections investigated in this study, call attention for having these characteristics. Then, it is possible to believe that exposure to various antigens throughout life may trigger a likely

unnecessary activation of the immune system, resulting in the systemic increase in inflammatory mediators that are found in older adults (Simpson, 2011; Pawelec and Derhovanessian, 2011). When the immune surveillance homeostasis in the latent infection is broken, higher numbers of plasma circulating antibodies are detected (Sansoni et al., 2014). However, this profile not necessarily means more infection. The anti-HSV and anti-CMV antibody titers could be the reflection of infection reactivation; however, these immune molecules are essential to neutralize, opsonize, generate Antibody Dependent Cellular Cytotoxicity (ADCC) what contributes to control the viral infection process. Many different aspects may influence the detected levels of anti-viral humoral adaptive response as environment stressors, co-morbidities, different viral strains and their elaborated mechanisms of evading immune response and host genetic variations (Solana et al., 2012; Pandey et al., 2020).

With regard to the limitations of this study, although the cross-sectional design was adequate to meet the purpose of the article, it was not possible to establish temporal relationships, and some of these associations may be the result of reverse causality. It should be noted that serological monitoring may not clearly show the role of CMV and HSV-1 in immunity, so that clinical studies combined with research at the cellular level are necessary to obtain more conclusive results. On the other hand, it is a population-based study, which used standardized procedures and trained examiners to collect information to ensure its internal validity. In addition, the analysis showed the cutoff points (CART) that best determined the association between chronic infections and a wide variety of immunological biomarkers, including confounding factors, which allows advancing the knowledge already developed on the topic.

5. Conclusions

In summary, our study found a high prevalence for the two infections investigated, in addition to verifying the existence of a relationship between antibody titers for CVM and HSV-1 and the biomarkers that comprised the immunological profile of the older adult population of Bambuí. Considering that research projects in the field of immunosenescence is important for a better understanding of the mechanisms of illness of older adults, since immune changes directly impact the different possibilities of prevention and treatment of common conditions in aging, our results may contribute with the epidemiology of infectious events among older adults, especially in Latin American countries, considering the scarcity of studies in this region.

Funding

This work was supported by Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais - FAPEMIG (Processo APQ-02439-15 e PPM-00715-18); and Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq (Processo 403892/2016-3).

Acknowledgments

OAM—F, AT-C, MFL-C and SVP are fellow researchers of the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico.

CRedit authorship contribution statement

Beatriz Prado Noronha: Conceptualization, Methodology, Formal analysis, Writing - Original Draft; Juliana Vaz de Melo Mambrini: Methodology, Formal analysis, Writing - Review & Editing; Karen Cecília Lima Torres: Investigation, Writing - Review & Editing; Olindo Assis Martins-Filho: Investigation, Writing - Review & Editing; Andréa Teixeira-Carvalho: Investigation, Writing - Review & Editing; Maria Fernanda Lima-Costa: Conceptualization, Methodology, Funding

acquisition; Sérgio Viana Peixoto: Conceptualization, Methodology, Writing - Review & Editing, Project administration, Funding acquisition.

Declaration of competing interest

The authors declare no conflict of interest.

References

- Apolinario, A., Majano, P.L., Alvarez-Perez, E., Saez, A., Lozano, C., Vargas, J., Garcia-Monzon, C., 2002. Increased expression of T cell chemokines and their receptors in chronic hepatitis C: relationship with the histological activity of liver disease. *Am. J. Gastroenterol.* 97, 2861–2870. <https://doi.org/10.1111/j.1572-0241.2002.07054.x>.
- Bartlett, D.B., Firth, C.M., Phillips, A.C., Moss, P., Baylis, D., Syddall, H., Sayer, A.A., Cooper, C., Lord, J.M., 2012. The age-related increase in low-grade systemic inflammation (Inflammaging) is not driven by cytomegalovirus infection. *Aging Cell* 11, 912–915. <https://doi.org/10.1111/j.1474-9726.2012.00849.x>.
- Cannon, M.J., Schmid, D.S., Hyde, T.B., 2010. Review of cytomegalovirus seroprevalence and demographic characteristics associated with infection. *Rev. Med. Virol.* 20, 202–213. <https://doi.org/10.1002/rmv.655>.
- Carr, D.J., Tomanek, L., 2006. Herpes simplex virus and the chemokines that mediate the inflammation. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 303, 47–65. https://doi.org/10.1007/978-3-540-33397-5_3.
- Chen, S.H., Garber, D.A., Schaffer, P.A., Knipe, D.M., Coen, D.M., 2000. Persistent elevated expression of cytokine transcripts in ganglia latently infected with herpes simplex virus in the absence of ganglionic replication or reactivation. *Virology.* 278, 207–216. <https://doi.org/10.1006/viro.2000.0643>.
- Clyne, B., Olsaker, J.S., 1999. The C-reactive protein. *J. Emerg. Med.* 17, 1019–1025. [https://doi.org/10.1016/s0736-4679\(99\)00135-3](https://doi.org/10.1016/s0736-4679(99)00135-3).
- Conde-Glez, C., Lazcano-Ponce, E., Rojas, R., De Antonio, R., Romano-Mazzotti, L., Cervantes, Y., Ortega-Barria, E., 2013. Seroprevalences of varicella-zoster virus, herpes simplex virus and cytomegalovirus in a cross-sectional study in Mexico. *Vaccine.* 31, 5067–5074. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2013.08.077>.
- Cook, W.J., Kramer, M.F., Walker, R.M., Burwell, T.J., Holman, H.A., Coen, D.M., Knipe, D.M., 2004. Persistent expression of chemokine and chemokine receptor RNAs at primary and latent sites of herpes simplex 1 infection. *Virol. J.* 1, 5. <https://doi.org/10.1186/1743-422X-1-5>.
- Dawson, T.C., Beck, M.A., Kuziel, W.A., Henderson, F., Maeda, N., 2000. Contrasting effects of CCR5 and CCR2 deficiency in the pulmonary inflammatory response to influenza A virus. *Am. J. Pathol.* 156, 1951–1959. [https://doi.org/10.1016/S0002-9440\(10\)65068-7](https://doi.org/10.1016/S0002-9440(10)65068-7).
- Derhovanessian, E., Larbi, A., Pawelec, G., 2009. Biomarkers of human immunosenescence: impact of cytomegalovirus infection. *Curr. Opin. Immunol.* 21, 440–445. [https://doi.org/10.1016/S0002-9440\(10\)65068-7](https://doi.org/10.1016/S0002-9440(10)65068-7).
- Do Amaral, R.P., De Saideu, A.E., Ribeiro, W.L., De Andrade, J., 2008. Serological profile of potential solid organ donors in Santa Catarina, Brazil. *Transplant. Proc.* 40, 665–667. <https://doi.org/10.1016/j.transproceed.2008.03.003>.
- García-Sastre, A., 2001. Inhibition of interferon-mediated antiviral responses by influenza A viruses and other negative-strand RNA viruses. *Virology.* 279, 375–384. <https://doi.org/10.1006/viro.2000.0756>.
- Gavazzi, G., Krause, K., 2002. Ageing and infection. *Lancet Infect. Dis.* 2, 659–666. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(02\)00437-1](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(02)00437-1).
- Geller, M., Neto, M.S., Ribeiro, M.G., Oliveira, L., Naliato, E.C.O., Abreu, C., Schechtman, R.C., 2012. Herpes Simplex: Atualização Clínica, Epidemiológica e Terapêutica. *J. Bras. Doenças. Sex. Transm.* 24, 260–266. <https://doi.org/10.5533/DST-2177-8264-20122408>.
- Gerard, C., Rollins, B.J., 2001. Chemokines and disease. *Nat. Immunol.* 2, 108–115. <https://doi.org/10.1038/94209>.
- Haeblerle, H.A., Kuziel, W.A., Dieterich, H.J., Casola, A., Gatalica, Z., Garofalo, R.P., 2001. Inducible expression of inflammatory chemokines in respiratory syncytial virus-infected mice: role of MIP-1 in lung pathology. *J. Virol.* 75, 878–890. <https://doi.org/10.1128/JVI.75.2.878-890.2001>.
- Haeseker, M.B., Pijpers, E., Dukers-Muijers, N.H.T.M., Nelemans, P., Hoeb, C.J.P.A., Bruggeman, C.A., Verbon, A., Goossens, V.J., 2013. Association of cytomegalovirus and other pathogens with frailty and diabetes mellitus, but not with cardiovascular disease and mortality in psycho-geriatric patients; a prospective cohort study. *Immun. Ageing* 10, 30. <https://doi.org/10.1186/1742-4933-10-30>.
- Le Saux, S., Weyand, C.M., Goronzy, J.J., 2012. Mechanisms of immunosenescence: lessons from models of accelerated immune aging. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1247, 69–82. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2011.06297.x>.
- Li, H., Weng, P., Najjar, K., Xue, Q.L., Semba, R.D., Margolick, J.B., Leng, S.X., 2014. Chronic CMV infection in older women: Longitudinal comparisons of CMV DNA in peripheral monocytes, anti-CMV IgG titers, serum IL-6 levels, and CMV pp65 (NLV)-specific CD8+ T-cell frequencies with twelve years' follow-up. *Exp. Gerontol.* 54, 84–89. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2014.01.010>.
- Lima-Costa, M.F., Firmo, J.O.A., Uchoa, E., 2011. Cohort profile: the Bambuí (Brazil) cohort study of ageing. *Int. J. Epidemiol.* 40, 862–867. <https://doi.org/10.1093/ije/dyq143>.
- Looker, K., Garnet, G., 2005. A systematic review of the epidemiology and interaction of herpes simplex virus types 1 and 2. *Sex. Transm. Infect.* 81, 103–107. <https://doi.org/10.1136/sti.2004.012039>.
- Matos, S.B., Meyer, R., Lima, F.W.M., 2009. Seroprevalence of cytomegalovirus infection among healthy blood donors in Bahia State, Brazil. *Rev. Bras. Hematol. Hemoter.* 32. <https://doi.org/10.1590/S1516-8484201000500009>.
- Melchjorsen, J., Pedersen, F.S., Mogensen, S.C., Paludan, S.R., 2002. Herpes simplex virus selectively induces expression of the CC chemokine RANTES/CCL5 in macrophages through a mechanism dependent on PKR and ICP0. *J. Virol.* 76, 2780–2788. <https://doi.org/10.1128/JVI.76.6.2780-2788.2002>.
- Moos, R.H., Schutte, K.K., Brennan, P.L., Moos, B.S., 2009. Older adults' alcohol consumption and late-life drinking problems: a 20-year perspective. *Addiction.* 104, 1293–1302. <https://doi.org/10.1111/j.1360-0443.2009.02604.x>.
- Pandey, J.P., Olsson, J., Weidung, B., Kothera, R.T., Johansson, A., Eriksson, S., Hallmans, G., Elgh, F., Lovheim, H., 2020. An Ig y marker genotype is a strong risk factor for Alzheimer disease, independent of apolipoprotein E e4 genotype. *J. Immunol.* 205, 1318–1322. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.2000351>.
- Pawelec, G., Derhovanessian, E., 2011. Role of CMV in immune senescence. *Virus Res.* 157, 175–179. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2010.09.010>.
- Pawelec, G., Derhovanessian, E., Larbi, A., Strindhall, J., Wilby, A., 2009. Cytomegalovirus and human immunosenescence. *Rev. Med. Virol.* 19, 47–56. <https://doi.org/10.1002/rmv.598>.
- R CORE TEAM, 2016. A language and environment for statistical computing. Vienna, Austria. (Internet). <https://www.R-project.org/>. Accessed date: 26 May 2020.
- Ramalhó, J.R.O., Lima-Costa, M.F., Firmo, J.O.A., Peixoto, S.V., 2011. Energy expenditure through physical activity in a population of community-dwelling Brazilian elderly: cross sectional evidences from the Bambuí Cohort Study of Aging. *Cad. Saude Publica* 27, S399–S408. <https://doi.org/10.1590/S0102-311X2011001500010>.
- Ramírez, L.A., Arango, T.A., Thompson, E., Najji, M., Tebas, P., Boyer, J.D., 2014. High IP-10 levels decrease T cell function in HIV-1-infected individuals on ART. *J. Leukoc. Biol.* 96, 1055–1063. <https://doi.org/10.1189/jlb.3A0414-232RR>.
- Roberts, E.T., Haan, M.N., Dowd, J.B., Aiello, A.E., 2010. Cytomegalovirus antibody levels, inflammation, and mortality among elderly Latinos over 9 years of follow-up. *Am. J. Epidemiol.* 172, 363–371. <https://doi.org/10.1093/aje/kwq177>.
- Sansoni, P., Vescovini, R., Fragoni, F.F., Akbar, A., Arens, R., Chiu, Y.L., Cicin-Sain, L., Dechanet-Merville, J., Derhovanessian, E., Ferrando-Martinez, S., Franceschi, C., et al., 2014. New advances in CMV and immunosenescence. *Exp. Gerontol.* 55, 54–62. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2014.03.020>.
- Simpson, R.J., 2011. Aging, persistent viral infections, and immunosenescence: can exercise "make space"? *Exerc. Sport Sci. Rev.* 39, 23–33. <https://doi.org/10.1097/JES.0b013e318201f39d>.
- Smith, J.S., Robinson, N.J., 2002. Age-specific prevalence of infection with herpes simplex virus types 2 and 1: a global review. *J. Infect. Dis.* 186, S3–S28. <https://doi.org/10.1086/343739>.
- Solana, R., Tarazona, R., Aiello, A.E., Akbar, A.N., Appay, V., Beswick, M., Bosch, J.A., Campos, C., Cantisán, S., Cicin-Sain, L., Derhovanessian, E., et al., 2012. CMV and immunosenescence: from basics to clinics. *Immun. Ageing* 9, 23. <https://doi.org/10.1186/1742-4933-9-23>.
- Timofeev, R., 2004. Classification and Regression Trees (CART) Theory and Applications. Dissertation. CASE - Center of Applied Statistics and Economics Humboldt University, Berlin.
- Trzonkowski, P., Mysliwska, J., Smit, E., Wickiewicz, J., Lukaszk, K., Brydak, L.B., Machala, M., Mysliwski, A., 2003. Association between cytomegalovirus infection, enhanced proinflammatory response and low level of anti-hemagglutinins during the anti-influenza vaccination: impact of immunosenescence. *Vaccine.* 21, 3826–3836. [https://doi.org/10.1016/S0264-410X\(03\)00309-8](https://doi.org/10.1016/S0264-410X(03)00309-8).
- Wang, G.C., Kao, W.H.L., Murakami, P., Xue, Q.L., Chiou, R.B., Detrick, B., McDyer, J.F., Semba, R.D., Casolaro, V., Walston, J.D., Fried, L.P., 2010. Cytomegalovirus infection and the risk of mortality and frailty in older women: a prospective observational cohort study. *Am. J. Epidemiol.* 171, 1144–1152. <https://doi.org/10.1093/aje/kwq062>.
- Weinberg, J.B., Lutke, M.L., Efsthathiou, S., Kunkel, S.L., Rochford, R., 2002. Elevated chemokine responses are maintained in lungs after clearance of viral infection. *J. Virol.* 76, 10518–10523. <https://doi.org/10.1128/JVI.76.20.10518-10523.2002>.
- Wuest, T.R., Carr, D.J., 2008. The role of chemokines during herpes simplex virus-1 infection. *Front. Biosci.* 13, 4862–4872. <https://doi.org/10.2741/3045>.
- Wuest, T., Austin, B., Uematsu, S., Thapa, M., Akira, S., Carr, D., 2006. Intact TLR 9 and type I interferon signaling pathways are required to augment HSV-1 induced corneal CXCL9 and CXCL10. *J. Neuroimmunol.* 179, 46–52. <https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2006.06.020>.

5.2 Artigo: Chlamydia pneumoniae and Helicobacter pylori infections and immunological profile of community-dwelling older adults²

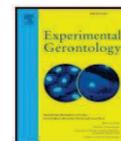
Experimental Gerontology 156 (2021) 111589



Contents lists available at ScienceDirect

Experimental Gerontology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/expgero



Chlamydia pneumoniae and *Helicobacter pylori* infections and immunological profile of community-dwelling older adults

Beatriz Prado Noronha^a, Juliana Vaz de Melo Mambrini^a, Karen Cecília Lima Torres^{b,c}, Olindo Assis Martins-Filho^b, Andréa Teixeira-Carvalho^b, Maria Fernanda Lima-Costa^a, Sérgio Viana Peixoto^{a,d,e}

^a Instituto René Rachou, Fundação Oswaldo Cruz, Fiocruz Minas, Núcleo de Estudos em Saúde Pública e Envelhecimento, Belo Horizonte, MG, Brazil

^b Instituto René Rachou, Fundação Oswaldo Cruz, Fiocruz Minas, Grupo Integrado de Pesquisas em Biomarcadores, Belo Horizonte, MG, Brazil

^c Universidade José do Rosário Vellano, UNIFENAS, Belo Horizonte, MG, Brazil

^d Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Enfermagem, Departamento de Gestão em Saúde, Belo Horizonte, MG, Brazil

ARTICLE INFO

Section Editor: Daniela Frasca

Keywords:

Chlamydia pneumoniae
Helicobacter pylori
Inflammation
Immunological profile
Immunosenescence

ABSTRACT

Chronic bacterial infections are associated with changes in the immunosenescence process and immunological biomarkers can assist in monitoring these changes. The identification of this immunological profile is important because *Chlamydia pneumoniae* (*C. pneumoniae*) and *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) infections are important factors of morbidity and mortality among the older adults. This study aimed to identify changes in the immunological profile in the presence of *C. pneumoniae* and *H. pylori* infections among community-dwelling older adults. This is a cross-sectional study that used data from 1432 participants from the Bambuí Cohort Study of Aging, Minas Gerais, Brazil. The presence of immunoglobulin G (IgG) for *C. pneumoniae* and *H. pylori* was considered a dependent variable and assessed in the participants' serum using the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). In assessing the immunological profile, the following inflammatory markers were considered: CXCL3, CXCL9, CXCL10, CCL2, CCL5, IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-12, TNF, and CRP. Associations were assessed by logistic regression, estimating odds ratios and confidence intervals (95%) using the Stata® V.13.1 software. The seroprevalence of anti-*C. pneumoniae* and anti-*H. pylori* antibodies was 55.9% and 70.3%, respectively. While high levels of anti-*C. pneumoniae* antibodies were associated with higher concentrations of CXCL10 and IL-10, higher levels of IL-1 β and IL-6 were inversely associated with the titration of anti-*H. pylori* antibodies. The results characterize immunological profiles associated with these chronic infections and reinforce the potential effects of biomarkers on infections by these bacteria and on the immunosenescence process.

1. Introduction

Chronic infections are very common among the older adults and can be associated with important adverse health events such as cardiovascular and respiratory diseases, diabetes, frailty, and mortality (Gavazzi and Krause, 2002; Contini et al., 2011; Filardo et al., 2015; Portitt and Crother, 2016; Li et al., 2020). Among the possible mechanisms that explain these associations, there is the pro-inflammatory state, which can be exacerbated in the presence of infections, contributing to the immunosenescence process (Gavazzi and Krause, 2002). Research has shown important immunological changes with aging due to chronic

infections, specifically related to the response of CD8 T lymphocytes which trigger limitations in the immune system's ability to organize an efficient response to pathogens, resulting in greater susceptibility to infections (Yoshikawa, 1997; Gavazzi and Krause, 2002; Fuentes et al., 2017).

Chlamydia pneumoniae (*C. pneumoniae*) is a common respiratory pathogen and has been identified as a trigger for several chronic inflammatory conditions, such as atypical pneumonia, asthma, atherosclerosis, arthritis, and neurological disorders (Hansbro et al., 2004; Contini et al., 2011; Filardo et al., 2015; Portitt and Crother, 2016; Balin et al., 2018). Furthermore, older adults are at a higher risk of developing

* Corresponding author at: Rene Rachou Institute, Oswaldo Cruz Foundation, Avenida Augusto de Lima, 1715 Barro Preto, 30190-009 Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil.

E-mail addresses: juliana.mambrini@fiocruz.br (J.V.M. Mambrini), olindo.filho@fiocruz.br (O.A. Martins-Filho), andrea.teixeira@fiocruz.br (A. Teixeira-Carvalho), lima.costa@fiocruz.br (M.F. Lima-Costa), sergio.peixoto@fiocruz.br (S.V. Peixoto).

<https://doi.org/10.1016/j.exger.2021.111589>

Received 29 June 2021; Received in revised form 4 October 2021; Accepted 5 October 2021

Available online 9 October 2021

0531-5565/© 2021 Elsevier Inc. All rights reserved.

²This article was published in Experimental Gerontology, Vol 156, Beatriz Prado Noronha, Juliana Vaz de Melo Mambrini, Karen Cecília Lima Torres, Olindo Assis Martins-Filho, Andréa Teixeira-Carvalho, Maria Fernanda Lima-Costa, Sérgio Viana Peixoto, Chlamydia pneumoniae and Helicobacter pylori infections and immunological profile of community-dwelling older adults, 111589, Copyright Elsevier (2021).

respiratory diseases, such as chronic obstructive pulmonary disease, asthma and bronchitis, and many studies have demonstrated the importance of persistent *C. pneumoniae* infection to the pathogenesis or exacerbation of these diseases (Black et al., 2000; Porritt and Crother, 2016). Thus, it is relevant to analyze the immunological changes associated with *C. pneumoniae* infection in order to understand the role of persistent infection in immunosenescence. Previous studies have found that these bacteria can infect and replicate in various cell types, leading to positive regulation of a variety of pro-inflammatory cytokines, including TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-18, and IFN- γ , and chemokines, such as CCL2 and CXCL10 (He et al., 2010; Prakash et al., 2014).

Helicobacter pylori (*H. pylori*) also causes a common infection in humans and, from an epidemiological point of view, it is an important health problem in several countries due to its interaction with gastrointestinal disorders and its neoplastic potential (Barbosa and Schinoni, 2011). It is estimated that from 15 to 20% of individuals infected with *H. pylori* develop peptic ulcers and approximately 1%, gastric cancer (Menon et al., 2011). Monitoring infection rates is relevant for identifying high-risk populations, especially in areas where there are higher rates of peptic ulcer and gastric cancer (Brown, 2000). The host's immune response to *H. pylori* infection can be systemic and trigger a process of chronic inflammation that subsequently induces the release of cytokines and other inflammatory mediators (Quintairos et al., 2020).

The older adult population is particularly more susceptible to infection and related diseases (Wick et al., 2000; Gavazzi and Krause, 2002). Many infectious agents have developed strategies with the ultimate goal of coexisting with their hosts and establishing persistent infections in humans, such as *C. pneumoniae* and *H. pylori*. The literature shows that chronic infections are associated with mechanisms for changing inflammatory responses that have a direct impact on immunosenescence (Fuentes et al., 2017).

Therefore, epidemiological knowledge of *C. pneumoniae* and *H. pylori* and their impact on the immune system of older adults are important for planning strategies aimed at preventing and controlling associated chronic inflammatory events. The objective of the present study was to assess the prevalence and identify the immunological profile associated with chronic infections by *C. pneumoniae* and *H. pylori* in the older adults from Bambuí Cohort Study of Aging. To our knowledge, this is the first study on the associations of these infections with the immunological profile in a Latin American country, which may contribute to a better understanding of the outcome in low- and middle-income populations that are more exposed to risk factors for these infections.

2. Methodology

2.1. Data source and study design

The data are from the Bambuí Cohort Study of Aging, a longitudinal study developed at the seat of the municipality of Bambuí, located in western region of Minas Gerais, Brazil. All cohort participants were identified by a complete census that was conducted in the city, and residents aged sixty or older on January 1st, 1997 ($n = 1742$) were invited to participate in the study's baseline. Of these, 1606 older adults (92%) were interviewed and 1492 (86%) underwent laboratory tests, physical measurements and electrocardiograms in specific waves of the study.

The present work is a cross-sectional study, including all baseline participants in the cohort who had complete information for the variables included in this analysis. This study was approved by the Oswaldo Cruz Foundation Ethics Committee, and all participants signed an informed consent form. More information on the cohort design and the procedures adopted were described in a previous publication (Lima-Costa et al., 2011).

2.2. IgG antibody levels (dependent variables)

C. pneumoniae and *H. pylori* infections were assessed through the evaluation of antibodies (IgG) in the participants' serum that was collected at the cohort baseline and stored at -80°C ; the dosages were performed in 2018. The quantitative enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to assess antibodies to *C. pneumoniae* and *H. pylori*, using kits from Euroimmun (Germany) for the former and the SERION ELISA classic kit (Germany) for the latter. All tests were performed following the kit manufacturers' guidelines, using standardized procedures and automated analyzers, in reference laboratories with experience in this type of dosage.

Following the manufacturers' guidelines, the tests were considered positive for the infectious agents using the following cutoff points: *C. pneumoniae* (≥ 22 UR/mL) and *H. pylori* (> 50 U/mL).

2.3. Biomarkers (independent variables)

For the serum measurements of biomarkers, 5 mL of blood were collected by venipuncture using the vacuum collection system (Vacutainer, Becton Dickinson, United States) in a flask containing sodium heparin. Participants were instructed to fast 12 h prior to the collection. The following biomarkers were considered: cytokines (IL-1 β , IL-6, IL10, IL-12 and TNF) and chemokines (CXCL8, CXCL9, CCL2, CXCL10 and CCL5), measured in the participants' serum using the Cytometric Bead Array (CBA), which consists of a sandwich-type immunofluorescence assay. Anti-cytokine antibodies labeled with phycoerythrin (PE) were used to indicate the mean fluorescence intensity (MFI). MFI data were obtained using the FACSuite program (7.0 - Becton Dickinson, United States) from the FACSVerse flow cytometer (Becton Dickinson, United States), and the concentrations were calculated in pg/mL, using the BD FCAP Array 3.0 program (Becton Dickinson, United States). On top of that, the levels of ultra-sensitive CRP measured by the immunonephelometric method in an automatic nephelometric (BNIPTM, Dade Behring, Germany) and the concentrations calculated in mg/L were also considered.

2.4. Adjustment variables

The adjustment variables were defined based on literature (Shikata et al., 2003; Dattoli et al., 2010; Zhan et al., 2011; Porritt and Crother, 2016; Li et al., 2020) and grouped in three blocks: i) sociodemographic: sex, age and education; ii) health behaviors: current smoking, consumption of alcoholic beverages and physical inactivity; and iii) health condition: number of chronic diseases (arterial hypertension, diabetes mellitus, stroke, myocardial infarction, arthritis or rheumatism).

Among the sociodemographic factors, age in years, sex (men and women), and education in years of study (0 to 3 years and 4 or more) were considered. Older adults who reported having smoked at least 100 cigarettes in their lifetime and continued to smoke at the time of the interview were classified as current smokers. Regarding alcoholism, the weekly consumption of seven doses or more in the 12 months prior to the interview was considered high and cards were presented to standardize the doses showing the amount of liquid corresponding to a dose of beer, wine or brandy (Moos et al., 2009). The practice of physical activity was assessed through the report of 23 activities developed in the last 90 days, in all domains, which were converted into energy expenditure (rate of metabolic equivalents - MET). Insufficient physical activity was defined as energy expenditure of less than 450 MET minutes/week (Ramalho et al., 2011).

To measure arterial hypertension, three blood pressure measurements were taken after five minutes of rest and with two-minute intervals between them, following a standardized protocol. These measurements were taken using mercury sphygmomanometers (Tyco 5097-30; Tyco, Arden, USA) and stethoscopes (Littman Cardiology II; 3 M, St. Paul, USA). The arterial hypertension variable was defined by

systolic and/or diastolic blood pressure equal to or greater than 140 mmHg and/or 90 mmHg, respectively, considering the average of the last two measurements and/or consumption of antihypertensive drugs. The presence of diabetes mellitus was considered when the fasting blood glucose level was equal to or greater than 126 mg/dL and/or the use of insulin or oral hypoglycemic agents. The use of medications was assessed according to the participant's report, considering the last 90 days, and confirmed by consulting the packaging of the mentioned medications.

The history of stroke was assessed by standardized questionnaires (Plan and Operation of the Third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988–1994, 1994). The reports of myocardial infarction and arthritis or rheumatism were evaluated based on the medical diagnosis history for these conditions. The variables arterial hypertension, diabetes mellitus, stroke, myocardial infarction and arthritis or rheumatism comprised a single variable, namely, number of chronic diseases, categorized into none, one, and two or more.

2.5. Data analysis

The sample was characterized with frequency distribution for qualitative variables and descriptive measures (median and 25th and 75th percentiles; or mean and standard deviation) for quantitative variables. The categorization of the biomarkers was performed by the tertiles of the distribution, except for those that presented 50% or more of values not detectable by the dosage method and that were kept as detectable and undetectable (IL-1 β , IL-10, IL-12, and TNF).

To assess the association between infections and biomarkers, logistic regression was used to estimate the values of odds ratio and respective 95% confidence intervals, without adjustment (crude model) and with progressive adjustment, including the sociodemographic variables (model 1), adding the variables related to health behaviors (model 2), and, finally, the health condition variable (model 3). This analysis was performed for all markers included in the study. All these logistic regression models were estimated for each infection (dependent variables), considering the cutoff points determined for *C. pneumoniae* (≥ 22 UR/mL) and *H. pylori* (>50 U/mL). All analyzes were performed using software Stata[®] version 13.0 (StataCorp LLP, College Station, Texas, USA). In all the statistical tests, a significance level of 5% was considered.

3. Results

1432 older adults participated in this analysis, with complete information for all variables that were investigated. The seroprevalence of anti-*C. pneumoniae* and anti-*H. pylori* antibodies was 55.9% (95% CI: 53.3–58.4) and 70.3% (95% CI: 67.8–72.6), respectively. The distribution of characteristics of the sample analyzed were reported in Table 1. The average age of the participants was 69.3 years (standard deviation = 7.4 years), the majority being women (60.1%) and those who had up to four years of education (65.3%). In relation to health behaviors, current smokers (18.7%) and those with consumption equal to or greater than seven weekly doses of alcoholic beverages (5.5%) represented a small proportion of the sample, while 33.4% were considered insufficiently active. Regarding the number of chronic diseases, 44.1% of the participants reported having one disease and 32.6%, two or more.

Table 2 shows the distribution of the biomarkers studied among the participants in the present analysis. The results demonstrate the high variability of chemokines, described as median values and interquartile ranges. Among the cytokines, IL-1 β , IL-10, IL-12, and TNF showed detectable levels below 50%.

The results found in this study identified the immunological profile associated with *C. pneumoniae* and *H. pylori* in the older adult population of Bambuí. Table 3 shows the association between the presence of *C. pneumoniae* and the biomarkers studied, without adjustment and with progressive adjustment. In the crude analysis, biomarkers CXCL10 and

Table 1

Characteristics of the studied sample. Baseline of the Bambuí Cohort Study of Aging, Minas Gerais, Brazil.

Variables	Total sample (n = 1432) %
Women	60.1 (n = 861)
Age in years; mean and standard deviation	69.3; 7.4
Education (<4 years)	65.3 (n = 935)
Current smoking ^b	18.7 (n = 268)
Consumption of alcoholic beverages (≥ 7 doses/week)	5.5 (n = 79)
Insufficient physical activities (<450 MET minutes/week)	33.4 (n = 478)
Number of chronic diseases ^c	
None	22.3 (n = 319)
One	44.1 (n = 631)
Two or more	32.6 (n = 467)
<i>Chlamydia pneumoniae</i> infection (IgG ≥ 22 UR/mL)	55.9 (n = 800)
<i>Helicobacter pylori</i> infection (IgG >50.0 U/mL)	70.3 (n = 1007)

^a Values expressed as a percentage, except when specified.

^b Current smoking: at least 100 cigarettes in their lifetime and active smoker at the time of the interview.

^c Number of chronic diseases: arterial hypertension, diabetes mellitus, stroke, myocardial infarction, arthritis, and rheumatism.

Table 2

Distribution of inflammatory markers in the studied sample. Bambuí Cohort Study of Aging baseline, Minas Gerais, Brazil.

Biomarkers	Total sample (n = 1432)
CXCL8 pg/mL ^a	3.1 (1.6–5.6)
CXCL9 pg/mL ^a	2346.9 (1231.8–4279.2)
CXCL10 pg/mL ^a	3047.1 (1984.2–4847.7)
CCL2 pg/mL ^a	39.0 (25.4–57.5)
CCL5 pg/mL ^a	875.4 (553.3–1622.9)
IL-1 β (>0.01 pg/mL) ^b	22.0 (20.0–24.2)
IL-6 pg/mL ^a	1.1 (0.4–2.1)
IL-10 (>0.01 pg/mL) ^b	42.0 (39.5–44.5)
IL-12 (0.02 pg/mL) ^b	7.4 (6.2–8.9)
TNF (>0.02 pg/mL) ^b	17.3 (15.4–19.3)
CRP mg/mL ^a	3.2 (1.4–6.7)

TNF: tumor necrosis factor. CRP: C-reactive protein.

^a Median and interquartile range (25th and 75th percentiles).

^b Detectable levels (95% confidence interval).

IL-10 were significantly associated with infection by *C. pneumoniae* and both remained significant in the final model (Model 3). Intermediate and high CXCL10 concentrations (OR: 1.59; 95% CI: 1.07–2.35; OR: 1.29; 95% CI: 1.01–1.64, respectively) and detectable level of IL-10 (OR: 1.30; 95% CI: 1.04–1.63) were associated with the presence of infection by *C. pneumoniae*.

Table 4 shows the association between the presence of anti-*H. pylori* antibodies and the biomarkers studied, without adjustment and with progressive adjustment. In the crude analysis, biomarkers CXCL10, IL-1 β , and IL-6 were significantly associated with the infection; however, after adjustment for all variables, only higher concentrations of IL-1 β (OR: 0.69; 95% CI: 0.52–0.91) and IL-6 (OR: 0.67; 95% CI: 0.49–0.91) remained significant and were inversely associated with the presence of anti-*H. pylori* antibodies.

4. Discussion

Functional changes in the age-related immune system play an important role in increasing the incidence and severity of infections in older adults and may reflect the high rates of infections seen in this group (Gavazzi and Krause, 2002; Fuentes et al., 2017). The prevalence rate found for chronic infections among the older adults in Bambuí are in line with values observed in the literature. Epidemiological studies have shown that most people are infected and reinfected throughout their lives by *C. pneumoniae*, being estimated a prevalence of 50% at 20 years

Table 3

Association between *Chlamydia pneumoniae* infection (IgG ≥ 22 UR/mL) and biomarkers in the studied population, with and without adjustment by confounders factors. Baseline of the Bambuí Cohort Study of Aging, Minas Gerais, Brazil.

Biomarkers	Crude model OR (95% CI)	Model 1 OR (95% CI)	Model 2 OR (95% CI)	Model 3 OR (95% CI)
CXCL8 (pg/mL)^a				
<2.00	1.00	1.00	1.00	1.00
2.00–4.42	1.05 (0.81–1.35)	1.02 (0.79–1.32)	1.03 (0.79–1.33)	0.99 (0.76–1.30)
≥ 4.43	1.26 (0.97–1.62)	1.15 (0.88–1.49)	1.16 (0.89–1.50)	1.11 (0.84–1.45)
CXCL9 (pg/mL)^a				
<1568.88	1.00	1.00	1.00	1.00
1568.88–3482.98	1.06 (0.82–1.36)	1.06 (0.82–1.37)	1.04 (0.80–1.35)	1.05 (0.80–1.37)
≥ 3482.99	0.94 (0.73–1.21)	0.92 (0.70–1.21)	0.91 (0.69–1.20)	0.88 (0.66–1.16)
CXCL10 (pg/mL)^a				
<2352.80	1.00	1.00	1.00	1.00
2352.80–4017.96	1.60 (1.10–2.33)	1.62 (1.11–2.37)	1.65 (1.13–2.42)	1.59 (1.07–2.35)
≥ 4017.97	1.30 (1.04–1.64)	1.27 (1.01–1.60)	1.27 (1.00–1.60)	1.29 (1.01–1.64)
CCL2 (pg/mL)^a				
<30.42	1.00	1.00	1.00	1.00
30.42–50.24	0.89 (0.67–1.14)	0.85 (0.66–1.10)	0.85 (0.65–1.10)	0.90 (0.69–1.17)
≥ 50.25	0.95 (0.74–1.23)	0.90 (0.69–1.17)	0.90 (0.70–1.18)	0.90 (0.69–1.18)
CCL5 (pg/mL)^a				
7.07–643.05	1.00	1.00	1.00	1.00
643.06–1263.56	1.14 (0.88–1.47)	1.03 (0.79–1.34)	1.04 (0.80–1.35)	1.09 (0.83–1.43)
≥ 1263.57	0.87 (0.68–1.13)	0.82 (0.63–1.06)	0.84 (0.64–1.09)	0.86 (0.66–1.12)
IL-1β (pg/mL)^b				
Undetectable	1.00	1.00	1.00	1.00
>0.01	0.94 (0.73–1.21)	0.98 (0.76–1.27)	0.97 (0.75–1.25)	0.98 (0.75–1.28)
IL-6 (pg/mL)^a				
<0.66	1.00	1.00	1.00	1.00
0.66–1.70	1.11 (0.86–1.43)	1.10 (0.85–1.43)	1.11 (0.86–1.44)	1.14 (0.87–1.49)
≥ 1.71	1.25 (0.97–1.62)	1.20 (0.92–1.55)	1.18 (0.90–1.54)	1.19 (0.90–1.57)
IL-10 (pg/mL)^b				
Undetectable	1.00	1.00	1.00	1.00
>0.01	1.31 (1.06–1.62)	1.29 (1.04–1.60)	1.30 (1.04–1.61)	1.30 (1.04–1.63)
IL-12 (pg/mL)^b				
Undetectable	1.00	1.00	1.00	1.00
>0.02	0.97 (0.65–1.43)	0.91 (0.61–1.36)	0.92 (0.62–1.38)	0.93 (0.61–1.40)
TNF (pg/mL)^b				
Undetectable	1.00	1.00	1.00	1.00
>0.02	0.99 (0.75–1.31)	1.00 (0.76–1.33)	1.00 (0.75–1.33)	1.03 (0.77–1.38)
CRP (mg/L)^a				
0.16–1.88	1.00	1.00	1.00	1.00
1.89–5.16	1.12 (0.87–1.45)	1.22 (0.94–1.58)	1.20 (0.92–1.57)	1.21 (0.92–1.59)
≥ 5.17	0.96 (0.74–1.24)	1.03 (0.79–1.33)	1.02 (0.78–1.32)	1.00 (0.76–1.32)

Odds ratio and 95% confidence interval. Model 1: adjusted for sociodemographic variables; Model 2: adjusted for sociodemographic variables and health behaviors; Model 3: adjusted for sociodemographic variables, health behaviors and health condition.

^a Categorized into tertiles.

^b Categorized as detectable and undetectable.

Table 4

Association between *Helicobacter pylori* infection (IgG >50.0 U/mL) and biomarkers in the studied population, with and without adjustment by confounders. Baseline of the Bambuí Cohort Study of Aging, Minas Gerais, Brazil.

Biomarkers	Crude model OR (95% CI)	Model 1 OR (95% CI)	Model 2 OR (95% CI)	Model 3 OR (95% CI)
CXCL8 (pg/mL)^a				
<2.00	1.00	1.00	1.00	1.00
2.00–4.42	0.82 (0.62–1.08)	0.84 (0.64–1.12)	0.84 (0.64–1.12)	0.90 (0.68–1.21)
≥ 4.43	0.97 (0.73–1.28)	0.99 (0.75–1.32)	1.00 (0.75–1.33)	1.03 (0.77–1.38)
CXCL9 (pg/mL)^a				
<1568.88	1.00	1.00	1.00	1.00
1568.88–3482.98	1.01 (0.76–1.34)	1.00 (0.76–1.33)	1.00 (0.75–1.33)	1.01 (0.75–1.34)
≥ 3482.99	0.83 (0.63–1.09)	0.88 (0.66–1.18)	0.88 (0.65–1.18)	0.90 (0.67–1.21)
CXCL10 (pg/mL)^a				
<2352.80	1.00	1.00	1.00	1.00
2352.80–4017.96	0.99 (0.75–1.32)	1.04 (0.78–1.38)	1.04 (0.78–1.39)	1.03 (0.77–1.38)
≥ 4017.97	0.73 (0.56–0.97)	0.77 (0.58–1.03)	0.78 (0.59–1.04)	0.79 (0.59–1.06)
CCL2 (pg/mL)^a				
<30.42	1.00	1.00	1.00	1.00
30.42–50.24	0.88 (0.66–1.16)	0.86 (0.65–1.14)	0.87 (0.65–1.15)	0.91 (0.68–1.21)
≥ 50.25	0.84 (0.64–1.11)	0.84 (0.63–1.11)	0.84 (0.63–1.11)	0.89 (0.66–1.18)
CCL5 (pg/mL)^a				
7.07–643.05	1.00	1.00	1.00	1.00
643.06–1263.56	1.08 (0.82–1.43)	1.04 (0.79–1.38)	1.07 (0.80–1.41)	1.10 (0.82–1.47)
≥ 1263.57	1.11 (0.84–1.47)	1.05 (0.80–1.40)	1.08 (0.82–1.44)	1.12 (0.84–1.50)
IL-1β (pg/mL)^b				
Undetectable	1.00	1.00	1.00	1.00
>0.01	0.71 (0.54–0.93)	0.70 (0.53–0.92)	0.70 (0.53–0.92)	0.69 (0.52–0.91)
IL-6 (pg/mL)^a				
<0.66	1.00	1.00	1.00	1.00
0.66–1.70	0.73 (0.55–0.97)	0.75 (0.56–1.00)	0.75 (0.56–1.00)	0.75 (0.56–1.00)
≥ 1.71	0.69 (0.52–0.92)	0.70 (0.53–0.94)	0.68 (0.51–0.92)	0.67 (0.49–0.91)
IL-10 (pg/mL)^b				
Undetectable	1.00	1.00	1.00	1.00
>0.01	0.88 (0.70–1.11)	0.89 (0.71–1.13)	0.89 (0.71–1.13)	0.92 (0.72–1.17)
IL-12 (pg/mL)^b				
Undetectable	1.00	1.00	1.00	1.00
>0.02	0.70 (0.47–1.05)	0.68 (0.45–1.03)	0.69 (0.46–1.04)	0.67 (0.44–1.03)
TNF (pg/mL)^b				
Undetectable	1.00	1.00	1.00	1.00
>0.02	0.89 (0.66–1.20)	0.88 (0.65–1.19)	0.88 (0.65–1.19)	0.93 (0.68–1.27)
CRP (mg/L)^a				
0.16–1.88	1.00	1.00	1.00	1.00
1.89–5.16	0.82 (0.62–1.09)	0.83 (0.63–1.11)	0.82 (0.62–1.10)	0.86 (0.64–1.16)
≥ 5.17	0.81 (0.61–1.07)	0.84 (0.63–1.11)	0.83 (0.62–1.11)	0.78 (0.58–1.04)

Odds ratio and 95% confidence interval. Model 1: adjusted for sociodemographic variables; Model 2: adjusted for sociodemographic variables and health behaviors; Model 3: adjusted for sociodemographic variables, health behaviors, and health condition.

^a Categorized into tertiles.

^b Categorized into detectable and undetectable.

and 80% from 60 to 70 years of age in the world population (Kuo et al., 1995; Salih, 2009). The *H. pylori* affects more than 50% of the population worldwide and is one of the widely prevalent common chronic bacterial infections (Wang et al., 2015; Hooi et al., 2017). The prevalence of *H. pylori* is variable between 19 and 88% and depends on various factors such as geographical location, patient's age, sanitation, and socioeconomic status; and in developing countries, these numbers can be higher (Chen et al., 2014; Hooi et al., 2017; Zamani et al., 2018). This fact can be explained by the combined environmental factors in these countries, such as domestic agglomeration, inadequate eating habits, worse socioeconomic conditions, and poor hygiene, which are determinant for the installation of the infectious process because of *H. pylori* main transmission routes, oral-oral and fecal-oral (Brown, 2000).

C. pneumoniae infection causes a similar pathology in men and rodents and, therefore, murine models have been commonly used to predict immune defense mechanisms of the host. Thus, many studies have demonstrated that *C. pneumoniae* intensifies the expression of CXCL10 in the airways, causing an increased inflammation (Th-1 response) in older mice (Balogh et al., 2011). Furthermore, dendritic cells (DCs), which are important initiators and regulators of the immune responses in older adults, express an intense pro-inflammatory response after stimulation by *C. pneumoniae* with a significant increase in CXCL10, TNF, and IL-12 (Prakash et al., 2014). In the present study, intermediate and high concentrations of the chemokine CXCL10 were directly associated with the presence of infection by *C. pneumoniae*, but higher levels of TNF and IL-12 were not detected. These results might reflect the increased IL-10 levels that could regulated the inflammatory IL-1 β , IL-6, IL-12 and TNF cytokines expression (Thamphiwatana et al., 2014; Sankararaman and Moosavi, 2020). IL-10 is an anti-inflammatory cytokine, and its expression is stimulated in the presence of *C. pneumoniae*, which may in high concentrations inhibit inflammation in response to infection (Barbosa and Schinonni, 2011). It is already known that during bacterial infection, neutrophils stimulated by Toll-like receptors (TLRs) are, in fact, weak at inducing pro-inflammatory signals and, in contrast, produce large amounts of IL-10 (Zhang et al., 2009), which corroborates the results found in the present study.

Most people infected with *H. pylori* do not notice pathophysiological changes due to the absence of clinical symptoms; however, the prolonged presence of the bacteria in the gastrointestinal tract induces a chronic pro-inflammatory response in almost all infected individuals (Quintairo et al., 2020). IL-1 β and IL-6 are pro-inflammatory cytokines (He et al., 2010). There is evidence that IL-1 β is critically important for the host's immune response and its role in bacterial infection has been demonstrated by several infectious agents, including *C. pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus anthracis*, and *Mycobacterium tuberculosis* (Miller et al., 2007; Shimada et al., 2011). Thus, high concentrations of IL-1 β are expected in the presence of infection by *H. pylori*, mainly through the NLRP3 pathway, which is essential for bacterial elimination during the initial stages of the infection (Shimada et al., 2011). However, it has already been found that some viral infections can suppress the production of inflammatory cytokines by reducing oxidative stress, which agrees with the results of this study, with higher concentrations of IL-1 β being inversely associated with *H. pylori* infection (Bravo et al., 2018).

It has been evidenced that the production of IL-6 increases in the presence of infection, even with mild epithelial damage, mainly due to the NOD/Rip2 activation pathway, which is responsible for mediating the activation of the nuclear factor kappa B (NF- κ B) and stimulating the subsequent production of IL-6 (Omar et al., 2019). Moreover, experimental studies have shown that changes in the immune system in the NOD pathway with RIP2 deficiency impair the early recruitment of neutrophils and the expression of chemokines in the lungs, increasing the susceptibility to infection by *H. pylori* and other infectious agents such as *Listeria monocytogenes* (Viala et al., 2004; Shimada et al., 2009). In a cross-sectional study, Nakagawa and collaborators reported that

high levels of IL-6 were significantly associated with high levels of anti-*H. pylori* IgG antibodies, as evidenced by other similar studies (Nakagawa et al., 2013; Sinegar et al., 2014).

In *H. pylori* infection, the inverse profile of pro-inflammatory cytokines IL-1 β and IL-6 with the presence of antibodies is noteworthy, as this infection is usually associated with a type 1 or pro-inflammatory profile (Obonyo et al., 2007). Thus, a positive relationship between IL-1 β and IL-6 with anti-*H. pylori* antibodies titers would be expected. In addition to the hypotheses already raised, it is believed that as the presence of antibodies does not necessarily reflect the presence of active infection, it may be that in the group of patients with high titers of antibodies to *H. pylori* we have individuals who had a previous infection treated, and already do not present active infection (Thamphiwatana et al., 2014; Sankararaman and Moosavi, 2020). Previous studies drew attention to the impact of treatment for *H. pylori* infection in reducing the pro-inflammatory profile, as observed in treatment with linoleic acid, which has been shown to reduce levels of pro-inflammatory cytokines, including IL-1 β , IL-6 and TNF-alpha that were elevated due to *H. pylori* infection, which could also explain the results found (Thamphiwatana et al., 2014).

Furthermore, antibodies against *H. pylori* persist for an indefinite period and are not able to differentiate past and present infections (Lopes et al., 2014). Therefore, it is more difficult to diagnose chronic infections as the serological examination based only on the IgG measurement may not clearly show their presence. This is because the IgG-type antibodies has a half-life from weeks to months and, therefore, it may be found for some time after acute infection (Dowell et al., 2001). However, serological tests continue to be recommended for epidemiological studies and for screening cases of large populations in places with high prevalence rates, as places where prevalence rates are less than 30% the pre-test probability of diagnosing an infection is smaller (Chey and Wong, 2007). Nevertheless, it is necessary to invest in studies that combine other measurement methods, such as IgA antibodies levels, presence of DNA in the plasma or peripheral leukocytes in the urine in order to obtain more conclusive results.

Regarding the limitations of this study, although the cross-sectional design was adequate to this investigation, it was not possible to establish temporal relationships, and some of these associations may be the result of reverse causality. On the other hand, it is a population-based study, which used standardized procedures and trained examiners to collect information, ensuring adequate internal validity. Furthermore, this is the first study to verify the associations between *C. pneumoniae* and *H. pylori* infections with the immune profile in Latin America, and that included a wide range of biomarkers allowing the description of an immune profile associated with these infections and contributing to knowledge of this profile in an older adult population, although some mechanisms need to be clarified in future studies.

5. Conclusion

In summary, this study found a high prevalence of the two infections investigated, in addition to verifying the existence of a significant association between antibody titers for *C. pneumoniae* and *H. pylori* and some biomarkers which comprised the immunological profile of the older adult population of Bambuí. Research on immunosenescence is important for a better understanding of the mechanisms of illnesses in older adults because immunological changes directly impact the different possibilities of prevention and treatment of common diseases in aging. Therefore, these results may contribute to the epidemiology of infections among older adults, especially in developing countries where cases of infections are more frequent and severe and studies are scarce.

Funding

This work was supported by Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, Fundação de Amparo à Pesquisa do

Estado de Minas Gerais - FAPEMIG (Processo APQ-02439-15 e PPM00715-18); and Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq (Processo 403892/2016-3).

CRedit authorship contribution statement

BNP participated in the conception, design, analysis and interpretation of data, writing of the manuscript, review and approval of the final version; JVM participated in the analysis and interpretation of data, review and approval of the final version; KCLT participated in the interpretation of the results, critical review of the intellectual content and approval of the final version; OAM-F participated in the interpretation of the results, critical review of the intellectual content and approval of the final version; AT-C participated in the critical review of the intellectual content and approval of the final version; MFL-C participated in the critical review of intellectual content and approval of the final version; SVP participated in the conception, design, analysis and interpretation of data, writing of the manuscript, review and approval of the final version.

Declaration of competing interest

The authors declare no conflicts of interest.

Acknowledgments

OAM—F, AT-C, MFL-C and SVP are fellow researchers of the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq). ATC and OAMF are associated to PVN.II PRÓ-ESTADO Program (#0052019, FAPEAM).

References

- Balin, B.J., Hammond, C.J., Little, C.S., Hingley, S.T., Al-Atrache, Z., Appelt, D.M., Whittum-Hudson, J.A., Hudson, A.P., 2018. Chlamydia pneumoniae: an etiologic agent for late-onset dementia. *Front. Aging Neurosci.* 10, 1–13. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2018.00302>.
- Balogh, E.P., Faludi, I., Virók, D.A.P., Endrész, V., Burián, K., 2011. Chlamydia pneumoniae induces production of the defensin-like MIG/CXCL9, which has in vitro antichlamydia activity. *Int. J. Med. Microbiol.* 301, 252–259. <https://doi.org/10.1016/j.jmm.2010.08.020>.
- Barbosa, J.A., Schinoni, M.I., 2011. Helicobacter pylori: Associação com o câncer gástrico e novas descobertas sobre os fatores de virulência, 10, 254–262. <https://doi.org/10.9771/cmbio.v10i3.5886>.
- Black, P.N., Scicchitano, R., Jenkins, C.R., Blasi, F., Allegra, L., Włodarczyk, J., Cooper, B.C., 2000. Serological evidence of infection with chlamydia pneumoniae is related to the severity of asthma. *Eur. Respir. J.* 15, 254–259. <https://doi.org/10.1034/j.1399-3003.2000.15b06.x>.
- Bravo, D., Hoare, A., Soto, C., Valenzuela, M.A., Quest, A.F., 2018. Helicobacter pylori in human health and disease: mechanisms for local gastric and systemic effects. *World J. Gastroenterol.* 24, 3071–3089. <https://doi.org/10.3748/wjg.v24.i28.3071>.
- Brown, L.M., 2000. Helicobacter pylori: epidemiology and routes of transmission. *Epidemiol. Rev.* 22, 283–287. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.epirev.a018040>.
- Chen, H.L., Chen, M.J., Shih, S.C., Wang, H.Y., Lin, I.T., Bair, M.J., 2014. Socioeconomic status, personal habits, and prevalence of Helicobacter pylori infection in the inhabitants of Lanyu. *J. Formos. Med. Assoc.* 113, 278–283. <https://doi.org/10.1016/j.jfma.2013.11.013>.
- Chey, W.D., Wong, B.C., 2007. Practice parameters Committee of the American College of gastroenterology American College of Gastroenterology guideline on the management of Helicobacter pylori infection. *Am. J. Gastroenterol.* 102, 1808–1825. <https://doi.org/10.1111/j.1572-0241.2007.01393.x>.
- Contini, C., Grilli, A., Badia, L., Guardigni, V., Govoni, M., Seraceni, S., 2011. Detection of Chlamydia pneumoniae in patients with arthritis: significance and diagnostic value. *Rheumatol. Int.* 31, 1307–1313. <https://doi.org/10.1007/s00296-010-1460-z>.
- Dartoli, V.C.C., Veiga, R.V., Da Cunha, S.S., Pontes-de-Carvalho, L.C., Barreto, M.L., Alcântara-Neves, N.M., 2010. Seroprevalence and potential risk factors for Helicobacter pylori infection in Brazilian children. *Helicobacter* 15, 273–278. <https://doi.org/10.1111/j.1523-5378.2010.00766.x>.
- Dowell, S.F., Peeling, R.W., Boman, J., Carlone, G.M., Fields, B.S., Guarner, J., Hammerslag, M.R., Jackson, L.A., Kuo, C.C., Maass, M., Messmer, T.O., Talkington, D.F., Tondella, M.L., Zaki, S.R., 2001. Standardizing chlamydia pneumoniae assays: recommendations from the Centers for Disease Control and Prevention (USA) and the Laboratory Centre for Disease Control (Canada). *Clin. Infect. Dis.* 33, 492–503. <https://doi.org/10.1086/322632>.
- Filardo, S., Di Pietro, M., Farcomeni, A., Schiavoni, G., Sessa, R., 2015. Chlamydia pneumoniae mediated inflammation in atherosclerosis: a meta-analysis. *Mediators Inflamm* 1–9. <https://doi.org/10.1155/2015/378658>.
- Fuentes, E., Fuentes, M., Alarcón, M., Palomo, I., 2017. Immune system dysfunction in the elderly. *An. Acad. Bras. Cienc.* 89, 285–299. <https://doi.org/10.1590/0001-3765201720160487>.
- Gavazzi, G., Krause, K.H., 2002. Ageing and infection. *Lancet Infect. Dis.* 2, 659–666. [https://doi.org/10.1016/s1473-3099\(02\)00437-1](https://doi.org/10.1016/s1473-3099(02)00437-1).
- Hansbro, P.M., Beagley, K.W., Horvat, J.C., Gibson, P.G., 2004. Role of atypical bacterial infection of the lung in predisposition/protection of asthma. *Pharmacol. Ther.* 101, 193–210. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2003.10.007>.
- He, X., Mekasha, S., Mavrogiorgos, N., Fitzgerald, K.A., Lien, E., Ingalls, R.R., 2010. Inflammation and fibrosis during chlamydia pneumoniae infection is regulated by IL-1 and the NLRP3/ASC inflammasome. *J. Immunol.* 184, 5743–5754. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.0903937>.
- Hooi, J.K.Y., Lai, W.Y., Ng, W.K., Suen, M.M.Y., Underwood, F.E., Tanyingoh, D., Malfertheiner, P., Graham, D.Y., Wong, V.W.S., Wu, J.C.Y., Chan, F.K.L., Sung, J.J.Y., Kaplan, G.G., Ng, S.C., 2017. Global prevalence of Helicobacter pylori infection: systematic review and meta-analysis. *Gastroenterology* 153, 420–429. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2017.04.022>.
- Kuo, C.C., Jackson, L.A., Campbell, L.A., Grayston, J.T., 1995. Chlamydia pneumoniae (TWAR). *Clin. Microbiol. Rev.* 8, 451–461. <https://doi.org/10.1128/CMR.8.4.451-461.1995>.
- Li, L., Tan, J., Liu, L., Li, J., Chen, G., Chen, M., Xie, J., Song, Q., Huang, X., Xie, S., 2020. Association between H. pylori infection and health outcomes: an umbrella review of systematic reviews and meta-analyses. *BMJ Open* 10, e031951. <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2019-031951>.
- Lima-Costa, M.F., Firmo, J.O.A., Uchôa, E., 2011a. Cohort profile: the Bambuí (Brazil) cohort study of ageing. *Int. J. Epidemiol.* 40, 862–867. <https://doi.org/10.1093/ije/dyq143>.
- Lopes, A.L., Vale, F.F., Oleastro, M., 2014. Helicobacter pylori infection recent developments in diagnosis. *World J. Gastroenterol.* 20, 9299–9313. <https://doi.org/10.3748/wjg.v20.i28.9299>.
- Menon, R., Riera, A., Ahmad, A., 2011. A global perspective on gastrointestinal diseases. *Gastroenterol. Clin. N. Am.* 40, 427–439. <https://doi.org/10.1016/j.gtc.2011.03.002>.
- Miller, L.S., Pietras, E.M., Uricchio, L.H., Hirano, K., Rao, S., Lin, H., O'Connell, R.M., Iwakura, Y., Cheung, A.L., Cheng, G., Modlin, R.L., 2007. Inflammasome-mediated production of IL-1 β is required for neutrophil recruitment against Staphylococcus aureus in vivo. *J. Immunol.* 179, 6933–6942. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.179.10.6933>.
- Moos, R.H., Schutte, K.K., Brennan, P.L., Moos, B.S., 2009. Older adults' alcohol consumption and late-life drinking problems: a 20-year perspective. *Addiction* 104, 1293–1302. <https://doi.org/10.1111/j.1360-0443.2009.02604.x>.
- Nakagawa, H., Tamura, T., Mitsuuda, Y., Goto, Y., Kamiya, Y., Kondo, T., Wakai, K., Hamajima, N., 2013. Significant association between serum interleukin-6 and Helicobacter pylori antibody levels among H. pylori-positive Japanese adults. *Mediat. Inflamm.* <https://doi.org/10.1155/2013/142358>, 5 pages.
- Obonyo, M., Sabet, M., Cole, S.P., Ebmeyer, J., Uematsu, S., Akira, S., Guiney, D.G., 2007. Deficiencies of myeloid differentiation factor 88, Toll-like receptor 2 (TLR2), or TLR4 produce specific defects in macrophage cytokine secretion induced by Helicobacter pylori. *Infect. Immun.* 75, 2408–2414. <https://doi.org/10.1128/IAI.011794-06>.
- Omar, S.A., Hassan, M.F., Hasan, B.B., 2019. Impact of serum interleukin 6 among helicobacter pylori positive adult patients in relation to upper gastrointestinal endoscopy findings. *Suez Canal Univ. Med. J.* 21, 117–121. <https://doi.org/10.21608/SCUMJ.2019.94803>.
- Porritt, R.A., Crother, T.R., 2016. Chlamydia pneumoniae infection and inflammatory diseases. *For. Immunopathol. Dis. Therap.* 7, 237–254. <https://doi.org/10.1615/ForumImunDisTher.2017020161>.
- Prakash, S., Agrawal, S., Ma, D., Gupta, S., Peterson, E.M., Agrawal, A., 2014. Dendritic cells from aged subjects display enhanced inflammatory responses to chlamydia pneumoniae. *Mediat. Inflamm.* 2014, 1–14. <https://doi.org/10.1155/2014/436438>.
- Quintairo, M.Q., Sá, L.L., De Sousa, G.M., Frazão, H.A.A., Brito, A.P.S.O., Garcia, H.C.R., 2020. Doenças relacionadas a infecção pelo helicobacter pylori: Revisão Sistemática. *Res. Med. J.* 4, 1–6. <https://doi.org/10.4322/rpmj.2019.030>.
- Ramalho, J.R.O., Lima-Costa, M.F., Firmo, J.O.A., Peixoto, S.V., 2011. Energy expenditure through physical activity in a population of community-dwelling Brazilian elderly: cross sectional evidences from the Bambuí cohort study of aging. *Cad. Saúde Pública.* 27, S399–S408. <https://doi.org/10.1590/S0102-311X2011001500010>.
- Salih, B.A., 2009. Helicobacter pylori infection in developing countries: the burden for how long? *Saudi J. Gastroenterol.* 15, 201–207. <https://doi.org/10.4103/1319-3767.54743>.
- Sankararaman, S., Moosavi, L., 2020. Urea Breath Test. *StatPearls [web]*.
- Shikata, K., Doi, Y., Yonemoto, K., Arima, H., Ninomiya, T., Kubo, M., Tanizaki, Y., Matsumoto, T., Lida, M., Kiyohara, Y., 2008. Population-based prospective study of the combined influence of cigarette smoking and helicobacter pylori infection on gastric cancer incidence: the Hisayama study. *Am. J. Epidemiol.* 168, 1409–1415. <https://doi.org/10.1093/aje/kwn276>.
- Shimada, K., Crother, T.R., Karlin, J., Chen, S., Chiba, N., Ramanujan, V.K., Vergnes, L., Ojcius, D.M., Arditi, M., 2011. Caspase-1 dependent IL-1 β secretion is critical for host defense in a mouse model of Chlamydia pneumoniae lung infection. *PLoS ONE* 6, e21477. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0021477>.
- Shimada et al., n.d. Shimada, K., Chen, S., Dempsey, P.W., Sorrentino, R., Alsabeh, R., Slepkin, A.V., Peterson, E., Doherty, T.M., Underhill, D., Crother, T.R., Arditi, M.

- The NOD/RIP2 Pathway Is Essential for Host Defenses Against *Chlamydomytila pneumoniae* Lung Infection. *PLoS Pathog.* 5, e1000379. doi:10.1371/journal.ppat.1000379.
- Siregar, G.A., Halim, S., Sitepu, R.R., 2014. Comparison of IL-6, IL-8 concentrations in H. pylori- and non-H. pylori-associated gastritis. *Indones. Biomed. J.* 6, 163–166. <https://doi.org/10.18585/inabj.v6i3.29>.
- Thamphiwatana, S., Gao, W., Obonyo, M., Zhanga, L., 2014. In vivo treatment of helicobacter pylori infection with liposomal linolenic acid reduces colonization and ameliorates inflammation. *PNAS* 111, 17600–17605. <https://doi.org/10.1073/pnas.1418230111>.
- Viala, J., Chaput, C., Boneca, I.G., Cardona, A., Girardin, S.E., Moran, A.P., Athman, R., Mémet, S., Huerre, M.R., Coyle, A.J., et al., 2004. Nod1 responds to peptidoglycan delivered by the *Helicobacter pylori* cag pathogenicity island. *Nat Immunol.* 5, 1166–1174. <https://doi.org/10.1038/ni1131>.
- Wang, Y.K., Kuo, F.C., Liu, C.J., Wu, M.C., Shih, H.Y., Wang, S.S., Wu, J.Y., Kuo, C.H., Huang, Y.K., Wu, D.C., 2015. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection: current options and developments. *World J. Gastroenterol.* 21, 11221–11235. <https://doi.org/10.3748/wjg.v21.i40.11221>.
- Wick, G., Jansen-Durr, P., Berger, P., Blasko, I., Grubeck-Loebenstien, B., 2000. Diseases of aging. *Vaccine* 18, 1567. [https://doi.org/10.1016/s0264-410x\(99\)00489-2](https://doi.org/10.1016/s0264-410x(99)00489-2).
- Yoshikawa, T.T., 1997. Perspective: aging and infectious diseases: past, present, and future. *J. Infect. Dis.* 176, 1053–1057. <https://doi.org/10.1086/516347>.
- Zamani, M., Ebrahimitabar, F., Zamani, V., Miller, W.H., Alizadeh-Navaei, R., Shokri-Shirvani, J., Derakhshan, M.H., 2018. Systematic review with meta-analysis: the worldwide prevalence of *Helicobacter pylori* infection. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 47, 868–876. <https://doi.org/10.1111/apt.14561>.
- Zhan, P., Suo, L.J., Qian, Q., Shen, X.K., Qiu, L.X., Yu, L.K., Song, Y., 2011. *Chlamydia pneumoniae* infection and lung cancer risk: a meta-analysis. *Eur. J. Cancer* 47, 742–747. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2010.11.003>.
- Zhang, X., Majlessi, L., Deriaud, E., Leclerc, C., Lo-Man, R., 2009. Coactivation of syk kinase and MyD88 adaptor protein pathways by bacteria promotes regulatory properties of neutrophils. *Immunity* 31, 761–771. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2009.09.016>.

6. CONCLUSÃO

Este estudo encontrou elevadas taxas de prevalência para todas as infecções investigadas (CMV, HSV-1, *C. pneumoniae* e *H. pylori*) na população de idosos participantes da análise, contribuindo para o conhecimento da epidemiologia dessas infecções entre idosos brasileiros. Além disso, maiores níveis de CXCL8 e CCL5 estiveram inversamente associados à maior concentração de anticorpos para CMV, enquanto maiores níveis de CXCL9, IL-6 e PCR e níveis intermediários de CXCL10 estiveram associados a maiores chances de elevada concentração de anticorpos para a infecção pelo CMV. Em relação ao HSV-1, níveis intermediários para CCL5, CXCL9 e IL-6 foram inversamente associados à maior titulação de anticorpos para esse patógeno, ao passo que maiores níveis de CXCL10 e PCR foram associados a maior chance de apresentar níveis elevados de anticorpos para HSV-1. Por fim, a coinfeção foi observada em 26,8% dos participantes e esteve significativamente associada a maiores níveis de PCR. Em vista disso, ressalta-se que os participantes soropositivos para as infecções virais demonstraram uma resposta inflamatória persistente, como evidenciado pelos níveis elevados de PCR (biomarcador inflamatório) em todas as infecções investigadas, incluindo a coinfeção.

Em relação às infecções bacterianas, a infecção por *C. pneumoniae* foi significativamente associada a maiores valores de CXCL10 e de IL-10, enquanto a presença de anticorpos para *H. pylori* foi significativamente associada a menores valores de IL-1 β e IL-6. Nossos resultados chamam atenção para o perfil inverso das citocinas pró-inflamatórias, IL-1 e IL-6, com anticorpos para *H. pylori*, visto que essa infecção geralmente está associada a um padrão de resposta tipo 1 e, dessa forma, era esperada uma associação positiva.

Este estudo alerta para necessidade de redobrar o cuidado com a população idosa que encontra-se mais inflamada nessa etapa da vida e enfrentando os efeitos do envelhecimento do sistema imunológico, ou seja, com a reorganização dos mecanismos de defesa do organismo. Portanto, os idosos estão ainda mais vulneráveis às infecções crônicas e aos efeitos deletérios dos seus constantes ciclos de reativação.

No que se refere às limitações deste estudo, embora o desenho transversal tenha sido adequado à investigação dos objetivos propostos (estimar a prevalência das infecções e identificar os biomarcadores associados a elas), não foi possível estabelecer relações temporais, podendo algumas dessas associações serem resultado de causalidade reversa. Assim, a temporalidade ainda precisa ser investigada em estudos com outros desenhos metodológicos. Por outro lado, trata-se de um estudo de base populacional, que utilizou de procedimentos padronizados e examinadores treinados para a coleta das informações para assegurar sua

validade interna. Além disso, ressalta-se que o uso do CART neste estudo pode ter favorecido o encontro de associações até então desconhecidas, pois ele permitiu a divisão da população com base nos níveis de anticorpos para as infecções, ao contrário do uso de percentis ou outros critérios semelhantes para a categorização dos biomarcadores. Dessa forma, a análise evidenciou os pontos de corte (CART) que melhor discriminaram a associação entre infecções crônicas e uma ampla variedade de biomarcadores imunológicos, incluindo fatores de confusão, que permitem avançar no conhecimento já produzido sobre o tema.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este estudo verificou a existência de uma associação significativa entre a presença de infecções crônicas por CMV, HSV-1, *C. pneumoniae*, *H. pylori* e perfis imunológicos relacionados principalmente a biomarcadores inflamatórios. As características imunológicas verificadas podem prever, pelo menos em parte, o impacto das infecções crônicas no processo de imunossenescência.

A busca pela caracterização de um perfil imunológico frente à infecção é fundamental para prevenir a ocorrência de eventos adversos à saúde associados às alterações no repertório imunológico, como possíveis falhas à resposta vacinal, ao agravamento e aumento da suscetibilidade às infecções e o desenvolvimento de doenças inflamatórias (DCV, diabetes *mellitus*, úlcera péptica crônica, etc). Chama atenção para o impacto da inflamação no desenvolvimento de DCV, principal causa de mortalidade no Brasil e no mundo e importante evento de saúde entre os idosos. Portanto, faz-se necessário manter uma vigilância imunológica ativa para acompanhar as alterações que têm impacto no processo de imunossenescência e, conseqüentemente, na qualidade de vida dos idosos.

Nossos resultados sugerem que há mudanças mensuráveis nos níveis de biomarcadores associados às infecções crônicas, bem como diferenças na composição dos perfis imunológicos em função da natureza da infecção. No entanto, os dados do presente estudo devem ser interpretados dentro de suas limitações. Apesar da grande relevância em estudos imunogerontológicos sobre o papel das infecções e biomarcadores imunológicos na imunossenescência, além de suas conseqüências na saúde dos indivíduos, ainda é necessário estabelecer critérios para a determinação de perfis imunológicos entre idosos, sobretudo para a identificação de perfis imunológicos de risco.

As citocinas e quimiocinas são mediadores com funções variadas dependendo da sua concentração e, principalmente, do contexto onde elas atuam. Portanto, sugerimos que outros estudos sejam realizados para investigar essas associações à nível celular, como as alterações imunológicas linfocitárias, uma vez que a determinação de um perfil imunológico não consiste na análise isolada de um único parâmetro, mas sim da análise em conjunto de diferentes indicadores imunológicos.

Trata-se de assunto relativamente novo e faz-se necessário o investimento contínuo em trabalhos que possam esclarecer outros questionamentos, como a padronização de parâmetros mensuráveis, a combinação de biomarcadores do envelhecimento biológico, processos de reativação do agente infeccioso, melhor critério para determinação de infecção crônica e compreender como a carga de patógenos impacta na caracterização do perfil imunológico.

Além disso, devido às limitações inerentes ao estudo transversal, sugere-se que estudos longitudinais possam ser realizados para conceber melhor o desfecho entre idosos.

Por fim, sabe-se que a combinação de maior consciência sobre as condições de saúde dos indivíduos, políticas públicas e legislações eficazes é necessária para garantir que as pessoas envelheçam com dignidade e qualidade de vida, sobretudo em um país cujo envelhecimento populacional ocorre de maneira acelerada e enfrenta o desafio de uma crise política, social e econômica.

REFERÊNCIAS

ABECASSIS, M.M.; HUMEL, M. A model for reactivation of CMV from latency. **J Clin Virol**, v.25, p.123-36, 2002.

ADEMOKUN, A.; WU, Y.C.; DUNN-WALTERS, D. The ageing B cell population: Composition and function. **Biogerontology**, v.11, p.125-37, 2010.

AIELLO, A.E.; HAAN, M.; BLYTHE, L. et al. The influence of latent viral infection on rate of cognitive decline over 4 years. **J Am Geriatr Soc**, v.54, n.7, p.1046-1054, 2006.

AKIRA, S.; UEMATSU, S.; TAKEUCHI, O. Pathogen Recognition and Innate Immunity. **Cell**, v.124, n.4, p.783-801, 2006.

ALDOUS, M.B.; GRAYSTON, J.T.; WANG, S.P.; FOY, H.M. Seroepidemiology of Chlamydia pneumoniae TWAR infection in Seattle families, 1966-1979. **J Infect Dis**, v.166, p.646-9, 1992.

ALMANZAR, G.; SCHWAIGER, S.; JENEWEIN, B.; KELLER, M.; HERNDLER-BRANDSTETTER, D.; WÜRZNER, R. et al. Long-term cytomegalovirus infection leads to significant changes in the composition of the CD8⁺ T-cell repertoire, which may be the basis for an imbalance in the cytokine production profile in the elderly persons. **J Virology**, v.79, p.3675-83, 2005.

AMIR, J.; HAREL, L.; SMETANA, Z.; VARSANO, I. The natural history of primary herpes simplex type 1 gingivostomatitis in children. **Pediatric Dermatology**, v.16, n.4, p.259-263, 1999.

ASSY, N.; GEFEN, H.; SCHLESINGER, S. et al. Reactivation versus primary CMV infection after splenectomy in immunocompetent patients. **Dig Dis Sci**, v.52, p.3477-3479, 2007.

ATAMAN, S.; COLAK, D.; GUNSEREN, F. et al. Investigation of cytomegalovirus seroepidemiology in Antalya with a population-based cross-sectional study and review of related data in Turkey. **Mikrobiyol Bul**, v.41, p.545-555, 2007.

AYRE, K.; WARREN, B.F.; JEFFERY, K.; TRAVIS, S.P. The role of CMV in steroid-resistant ulcerative colitis: a systematic review. **J Crohns Colitis**, v.3, n.3, p.141-8, 2009.

AZEVEDO, P.F.; SOUZA, A.S.R.; NETO, C.N.; LIMA, M.M.S. et al. Citomegalovirose congênita: relato de caso. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v.27, n.12, p.750-8, 2005.

BARBI, M.; BINDA, S.; CAROPPO, S. Diagnosis of congenital CMV infection via dried blood spots. **Rev Med Virol**, v.16, n.385-392, 2006.

BARKER, D.J. The developmental origins of chronic adult disease. **Acta Paediatrica Supplement**, v.93, p.26-33, 2004.

BARRETO-FILHO, J.A.S. Síndrome metabólica: um estado pró-trombótico. **Rev Soc Cardiol Estado de São Paulo**, v.14, n.4, p.590-5, 2004.

BATISTA, A.S.; JACCOUD, L.B.; AQUINO, L.; EL-MOOR, P.D. Envelhecimento e dependência: desafios para a organização da proteção social. **Coleção Previdência Social**, v.28, 2008.

BAYRAM, A.; ERDOĞAN, M.B.; EKŞİ, F.; YAMAK, B. Demonstration of Chlamydia pneumoniae, Mycoplasma pneumoniae, Cytomegalovirus, and Epstein-Barr virus in atherosclerotic coronary arteries, nonrheumatic calcific aortic and rheumatic stenotic mitral valves by polymerase chain reaction. **Anadolu Kardiyol Derg**, v.11, n.3, p.237-43, 2011.

BLACK, M.C. Current methods of laboratory diagnosis of Chlamydia trachomatis infections. **Clin. Microbiol. Rev.**, v.10, n.1, p.160-84, 1997.

BENNETT, J.E.; DOLIND, R.; BLASER, M.J. Principles and practice of infectious diseases. 8th ed, v.1, Philadelphia: **Elsevier Saunders**, 2015. Acesso em: 18 de abril de 2019.

BERNERSEN, B.; JOHNSEN, R.; BOSTAD, L.; STRAUME, B.; SOMMER, A.; BURHOL, P. Is Helicobacter pylori the cause of dyspepsia? **BMJ**, v.304, p.1276-9, 1992.

BESTE, L.M.J., TAKWOINGI, Y.; SIDDIQUE, S.; SELLADURAI, A. et al. Non-invasive diagnostic tests for Helicobacter pylori infection. **Cochrane Database Syst Rev**, v.3, n.3, 2018.

BEVILACQUA, M.P.; SCHLEEF, R.R.; GIMBRONE, M.A.; LOSKUTOFF, D.J. Regulation of the fibrinolytic system of cultured human vascular endothelium by interleukin 1. **J Clin Invest**, v.78, n.2, p.587-91, 1986.

BIRON, C.A.; BROSSAY, L. NK cells and NKT cells in innate defense against viral infections. **Current Opinion in Immunology**, v.13, p. 458-464, 2001.

BIONDA, M.; KAPOGLOU, I.; WIEST, R.H. pylori-associated gastritis: diagnostic, treatment and surveillance. **Ther Umsch**, v.77, n.4, p.127-131, 2020.

BOBRY SHEV, Y.V.; LORD, R.S.; TRAN, D. Chlamydia pneumoniae in foci of “early” calcification of the tunica media in arteriosclerotic arteries: an incidental presence? **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, v.290, n.4, p.1510-9, 2006.

BOSETTI, C.; MALVEZZI, M.; CHATENOU, L.; NEGRI, E.; LEVI, F.; LA VECCHIA, C. Trends in cancer mortality in the Americas, 1970-2000. **Ann Oncol**, v.16, n.3, p.489-511, 2005.

BOSETTI, C.; RODRÍGUEZ, T.; CHATENOU, L.; BERTUCCIO, P.; LEVI, F.; NEGRI, E. et al. Trends in cancer mortality in Mexico, 1981-2007. **Eur J Cancer Prev**, v.20, n.5, p.355-63, 2011.

BRASIL, 2007b. Portal da saúde – www.saude.gov.br – Saúde do Idoso. Ministério da Saúde. Acesso em: 10 de abril de 2019.

BRASIL, 2007c. www.saudeidoso.iciict.fiocruz.br/index.pH.pylori?pag.polit. Ministério da Saúde 2007. Acesso em: 15 de junho de 2019.

BRASIL. Ministério da Saúde. Doenças Infecciosas e parasitárias. Guia de bolso. 8ª edição. Brasília: Ministério da Saúde; 2010. Acesso em: 15 de janeiro de 2020.

BRASIL. Ministério da Saúde; Secretaria de Atenção à Saúde; Departamento de Atenção Básica. Envelhecimento e saúde da pessoa idosa. Cadernos de Atenção Básica, n. 19. Brasília; 2006. Acesso em: 6 de maio de 2019.

BRASIL. Ministério da Saúde; Secretaria de Atenção à Saúde; Departamento de Atenção Básica. Envelhecimento e saúde da pessoa idosa. Cadernos de Atenção Básica, n.19. Brasília; 2006. Acesso em: 12 de fevereiro de 2019.

BREIMAN, L.; FRIEDMAN, J.H.; OLSHEN, R.A.; STONE, C.J. Classification and Regression Trees. **CRC Press**, 1984.

BROBERG, E.K.; HUKKANEN, V. Immune response to herpes simplex virus and γ 134. 5 deleted HSV vectors. **Current Gene Therapy**, v.5, n.5, p.523-530, 2005.

BROWN, L.M. Helicobacter pylori: Epidemiology and Routes of Transmission. **Epidemiol Re**, v.22, p.283-287, 2000.

BROWNLEE, J. Classification and Regression Trees for Machine Learning. <https://machinelearningmastery.com/classification-and-regression-trees-for-machine-learning/>. 2016. Acesso em: 10 de agosto de 2019.

BUI, D.; BROWN, H.E.; HARRIS, R.B.; OREN, E. Serologic evidence for fecal–oral transmission of H. pylori. **Am J Trop Med Hyg**, v.94, n.1, p.82-8, 2016.

BURNY, W.; LIESNARD, C.; DONNER, C.; MARCHANT, A. Epidemiology, pathogenesis and prevention of congenital cytomegalovirus infection. **Expert Rev Anti Infect Ther**, v.2, n.6, p.881-94, 2004.

BURUCOA, C.; AXON, A. Epidemiology of Helicobacter pylori infection. **Helicobacter**, v.22, n.1, p.12403-7, 2017.

BUSTAMANTE-TEIXEIRA, M.T.; FAERSTEIN, E.; MARIOTTO, A.; DE BRITTO, A.V.; MOREIRA FILHO, D.C.; LATORRE, M.R.D.O. Survival in gastric cancer patients in Campinas, São Paulo, Brazil. **Cad Saude Publica**, v.22, n.8, p.1611-8, 2006.

CALVET, X.; LARIO, S.; RAMÍREZ-LÁZARO, M.J.; MONTSERRAT, A.; QUESADA, M.; REEVES, L. et al. Accuracy of monoclonal stool tests for determining cure of H. pylori infection after treatment. **Helicobacter**, v.15, n.3, p.201-5, 2010.

CAMPBELL, L.A.; KUO, C.C. Chlamydia pneumoniae: an infectious risk factor for atherosclerosis? **Nat Rev Microbiol**, v.2, n.1, p.23-32, 2004.

CAMPBELL, L.A.; ROSENFELD, M.E. Infection and atherosclerosis development. **Arch Med Res**, v.46, p.339–350, 2015.

- CANNON, M.J.; SCHMID, D.S.; HYDE, T.B. Review of cytomegalovirus seroprevalence and demographic characteristics associated with infection. **Reviews in Medical Virology**, v.20, n.4, p.202-213, 2010.
- CARVALHO, A.L.D.; ANCHIETA, L.M.; ROMANELLI, R.M.C. Infecções congênitas por herpes-vírus. **Revista Médica de Minas Gerais**, v.24, n.2, p. 223-232, 2014.
- CASTLE, S.C. Clinical Relevance of Age-Related Immune Dysfunction. **Clin Inf Dis**, v.31, n.2, p.578-85, 2000.
- CAVE, D.R. How is Helicobacter pylori transmitted? **Gastroenterology**, v.133, n.6, p.9-14, 1997.
- CDC. Centers for disease control and prevention. Chlamydia pneumoniae Infection. 2016. Acesso em: 6 de fevereiro de 2020.
- CHATENOUD, L.; BERTUCCIO, P.; BOSETTI, C.; LEVI, F.; CURADO, M.P.; MALVEZZI, M. et al. Trends in cancer mortality in Brazil, 1980-2004. **Eur J Cancer Prev**, v.19, n.2, p.79-86, 2010.
- CHATZIDIMITRIOU, D.; KIRMIZIS, D.; GAVRILLAKI, E. et al. Atherosclerosis and infection: is the jury still not in? **Future Microbiol**, v.7, n.10, p.1217-1230, 2012.
- COELHO, L.G.V.; MARINHO, J.R.; GENTA, R. et al. IVth Brazilian Consensus Conference on Helicobacter pylori infection. *Arq. Gastroenterol*, pii: S0004 28032018005001101, 2018.
- COHEN, M.S. Classical sexually transmitted diseases drive the spread of HIV-1: back to the future. **J Infect Dis**, v.206, n.1, p.1-2, 2012.
- COMŞA, S.; CEAUŞU, R.A.; POPESCU, R.; CÎMPEAN, A.M.; RAICA, M. The Human Mesenchymal Stem Cells and the Chick Embryo Chorioallantoic Membrane: The Key and the Lock in Revealing Vasculogenesis. **In Vivo**, v.31, n.6, p.1139-1144, 2017.
- COMFORT, A. The myth of senility. Diagnosing nonspecific major illness in the elderly. **Postgrad Med**, v.65, n.3, p.130-42, 1979.
- CORREA, P.; PIAZUELO, M.B. Natural history of H. pylori infection. **Dig Liver Dis**, v.40, n.7, p.490-6, 2008.
- COSTA CLEMENS, S.A.; FARHAT, C.K. Soroprevalência de anticorpos contra vírus herpes simples 1-2 no Brasil. **Rev Saúde Pública**, v.44, n.4, p.726-34, 2010.
- CRABTREE, J.E.; SHALLCROSS, T.M.; HEATLEY, R.V.; WYATT, J.I. Mucosal tumour necrosis factor alpha and interleukin-6 in patients with Helicobacter pylori associated gastritis. **Gut**, v.32, p.1473-1477, 1991.
- CRAIG, J.M.; MACAULEY, J.C.; WELLER, T.H.; WIRTH, P. Isolation of intranuclear inclusion producing agents from infants with illnesses resembling cytomegalic inclusion disease. **Proc Soc Exp Biol Med**, v.94, n.1, p.4-12, 1957.

CRISCUOLI, V.; RIZZUTO, M.R.; COTTONE, M. Cytomegalovirus and inflammatory bowel disease: is there a link? **World J Gastroenterol**, v.12, n.30, p.4813-8, 2006.

CROUGH, T.; KHANNA, R. Immunobiology of human cytomegalovirus: from bench to bedside. **Clin Microbiol Ver**, v.22, n.1, p.76-98, 2009.

CRUMPACKER, C.S. Invited commentary: human cytomegalovirus, inflammation, cardiovascular disease, and mortality. **Am J Epidemiol**, v.172, n.4, p.372-4, 2010.

CULLEN, D.J.E.; COLLINS, B.J.; CHRISTIANSEN, K.J.; EPIS, J.; WARREN, J.R.; SURVEYOR, I.; CULLEN, K.J. When is *Helicobacter pylori* infection acquired? **Gut**, v.34, n.12, p.1681-2, 1993.

CUNHA, B.A. The atypical pneumonias: clinical diagnosis and importance. **Clinical Microbiology and Infection**, v.12, n.1.3, p.12-24, 2006.

CURNS, A.T.; HOLMAN, R.C.; SEJVAR, J.J.; OWINGS, M.F.; SCHONBERGER, L.B. Infectious disease hospitalizations among older adults in the United States from 1990 through 2002. **Arch Intern Med**, v.165, n.21, p.2514-20, 2005.

DA SILVA-ETTO, J.M.K.; MATTAR, R.; VILLARES-LOPES, C.A.; MARQUES, S.B.; CARRILHO, F.J. Evaluation of diagnostic accuracy of two rapid stool antigen tests using an immunochromatographic assay to detect *H. pylori*. **Clin Biochem**, v.50, n.16-17, p.959-62, 2017.

DE MARTEL, C.; FERLAY, J.; FRANCESCHI, S.; VIGNAT, J. et al. Global burden of cancers attributable to infections in 2008: a review and synthetic analysis. **The Lancet Oncology**, v.13, n.6, p.607-615, 2012.

DE MARTINIS, M.; FRANCESCHI, C.; MONTI, D.; GINALDI, L. Inflammation markers predicting frailty and mortality in the elderly. **Exp Mol Pathol**, v.80, n.3, p.219-227, 2006.

D'ELIOS, M.M.; MANGHETTI, M.; ALMERIGOGNA, F.; AMEDEI, A.; COSTA, F. et al. Different cytokine profile and antigen-specificity repertoire in *Helicobacter pylori*-specific T cell clones from the antrum of chronic gastritis patients with or without peptic ulcer. **Eur J Immunol**, v.27, n.7, p.1751-1755, 1997.

DEMMLER, G.J.; BUFFONE, G.J.; SCHIMBOR, C.M.; MAY, R.A. Detection of cytomegalovirus in urine from newborns by using polymerase chain reaction DNA amplification. **J Infect Dis**, v.158, n.6, p.1177-84, 1988.

DIOVERTI, M.V.; RAZONABLE, R.R. Cytomegalovirus. **Diagnostic Microbiology of the Immunocompromised Host, Second Edition**, v.4, n.4, p.97-125, 2016.

DOWELL, S.F.; PEELING, R.W.; BOMAN, J.; CARLONE, G.M.; FIELDS, B.S. et al. Standardizing *Chlamydia pneumoniae* assays: recommendations from the Centers for Disease Control and Prevention (USA) and the Laboratory Centre for Disease Control (Canada). **Clin Infect Dis**, v.33, n.4, p.492-503, 2001.

DWYER, R.S.; TREHARNE, J.D.; JONES, B.R.; HERRING, J. Chlamydial infection. Results of micro-immunofluorescence test for detection of typ-specific antibody in certain chlamydial infections. **Br J Vener Dis**, v.48, n.6, p.452-459, 1972.

ECKMANN, L. Sensor molecules in intestinal innate immunity against bacterial infections. **Curr Opin Gastroenterol**, v.22, n.2, p. 95-101, 2006.

ELWELL, C.; MIRRASHIDI, K.; ENGEL, J. Chlamydia cell biology and pathogenesis. **Nat Rev Microbiol**, v.14, n.6, p.385-400, 2016.

EPSTEIN, S.E. The Multiple Mechanisms by Which Infection May Contribute to Atherosclerosis Development and Cause. **Circulation Research**, v.90, n.1, p.2-4, 2002.

ERICE, A.; TIERNEY, C.; HIRSCH, M.; CALIENDO, A.M.; WEINBERG, A.; KENDALL, M.A.; POLSKY, B. AIDS Clinical Trials Group Protocol 360 Study Team. Cytomegalovirus (CMV) and human immunodeficiency virus (HIV) burden, CMV end-organ disease, and survival in subjects with advanced HIV infection (AIDS Clinical Trials Group Protocol 360). **Clin Infect Dis**, v.37, p.567-578, 2003.

ESCOBAR, M.R.; ALLISON, M.J.; DALTON, H.P. Etiology and laboratory diagnosis of infectious mononucleosis: II. Cytomegalovirus (CMV) mononucleosis. **Va Med Mon** (1918), v.97, p.191-192, 1970.

ESQUENAZI, D.A. Imunossenescência: As Alterações do Sistema Imunológico Provocadas pelo Envelhecimento. *Revista do Hospital Universitário Pedro Ernesto, UERJ*, 2008.

EUSEBI, LH.; ZAGARI, R.M.; BAZZOLI, F. Epidemiology of Helicobacter pylori Infection. **Helicobacter**, v.19, n.1, p.1-5, 2014.

EWERS, I.; RIZZO, L.V.; KALIL FILHO, J. Imunologia e envelhecimento. **Einstein**, v.6, n.1, p.13-20, 2008.

FAN, X-G.; CHUA, A.; FAN, X-J.; KEELING, P.W.N. Increased gastric production of interleukin-8 and tumor necrosis factor in patients with Helicobacter pylori infection. **J Clin Pathol**, v.48, p.133-136, 1995.

FALSEY, A.R.; WALSH, E.E. Transmission of Chlamydia pneumoniae. **J Infect Dis**, v.168, n.2. p.493-6, 1993.

FASHNER, J.; GITU, A.C. Diagnosis and Treatment of Peptic Ulcer Disease and H. pylori Infection. **Am Fam Physician**, v.91, n.4, p.236-42, 2015.

FEIN, A.M. Pneumonia in the elderly: overview of diagnostic and therapeutic approaches. **Clin Infect Dis**, v.28, n.4, p.726-29, 1999.

FERLAY, J.; SOERJOMATARAM, I.; DIKSHIT, R.; ESER, S. et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. **Int J Cancer**, v.136, n.5, p.359-86, 2015.

FERRUCCI, L.; CORSI, A.; LAURETANI, F.; BANDINELLI, S.; BARTALI, B.; TAUB, D.D.; GURALNIK, J.M.; LONGO, D.L. The origins of age-related proinflammatory state. **Blood**, v.105, n.6, p.2294-2299, 2005.

FONSECA, C.G.; GOUVÊA, T.V.D.; ZAJDENVERG, R.; PASSOS, M.R.L. Citomegalovírus. **DST – J. Bras. Doenças Sex. Transm**, v.6, n.1, p.10-16, 1994.

GALIATSATOS, P.; SHRIER, I.; LAMOUREUX, E.; SZILAGYI, A. Meta-analysis of outcome of cytomegalovirus colitis in immunocompetent hosts. **Dig Dis Sci**, v.50, n.4, p.609-16, 2005.

GALLANT, J.E.; MOORE, R.D.; RICHMAN, D.D.; KERULY, J.; CHAISSON, R.E. Incidence and natural history of cytomegalovirus disease in patients with advanced human immunodeficiency virus disease treated with zidovudine. The Zidovudine Epidemiology Study Group. **J Infect Dis**, v.166, p.1223-1227, 1992.

GAVAZZI, G; KRAUSE, K. Ageing and infection. **The Lancet**, v.2, n.11, p.659-66, 2002.

GAYDOS, C.A.; SUMMERSGILL, J.T.; SAHNEY, N.N.; RAMIREZ, J.A.; QUINN, T.C. Replication of Chlamydia pneumoniae in vitro in human macrophages, endothelial cells, and aortic artery smooth muscle cells. **Infect Immun**, v.64, n.5, p.1614-20, 1996.

GILL, E.A.; MCINTYRE, T.M.; PRESCOTT, S.M.; ZIMMERMAN, G.A. Mechanisms of vascular injury in the pathogenesis of infectious disease. **Curr Opin Infect Dis**, v.5, p.381-88, 1992.

GISBERT, J.P.; DE LA, M.F.; ABRAIRA, V. Accuracy of monoclonal stool antigen test for the diagnosis of H. pylori infection: a systematic review and meta-analysis. **American Journal of Gastroenterology**, v.101, n.8, p.1921-30, 2006.

GISBERT, J.P.; PAJARES, J.M. Stool antigen test for the diagnosis of H. pylori infection: A systematic review. **Helicobacter**, v.9, n.4, p.347-68, 2004.

GOTTLIEB, M.V.; SCHWANKE, C.A.; GOMES, I.; CRUZ, I.M. Envelhecimento e Longevidade no Rio Grande do Sul: um perfil histórico, étnico e de morbi-mortalidade dos idosos. **Rev. Bras. Geriatr. Gerontol**, v.14, n.2, p.365-380, 2011.

GRAHAM, D.Y.; KLEIN, P.D.; EVANS, D.J.; EVANS, D.G.; ALPERT, L.C.; OPEKUN, A.R.; BOUTTON, T.W. Campylobacter pylori detected noninvasively by the 13C-urea breath test. **Lancet**, v.329, n. 8543, p.1174-1177, 1987.

GRAHAM, D. Tratado de Medicina Interna. São Paulo, **Saunders Elsevier**, 2005.

GRAYSTON, J.T. Chlamydia pneumoniae, strain TWAR pneumonia. **Annu Rev Med**, v.43, p.317-23, 1992.

GRAYSTON, J.T. Background and current knowledge of Chlamydia pneumoniae and atherosclerosis. **J. Infect. Dis.**, v.181, p.S402-S410, 2000.

GRAYSTON, J.T.; ALDOUS, M.B.; EASTON, A.; WANG, S-P. et al. Evidence that Chlamydia pneumoniae Causes Pneumonia and Bronchitis. **Journal of Infectious Diseases**, v.168, n.5, p.1231-1235, 1993.

GRAYSTON, J.T.; CAMPBELL, L.A.; KUO, C-C.; MORDHORST, C.H.; SAIKKU, P.; THOM, D.H. A new respiratory tract pathogen: Chlamydia pneumoniae, strain TWAR. **J Infect Dis**, v.161, n.4, p.618-25, 1990.

GRAYSTON, J.T.; KUO, C.C.; WANG, S.P.; ALTMAN, J. A new Chlamydia psittaci strain, TWAR, isolated in acute respiratory tract infections. **N Engl J Med**, v.315, n.3, p.161-8, 1986.

GRAYSTON, J.T.; MORDHORST, C.; BRUU, A.L.; VENE, S.; WANG, S.P. Countrywide Epidemics of Chlamydia pneumoniae, Strain TWAR, in Scandinavia, 1981-1983. **The Journal of Infectious Diseases**, v.159, n.6, p.1111-1114, 1989.

GRIFFITHS, P.D.; WALTER, S. Cytomegalovirus. **Curr Opin Infect Dis**, v.18, n.3, p.241-5, 2005.

GRIFFITHS, P.D.; BABOONIAN, C. Intra-uterine transmission of cytomegalovirus in women known to be immune before conception. **J Hyg**, v.92, n.1, p.89-95, 1984.

HAESEKER, M.B.; PIJERS, E.; DUKERS-MUIJERS, N.H.T.M. et al. Association of cytomegalovirus and other pathogens with frailty and diabetes mellitus, but not with cardiovascular disease and mortality in psycho-geriatric patients; a prospective cohort study. **Immunity & Ageing**, v.10, n.1, p.30, 2013.

HAMMERSCHLAG, M.A.; KUMAR, S. Chlamydial Infections. **Pediatric Respiratory Medicine (Second Edition)**, p.621-626, 2008.

HECKER, M.; QIU, D.; MARQUARDT, K. et al. Continuous cytomegalovirus seroconversion in a large group of healthy blood donors. **Vox Sang**, v.86, n.1, p.41-44, 2004.

HIDA, N.; SHIMOYAMA, T.; NEVILLE, P.; DIXON, M.F. et al. Increased expression of IL-10 and IL-12 (p40) mRNA in Helicobacter pylori infected gastric mucosa: relation to bacterial cag status and peptic ulceration. **J Clin Pathol**, v.52, n.9, p. 658-664, 1999.

HOLCK S.; NØRGAARD, A.; BENNEDSEN, M.; PERMIN, H. et al. Gastric mucosal cytokine responses in Helicobacter pylori-infected patients with gastritis and peptic ulcers. Association with inflammatory parameters and bacteria load. **FEMS Immunol Med Microbiol**, v.36, n.3, p.175-80, 2003.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Pesquisa Nacional por Amostra de Domicílios Contínua - Características dos Moradores e Domicílios, Brasil, 2018. Acesso em: 20 de dezembro de 2021.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Síntese de indicadores sociais: Uma análise das condições de vida da população brasileira. Rio de Janeiro, Brasil, 2015. Acesso em: 25 de março de 2020.

INCA. Instituto Nacional de Câncer. Incidência de Câncer no Brasil. Coordenação de Prevenção e Vigilância Estimativa 2016: Coordenação de Prevenção e Vigilância. Rio de Janeiro - Brasil, 2016. Acesso em: 26 de março de 2020.

JALAPOUR, S.; MIRZAEI, V.; TAHERI, M.; FATHOLLAHI, M.S. et al. The H. pylori-related virulence factor caga influences the expression of chemokines cxcl10, ccl17, ccl20, ccl22, and their receptors by peripheral blood mononuclear cells from peptic ulcer patients. **Arq Gastroenterol**, v.57, n.4, p.366-374, 2020.

JUNQUEIRA, J.J.M.; SANCHO, T.M.; SANTOS, V.A. Citomegalovírus: revisão dos aspectos epidemiológicos, clínicos, diagnósticos e de tratamento. **NewsLab**, v.86, p.88-104, 2008.

JUST-NUBLING, G.; KORN, S.; LUDWIG, B. et al. Primary cytomegalovirus infection in an outpatient setting—laboratory markers and clinical aspects. **Infection**, v.31, n.5, p.318-323, 2003.

KANAMOTO, Y.; OUCHI, K.; MIZUI, M.; et al. Prevalence of antibody to Chlamydia pneumoniae TWAR in Japan. **J Clin Microbiol**, v.29, n.4, p.816-18, 1991.

KAUFMAN, H.S.; KAHN, A.C.; IACOBUZIO-DONAHUE, C.; TALAMINI, M.A.; LILLEMÖE, K.D.; HAMILTON, S.R. Cytomegaloviral enterocolitis: clinical associations and outcome. **Dis Colon Rectum**, v.42, n.1, p.24-30, 1999.

KAUPPINEN, M.; SAIKKU, P. Pneumonia Due to Chlamydia pneumoniae: Prevalence, Clinical Features, Diagnosis, and Treatment. **Clin Infect Dis**, v.21, n.3, p.244-52, 1995.

KHAN, N.; SHARIFF, N.; COBBOLD, M. et al. Cytomegalovirus seropositivity drives the CD8 T cell repertoire toward greater clonality in healthy elderly individuals. **J Immunol**, v.169, n.4, p.1984-1992, 2002.

KLUGE, R.C.; WICKSMAN, R.S.; WELLER, T.H. Cytomegalic inclusion disease of the newborn: report of case with persistent viruria. **Pediatrics**, v.25, n.1, p.35-39, 1960.

KOCH, S.; LARBI, A.; OZCELIK, D.; SOLANA, R.; GOUTTEFANGEAS, C.; ATTIG, S. et al. Cytomegalovirus infection: a driving force in human T cell immunosenescence. **Ann N Y Acad Sci**, v.1114, n.1, p.23-35, 2007.

KODAIRA, M.S.; ESCOBAR, A.M.E.; GRISI, S. Aspectos epidemiológicos do Helicobacter pylori na infância e adolescência. **Rev Saúde Pública**, v.36, n.3, p.356-69, 2002.

KOLOKOTRONIS, A.; DOUMAS, S. Herpes simplex virus infection, with particular reference to the progression and complications of primary herpetic gingivostomatitis. **Clinical Microbiology and Infection**, v.12, n.3, p.202-211, 2006.

KOSUNEN, T.U.; SEPPÄLA, K.; SARNA, S.; SIPPONEN, P. Diagnostic value of decreasing IgG, IgA and IgM antibody titres after eradication of Helicobacter pylori. **Lancet**, v.339, n.8798, p.893-95, 1992.

- KUO, C.-C., CHEN, H.H.; WANG, S.P.; GRAYSTON, J.T. Identification of a new group of Chlamydia psittaci strains called TWAR. **J. Clin. Microbiol**, v.24, n.6, p.1034-1037, 1986.
- KUO, C.C.; GRAYSTON, J.T.; CAMPBELL, L.A. et al. Chlamydia pneumoniae (TWAR) in coronary arteries of young adults (15-34 years old). **Proc Natl Acad Sci USA**, v.92, n.15, p.6911-6914, 1995.
- KUO, C.C.; SHOR, A.; CAMPBELL, L.A.; FUKUSHI, H.; PATTON, D.L.; GRAYSTON, J.T. Demonstration of Chlamydia pneumoniae in atherosclerotic lesions of coronary arteries. **J Infect Dis**, v.167, n.4, p.841-9, 1993.
- KUSTERS, J.G.; VAN VLIET, A.H.M.; KUIPERS, E.J. Patogênese da infecção por Helicobacter pylori. **Clin Microbiol Rev**, v.19, n.3, p.449-90, 2006.
- LAEK, B.; SZKLO, M.; MCCLELLAND, R. et al. The prospective association of Chlamydia pneumoniae and four other pathogens with development of coronary artery calcium: the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). **Atherosclerosis**, v.230, n.2, p.268-74, 2013.
- LANG, K.S.; MORIS, A.; GOUTTEFANGEAS, C. et al. High frequency of human cytomegalovirus (HCMV)-specific CD8 β T cells detected in a healthy CMV-seropositive donor. **Cell Mol Life Sci**, v.59, n.6, p.1076-1080, 2002.
- LAWLOR, G.; MOSS, A.C. Cytomegalovirus in inflammatory bowel disease: pathogen or innocent bystander? **Inflamm Bowel Dis**, v.16, n.9, p.1620-7, 2010.
- LE SAUX, S.; WEYAND, C.M.; GORONZY, J.J. Mechanisms of immunosenescence: lessons from models of accelerated immune aging. **Ann NY Acad Sci**, v.1247, n.1, p.69-82, 2012.
- LEINONEN, M. Pathogenetic mechanisms and epidemiology of Chlamydia pneumoniae. **Eur Heart J**, v.14, n.57-61, 1993.
- LIBBY, P.; HANSSON, G.K. Involvement of the immune system in human atherogenesis: current knowledge and unanswered questions. **Lab Invest**, v.64, n.1, p.5-15, 1991.
- LIMA-COSTA, M.F. Determinantes do envelhecimento ativo no Brasil: resultados da Pesquisa Nacional por Amostras de Domicílio (PNAD, 2008). Núcleo de Estudos em Saúde Pública e Envelhecimento da Fundação Oswaldo Cruz e Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2012. (Documento elaborado para a Coordenação de Saúde do Idoso, Secretaria de Assistência à Saúde, Ministério da Saúde). 29 p.
- LIMA-COSTA, M.F.; CESAR, C.C.; PEIXOTO, S.V.; RIBEIRO, A.L. Plasma B-type natriuretic peptide as a predictor of mortality in community-dwelling older adults with Chagas disease: 10-year follow-up of the Bambuí Cohort Study of Aging. **Am J Epidemiol**, v.172, n.2, p.190-6, 2010.
- LIMA-COSTA, M.F.; FIRMO, J.O.A.; UCHÔA, E. Cohort Profile: The Bambuí (Brazil) Cohort Study of Ageing. **International Journal of Epidemiology**, v.40, n.4, p.862-867, 2011a.

LIMA-COSTA, M.F.; FIRMO, J.O.A.; UCHÔA, E. The Bambuí Cohort Study of Aging: methodology and health profile of participants at baseline. **Cad Saúde Pública**, v.27, n.3, p.327-35, 2011b.

LIMA-COSTA, M.F.; GUERRA, H.L.; FIRMO, J.O.A.; UCHÔA, E. Projeto Bambuí: um estudo epidemiológico de características sociodemográficas, suporte social e indicadores de condição de saúde dos idosos em comparação aos adultos jovens. **Informe Epidemiológico do SUS**, v.10, n.4, p.147-161, 2001.

LIMA-COSTA, M.F.; UCHÔA, E.; GUERRA, H.L.; FIRMO, J.O.A.; VIDIGAL, P.G.; BARRETO, S.M. The Bambuí health and ageing study (BHAS): methodological approach and preliminary results of a population-based cohort study of the elderly in Brazil. **Revista de Saúde Pública**, v.34, n.2, p.126-135, 2000.

LIU, Z.; WU, X.; TIAN, Y.; ZHANG, W. et al. H. pylori infection induces CXCL8 expression and promotes gastric cancer progress through downregulating KLF4. **Mol Carcinog**, v.60, n.8, p.524-537, 2021.

LLOYD-SHERLOCK, P.L.; MCKEE, M.; EBRAHIM, S.; GORMAN, M.; GREENGROSS, S.; PRINCE, M. et al. Population ageing and health. **Lancet**, v.379, n.9823, p.1295-6, 2012.

LOONEY, R.J.; FALSEY, A.; CAMPBELL, D.; TORRES, A.M.; KOLASSA, J.; BROWER, C. et al. Role of cytomegalovirus in the T cell changes seen in elderly individuals. **Clin Immunol**, v.90, n.2, p.213-9, 1999.

LUZ, C.; DORNELLES, F.; PREISLER, T.; COLLAZIOL, D.; CRUZ, I.M.; BAUER, M.E. Impact of psychological and endocrine factors on cytokine production of healthy elderly people. **Mech Ageing Dev**, v.124, n.8-9, p.887-95, 2003.

MAMISHI, S.; ESHAGHI, H.; MAHMOUDI, S.; BAHADOR, A.; SADEGHI, R.H.; NAJAFI, M. Intrafamilial transmission of Helicobacter pylori: genotyping of faecal samples. **Br J Biomed Sci**, v.73, n.1, p.38-43, 2016.

MARSHALL, G.S.; STOUT, G.G. Cytomegalovirus seroprevalence among women of childbearing age during a 10-year period. **Am J Perinatol**, v.22, n.7, p.371-376, 2005.

MCNULTY, C.A. The discovery of Campylobacter-like organisms. **Curr Top Microbiol Immunol**, v.241, p.1-9, 1999.

MEGRAUD, F.; LEHOURS, P. Helicobacter pylori detection and antimicrobial susceptibility testing. **Clin Microbiol Ver**, v.20, n.2, p.280-322, 2007.

MENDALL, M.A.; PATEL, P.; BALLAM, L.; STRACHAN, D.; NORTHFIELD, T.C. C reactive protein and its relation to cardiovascular risk factors: a population based cross sectional study. **BMJ**, v.312, p.1061-65, 1996.

MENDRONE JUNIOR, A. Prevalência da infecção pelo citomegalovírus: a importância de estudos locais. **Rev Bras Hematol Hemoter**, v.32, n.1, p.7-8, 2010.

- MERTZ, G.J.; ROSENTHAL, S.L.; STANBERRY, L.R. Is herpes simplex virus type 1 (HSV-1) now more common than HSV-2 in first episodes of genital herpes? **Sex Transm Dis**, v.30, n.10, p.801-2, 2003.
- MINAYO, M.C.S. O envelhecimento da população brasileira e os desafios para o setor saúde. **Cad Saúde Pública**, v.28, n.2, p.208-9, 2012.
- MOGENSEN, T.H.; PALUDAN, S.R. Molecular pathways in virus-induced cytokine production. **Microbiol Molec Biol Ver**, v.65, n.1, p.131-150, 2001.
- MOSSMAN, K.L.; ASHKAR, A.A. Herpesviruses and the Innate Immune Response. **Viral Immunology**, v.18, n.2, p.267-281, 2005.
- MURRAY, L.J.; BAMFORT, K.B.; O'REILLY, D.P.J.; MCCRUM, E.; EVANS, A.E. Helicobacter pylori infection: relation with cardiovascular risk factors, ischaemic heart disease, and social class. **Br Heart J**, v.74, p.497-501, 1995.
- MURRAY, P.R.; ROSENTHAL, K.S.; PFALLER, M.A. Clamidiáceas. In: *Microbiologia Médica*. 5ª. ed Rio de Janeiro, **Elsevier**, p. 455-463, 2006.
- MUSSI-PINHATA, M.M.; YAMAMOTO, A.Y. Infecção congênita e perinatal por citomegalovírus aspectos clínicos, epidemiologia, diagnóstico e tratamento. **J Pediatr**, v.75, n.1, p.15-30, 1999.
- NAHMIAS, A.J.; DOWDLE, W.R. Antigenic and biologic differences in Herpesvirus hominis. **Progress in Medical Virology**, v.10, p.110-159, 1968.
- NEILL, L.A.J.O.; BOWIE, A.G. The family of five: TIR-domain- containing adaptors in Toll-like receptor signalling. **Nature Reviews Immunology**, v.7, n.5, p.353-364, 2007.
- NIAAA. National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism. Older adults. <https://www.niaaa.nih.gov/alcohol-health/special-populations-cooccurring-disorders/older-adults>. Acesso em: 6 de abril de 2019.
- NIEMELA, S.; KARTTUNEN, T.; KORHONEN, T. et al. Could Helicobacter pylori infection increase the risk of coronary heart disease by modifying serum lipid concentrations? **Heart**, v.75, p.573-75, 1996.
- NISHAT, A.H.; GITA, S.; CHAWLA, R.; TANDON, R. Multiplex PCR for Detection of Herpes Simplex Viruses Type-1 and Type-2, Cytomegalovirus, Varicella-zoster Virus, and Adenovirus in Ocular Viral Infections. **J Ophthalmic Vis Res**, v.16, n.1, p.3-11, 2021.
- NORERO, E.; QUEZADA, J.L.; CERDA, J.; CERONI, M.; MARTINEZ, C. et al. Fatores de risco para complicações pós-operatórias graves após gastrectomia por câncer do estômago e junção esofagástrica. **ABCD Arq Bras Cir Dig**, v.32, n.4, p.1473-1478, 2019.
- OLIVEIRA, C.M.; LIMA-COSTA, M.F. Birth cohort differences in physical functioning levels among elderly Brazilians: findings from the Bambuí cohort study of aging (1997-2008). **Cad. Saúde Pública**, v.27, n.3, p.444-453, 2013.

- OUYANG, Q.; WAGNER, W.M.; ZHENG, W.; WIKBY, A.; REMARQUE, E.J.; PAWELEC, G. Dysfunctional CMV-specific CD8⁺ T cells accumulate in the elderly. **Exp Gerontol**, v.39, n.4, p.607-13, 2004.
- PADMAVATI, S.; GUPTA, U.; AGARWAL, H.K. Chronic infections & coronary artery disease with special reference to Chlamydia pneumoniae. **Indian J Med Res**, v.135, n.2, p.228-232, 2012.
- PANNUTI, C.S. Citomegalovirose. In: VERONESI R, FOCACCIA R, editors. **Tratado de Infectologia**. 4^o ed: Ateneu, p.363-71, 2009.
- PANNUTI, C.S. Infecções por vírus no paciente imunocomprometido. In: MAKSOUD, J. G. **Cirurgia pediátrica**. 2. ed. Rio de Janeiro: Revinter, p.337-349, 2003.
- PANNUTI, C.S. Infecções virais oportunistas. Suplemento II. Trabalho apresentado ao Simpósio Internacional “Novas abordagens no tratamento de pacientes HIV positivos”. São Paulo. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.28, p.32-38, 1995.
- PAPADAKIS, K.A.; TUNG, J.K.; BINDER, S.W.; KAM, L.Y.; ABREU, M.T.; TARGAN, S.R.; VASILIAUSKAS, E.A. Outcome of cytomegalovirus infections in patients with inflammatory bowel disease. **Am J Gastroenterol**, v.96, n.7, p.2137-42, 2001.
- PARENTE, J.M.; DA SILVA, B.B.; PALHA-DIAS, M.P.S.; ZATERKA, S.; NISHIMURA, N.F.; ZEITUNE, J.M. H. pylori infection in children of low and high socioeconomic status in northeastern Brazil. **Am J Trop Med Hyg**, v.75, n.3, p.509-12, 2006.
- PARSONNET, J.; HANSEN, S.; RODRIGUEZ, L. Helicobacter pylori infection and gastric lymphoma. **N Engl J Med**, v.330, n.18, p.1267-71, 1994.
- PARKIN, D.M. The global health burden of infection-associated cancers in the year 2002. **Int J Cancer**, v.118, p.3030-3044, 2006.
- PATEL, P.; MENDALL, M.A.; CARRINGTON, D.; STRACHAN, D.P.; LEATHAN, E.; MOLINEAUX, N. et al. Association of Helicobacter pylori and Chlamydia pneumoniae infections with coronary heart disease and cardiovascular risk factors. **BMJ**, v.311, n.7007, p.711-4, 1995.
- PAYÃO, S.L.M.; RASMUSSEN, L.T. Helicobacter pylori and its reservoirs: A correlation with the gastric infection. **World J Gastrointest Pharmacol Ther**, v.7, n.1, p.126-32, 2016.
- PAWELEC, G.; DERHOVANESSIAN, E. Role of CMV in immune senescence. **Virus Research**, v.157, n.2, p.175-179, 2011.
- PERES, A.; NARDI, N.B.; CHIES, J.A. Imunossenescência: o envolvimento das células T no envelhecimento. **Biociências**, v.11, n.2, p.187-94, 2003.
- PERSSON, K.; TREHARNE, J. Diagnosis of Infection Caused by Chlamydia pneumoniae (Strain TWAR) in Patients with “Ornithosis” in Southern Sweden 1981–1987. **Scandinavian Journal of Infectious Diseases**, v.21, n.6, p.675-679, 1989.

PETHER, J.V.S.; WANG, S.P.; GRAYSTON, J.T. Chlamydia pneumoniae, strain TWAR, as the cause of an outbreak in a boys' school previously called psittacosis. **Epidemiology & Infection**, v.103, n.2, p.395-400, 1989.

PITA-LOPEZ, M.L.; GAYOSO, I.; DELAROSA, O.; CASADO, J.G.; ALONSO, C.; GOMARIZ, E.M. et al. Effect of ageing on CMV – specific CD⁺ T cells from CMV seropositive healthy donors. **Immun Ageing**, v.6, n.1, p.11, 2009.

Plan and operation of the Third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-94. Series1: programs and collection procedures. **Vital Health Stat**, v.32, p.1-407, 1994.

PLOSA, E.J.; ESBENSHADE, J.C.; FULLER, M.P.; WEITKAMP, J-H. Cytomegalovirus Infection. **Pediatrics in Review**, v.33, n.4, p.156-163, 2012.

POURGHEYSARI, B.; KHAN, N.; BEST, D.; BRUTON, R.; NAYAK, L.; MOSS, P.A. The cytomegalovirus-specific CD4⁺ T-cell response expands with age and markedly alters the CD4⁺ T-cell repertoire. **J Virol**, v.81, n.7759-7765, 2007.

PORRITT, R.A.E.; CROTHER, T.R. Chlamydia pneumoniae Infection and Inflammatory Diseases. **Immunopathol Dis Thera**, v.7, n.3-4, p.237-254, 2016.

RAD, R.; BALHORN, W.; VOLAND, P.; EISENÄCHER, K. et al. Extracellular and intracellular pattern recognition receptors cooperate in the recognition of Helicobacter pylori. **Gastroenterology**, v.136, n.7, p.2247-2257, 2009.

RAGUZA, D.; MACHADO, R.S.; OGATA, S.K.; GRANATO, C.F.; PATRÍCIO, F.R.; KAWAKAMI, E. Validation of a monoclonal stool antigen test for diagnosing Helicobacter pylori infection in young children. **J Pediatr Gastroenterol Nutr**, v.50, n.4, p.400-3, 2010.

RAJAMANNAN, N.M.; GERSH, B.; BONOW, R.O. Calcific aortic stenosis: from bench to the bedside--emerging clinical and cellular concepts. **Heart. Jul**, v.89, n.7, p.801-5, 2003.

RAMALHO, J.R.O.; LIMA-COSTA, M.F.; FIRMO, J.O.A.; PEIXOTO, S.V. Energy expenditure through physical activity in a population of community- dwelling Brazilian elderly: cross-sectional evidences from the Bambuí Cohort Study of Aging. **Cad Saúde Pública**, v.27, n.3, p.399-408, 2011.

REINAUER, S.; MEGAHED, M.; GOERZ, G.; RUZICKA, T.; BORCHARD, F. et al. Schönlein-henoch purpura associated with gastric Helicobacter pylori infection. *J of the American Academy of Dermatology*, v.33, n.5, p.876-879, 1995.

RENE, E.; MARCHE, C.; CHEVALIER, T.; ROUZIOUX, C.; REGNIER, B.; SAIMOT, A.G.; NEGESSE, Y.; MATHERON, S.; LEPOR, C.; WOLFF, B. et al. Cytomegalovirus colitis in patients with acquired immunodeficiency syndrome. **Dig Dis Sci**, v.33, n.6, p.741-50, 1988.

RICCI, C.; HOLTON, J.; VAIRA, D. Diagnosis of Helicobacter pylori: invasive and non-invasive tests. **Best Pract Res Clin Gastroenterol**, v.21, n.2, p.299-313, 2007.

ROBERTS, E.T.; HAAN, M.N.; DOWD, J.B. et al. Cytomegalovirus Antibody Levels, Inflammation, and Mortality Among Elderly Latinos Over 9 Years of Follow-up. **American Journal of Epidemiology**, v.172, n.4, p.363-371, 2010.

ROIZMAN, B.; KNIPE, D.M.; WHITLEY, R. Herpes Simplex Viruses. **In Fields Virology**, p.1823-1897, 2013. Edited by D. M. Knipe & P. M. Howley. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins.

ROSENFELD, M.E. Inflammation and atherosclerosis: direct versus indirect mechanisms. **Curr Opin Pharmacol**, v.13, p.154-160, 2013.

ROSENSTIEL, P.; HELLMING, S.; HAMPE, J.; OTT, S. et al. Influence of polymorphisms in the NOD1/CARD4 and the NOD2/CARD15 genes on the clinical outcome of Helicobacter pylori infection. **Cell Microbiol**, v.8, n.7, p.1188-1198, 2006.

SAIKKU, P.; LEINONEN, M.; TENKANEN, L. et al. Chronic Chlamydia pneumoniae infection as a risk factor for coronary heart disease in the Helsinki Heart Study. **Ann Intern Med**, v.116, n.4, p.273-278, 1992.

SAIKKU, P.; WANG, S.P.; KLEEMOLA, M.; BRANDER, E.; RUSANEN, E.; GRAYSTON, J.T. An epidemic of mild pneumonia due to an unusual strain of Chlamydia psittaci. **J. Infect. Dis**, v.151, n.5, p.832-839, 1985.

SALAVATI, S.; HEDAYATI, M.A.; AHMADI, A. et al. Relationship between Helicobacter pylori cagA Genotypes Infection and IL-10 and TGFβ1 Genes' Expression in Gastric Epithelial Cells. **Int J Prev Med**, v.17, n.20, p.1-5, 2020.

SALEHI, Z. The relationship between Helicobacter pylori infection and gastric adenocarcinoma in Northern Iran. **Oncology Research**, v.18, n.7, p.323-328, 2010.

SANTOS, M.P.; PEREIRA, J.N.; DELABIO, R.W.; SMITH, M.A.C.; PAYÃO, S.L.M. et al. Increased expression of interleukin-6 gene in gastritis and gastric câncer. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.54, n.7, p.e10687, 2021.

SCHACHTER, J.; CADWELL, H.D. Chlamydiae. **Ann. Rev. Microbia.**, v.34, p.285-309, 1980.

SCHAFFNER, W.; DRUTZ, D.J.; DUNCAN, G.W.; KOENIQ, M.G. The clinical spectrum of endemic psittacosis. **Archives of Internal Medicine**, v.119, n.5, p.433-443, 1967.

SCHMALTZ, H.N.; FRIED, L.P.; XUE, Q. et al. Chronic Cytomegalovirus Infection and Inflammation Are Associated with Prevalent Frailty in Community-Dwelling Older Women. **J Am Geriatr Soc**, v.53, n.5, p.747-754, 2005.

SEHNEM, L.; BODANESE, L.C.; REPETTO, G.; STAUB, H.L. Chlamydia pneumoniae e doença aterosclerótica. **Scientia Medica**, v.20, n.3, p.250-256, 2010.

SHEEMAR, S.; JINDAL, N.; AGGARWAL, A. A pilot seroepidemiological study of cytomegalovirus infection in women of child bearing age. **Indian J Med Microbiol**, v.23, n.1, p.34-36, 2005.

SHOR, A.; KUO, C.C.; PATTON, D.L. Detection of Chlamydia pneumoniae in coronary arterial fatty streaks and atheromatous plaques. **S Afr Med J**, v.82, n.3, p.158-61, 1992.

SHURIN, G.V.; YURKOVETSKY, Z.R.; CHATTA, G.S.; TOURKOVA, I.L.; SHURIN, M.R.; LOKSHIN, A.E. Dynamic alteration of soluble serum biomarkers in healthy aging. **Cytokine**, v.39, n.2, p.123-129, 2007.

SILVA, D.L.; MEDEIROS, R.L.F.; MORAES, M.M.; ESPÍRITO SANTO, F.S. Restriction enzyme analysis of the human cytomegalovirus genome in specimens collected from immunodeficient patients in Belém, State of Pará, Brazil. **Rev Soc Bras Med Trop**, v.44, n.5, p.551-4, 2011.

SILVA, G.A.; GAMARRA, C.J.; GIRIANELLI, V.R.; VALENTE, J.G. Cancer mortality trends in Brazilian state capitals and other municipalities between 1980 and 2006. **Rev Saude Publica**, v.45, n.6, p.1009-18, 2011.

SIMPSON, R.J. Aging, Persistent Viral Infections, and Immunosenescence: Can Exercise “Make space”? **Exerc. Sport Sci. Rev.**, v.39, n.1, p.23-33, 2011.

SMITH, J. R.; MITCHELL, A.; LI, G.; DING, S.; FITZMAURICE, A.M. et al. Toll-like receptor (TLR) 2 and TLR5, but not TLR4, are required for Helicobacter pylori-induced NF- κ B activation and chemokine expression by epithelial cells. **The Journal of Biological Chemistry**, v.278, n.35, p.32552-32560, 2003.

SMITH, V.C.; GENTA, R.M. Role of Helicobacter pylori gastritis in gastric atrophy, intestinal metaplasia, and gastric neoplasia. **Microsc Res Tech**, v.48, p.313-320, 2000.

SÖDERBERG-NAUCLER, C.; NELSON, J.Y. Human Cytomegalovirus Latency and Reactivation – A Delicate Balance between the Virus and Its Host’s Immune System. **Intervirolgy**, v.42, n.5-6, p.314-321, 1999.

STAGNO, S.; PASS, R.F.; DWORSKY, M.E.; HENDERSON, R.E.; MOORE, E.G.; WALTON, P.D. et al. Congenital cytomegalovirus infection - the relative importance of primary and recurrent maternal infection. **N Engl J Med**, v.306, n.16, p.945-9, 1982.

STAGNO, S.; WHITLEY, R.J. Herpesvirus Infections of Pregnancy. **New England Journal of Medicine**, v.313, n.20, p.1270-1274, 1985.

STANBERRY, L.; CUNNINGHAM, A.; MERTZ, G.; MINDEL, A.; PETERS, B.; REITANO, M. et al. New developments in the epidemiology, natural history and management of genital herpes. **Antiviral Res**, v.42, n.1, p.1-14, 1999.

STOWE, R.P.; KOZLOVA, E.; YETMAN, D.L.; WALLING, D.M.; GOODWIN, J.S.; GLASER, R. Chronic herpesvirus reactivation occurs in aging. **Exp Gerontol**, v.42, n.6, p.563-70, 2007.

SZKLO, M.; DING, J.; TSAI, M.Y.; CUSHMAN, M.; POLAK, J.F.; LIMA, J. et al. Individual pathogens, pathogen burden and markers of subclinical atherosclerosis: the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. **J Cardiovasc Med**, v.10, n.10, p.747-51, 2009.

- TAYLOR, G.H. Cytomegalovirus. **Am Fam Physician**, v.67, n.3, p.519-24, 2003.
- TEBBE, B.; GEILEN, C.C.; SCHULZKE, J.D. Helicobacter pylori infection and chronic urticaria. **J Am Acad Dermatol**, v.34, n.4, p.685-6, 1996.
- THOM, D.H.; GRAYSTON, J.T.; SISCOVICK, D.S. et al. Association of prior infection with Chlamydia pneumoniae and angiographically demonstrated coronary artery disease. **JAMA**, v.268, n.1, p.68-72, 1992.
- TIMOFEEV, R. Classification and Regression Trees (CART) Theory and Applications. CASE - Center of Applied Statistics and Economics Humboldt University, Berlin, 2004.
- TONET, A.C.; NÓBREGA, O.T. Imunossenescência: a relação entre leucócitos, citocinas e doenças crônicas. **Rev. bras. geriatr. Gerontol**, v.11, n.2, p.259-273, 2008.
- TONG, C.Y.; BAKRAN, A.; WILLIAMS, H. et al. Association of tumor necrosis factor alpha and interleukin 6 with cytomegalovirus DNA detection and disease after renal transplantation. **J Med Virol**, v.64, n.1, p.29-34, 2001.
- TRZONKOWSKI, P.; MYSLIWSKA, J.; SZMIT, E. et al. Association between cytomegalovirus infection, enhanced proinflammatory response and low level of anti-hemagglutinins during the anti-influenza vaccination: an impact of immunosenescence. **Vaccine**, v.21, n.25-26, p.3826-3836, 2003.
- VADDI, K.; NICOLINI, F.A.; MEHTA, P.; METHA, J.L. Increased secretion of tumor necrosis factor-alpha and interferon-gamma by mononuclear leukocytes in patients with ischemic heart disease. Relevance in superoxide anion generation. **Circulation**, v.90, n.2, p.694-9, 1994.
- VAIRA, D.; MALFERTHEINER, P.; MÉGRAUD, F.; AXON, A.T.; DELTENRE, M.; HIRSCHL, A.M. et al. Diagnosis of H. pylori infection with a new non-invasive antigen-based assay. HpSA European study group. **Lancet**, v.354, n.9172, p.30-3, 1999.
- VAIRA, D.; VAKIL, N.; MENEGATTI, M.; VAN'T HOFF, B.; RICCI, C.; GATTA, L. et al. The stool antigen test for detection of H. pylori after eradication therapy. **Ann Intern Med**, v.136, n.4, p.280-7, 2002.
- VASCONCELOS, A.N. Causas de morte em idosos no Brasil. Trabalho apresentado no XIV Encontro Nacional de Estudos Populacionais, ABEP, realizado em Caxambú- MG - Brasil, de 20-24 de setembro de 2004. Acesso em 20 agosto de 2020.
- VERAS, R. Envelhecimento populacional contemporâneo: demandas, desafios e inovações. **Rev Saúde Pública**, v.43, n.3, p.548-54, 2009.
- VESCOVINI, R.; TELERA, A.; FAGNONI, F.F. Different contribution of EBV and CMV infections in very long-term carriers to age-related alterations of CD8+ T cells. **Exp Gerontology**, v.39, n.8, p.1233-43, 2004.

- VESCOVINI, R.; BIASINI, C.; FRAGNONI, F.F.; TELERA, A.R. et al. Massive load of functional effector CD4+ and CD8+ T cells against cytomegalovirus in very old subjects. **J Immunol**, v.179, n. 6, p.4283-4291, 2007.
- VIALA, J.; CHAPUT, C.; BONECA, I.G.; CARDONA, A. et al. Nod1 responds to peptidoglycan derived by the Helicobacter pylori cag pathogenicity island. **Nat Immunol**, v.5, n.11, p.1166-1174, 2004.
- VINAGRE, R.M.D.F.; VINAGRE, I.D.F.; VILAR-E-SILVA, A.; FECURY, A.A.; MARTINS, L.C. Helicobacter pylori infection and immune profile of patients with different gastroduodenal diseases. **Arq Gastroenterol**, v.55, n.2, p.122-127, 2018.
- WANG, G.C.; KAO, W.H.L.; MURAKAMI, P. et al. Cytomegalovirus Infection and the Risk of Mortality and Frailty in Older Women: A Prospective Observational Cohort Study. **American Journal of Epidemiology**, v.171, n.10, p.1144-1152, 2010.
- WARREN, J.R.; MARSHALL, B. Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. **Lancet**, v.1, n.8336, p.1273-5, 1983.
- WARREN, J.R.; MARSHALL, B.L. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. **Lancet**, v.1, n.8390, p.1311-5, 1984.
- WEINBERG, A.; VILAS BOAS, L.S.; STRABELLI, T.M.V.; UIP, D.E. et al. Infecções causadas por Herpesvirus em pacientes transplantados. Trabalho apresentado à III Jornada Científica do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, São Paulo. **Revista do Instituto de Medicina Tropical**, v.31, p.83, 1989.
- WEISKOPF, D.; WEINBERGER, B.; GRUBECK-LOEBENSTEIN, B. The aging of the immune system. **Transpl Int**, v.22, n.11, p.1041-50, 2009.
- WERTHEIMER, A.M.; BENNETT, M.S.; PARK, B.; UHRLAUB, J.L.; MARTINEZ, C.; PULKO, V. et al. Aging and cytomegalovirus infection differentially and jointly affect distinct circulating T cell subsets in humans. **J Immunol**, v.192, n.5, p.2143-55, 2014.
- WEST, A.P.; KOBLANSKY, A.A.; GHOSH, S. Recognition and Signaling by TollLike Receptors. **Annual Review of Cell and Developmental Biology**, v.22, n.1, p.409-437, 2006.
- WHITLEY, R.J.; KIMBERLIN, D.W. Herpes simplex: encephalitis children and adolescents. **Seminars in Pediatric Infectious Diseases**, v.16, n.1, p.17-23, 2005.
- WHITLEY, R.J.; ROIZMAN, B. Herpes simplex virus infections. **Lancet**, v.357, n.9267, p.1513-8, 2001.
- WHO. World Health Organization. Who guidelines for the Treatment of Genital Herpes Simplex Virus, 2016. Acesso em: 2 de janeiro de 2021.
- WHO. World Health Statistics, W.H. Organization, Editor, 2013. Acesso em: 20 de outubro de 2020.

WHO. World Health Organization. Herpes simplex vírus, 2017. Acesso em: 20 de outubro de 2020.

WHO. World Health Organization. Active ageing: A policy framework. Madrid, Spain, 2012. Acesso em: 16 de Agosto de 2020.

WHO. World Health Organization. World report on ageing and health. Luxembourg, 2015. Acesso em: 10 de maio de 2019.

WIKBY, A.; MAXSON, P.; OLSSON, J.; JOHANSSON, B.; FERGUNSON, F.G. Changes in CD8 and CD4 lymphocyte subsets, T cell proliferation responses and non-survival in the very old: the Swedish longitudinal OCTO-immune study. **Mech Ageing**, v.102, n.2-3, p.187-98, 1998.

WONG, L.L.R.; CARVALHO, J.A. O rápido processo de envelhecimento populacional do Brasil: sérios desafios para as políticas públicas. **Rev Bras Estud Popul**, v.23, n.1, p.5-26, 2006.

WYKRETOWICZ, A.; FURMANIUK, J.; SMIELECKI, J.; DESKUR-SMIELECKA, E.; SZCZEPANIK, A.; BANASZAK, A.; et al. The oxygen stress index and levels of circulating interleukin-10 and interleukin-6 in patients with chronic heart failure. **Int J Cardiol**, v.94, n.2-3, p.283-7, 2004.

YAMAMOTO, A.Y.; MUSSI-PINHATA, M.M.; FIGUEIREDO, L.T.M. Infecção congênita e perinatal por citomegalovírus: aspectos clínicos, epidemiologia, diagnóstico e tratamento. Simpósio: Virologia Médica, v.32, n.1, p.49-56, 1999.

YANG, Z.P.; KUO, C.C.; GRAYSTON, J.T. Systemic dissemination of Chlamydia pneumoniae following intranasal inoculation in mice. **J Infect Dis**, v.171, n.3, p.736-8, 1995.

YIP, C.C.Y.; SRIDHAR, S.; LEUNG, K-H.; CHENG, A.K.W. et al. Evaluation of Real Star® Alpha Herpesvirus PCR Kit for Detection of HSV-1, HSV-2, and VZV in Clinical Specimens. **Biomed Res Int**, v.2019, p.1-6, 2021.

YEO, S-H.; YANG, C-H. Peptic Ulcer Disease Associated with Helicobacter pylori Infection. **Korean J Gastroenterol**, v.67, n.6, p.289-99, 2016.

YOSHIKAWA, T.T. Epidemiology and unique aspects of aging and infectious diseases. **Clin Infect Dis**, v.30, n.6, p.931-33, 2000.

APÊNDICE: Resultados das árvores com os pontos de corte obtidos pelo método CART.

Figura 1: Resultado obtido pelo método CART para infecção por CMV e CXCL8.

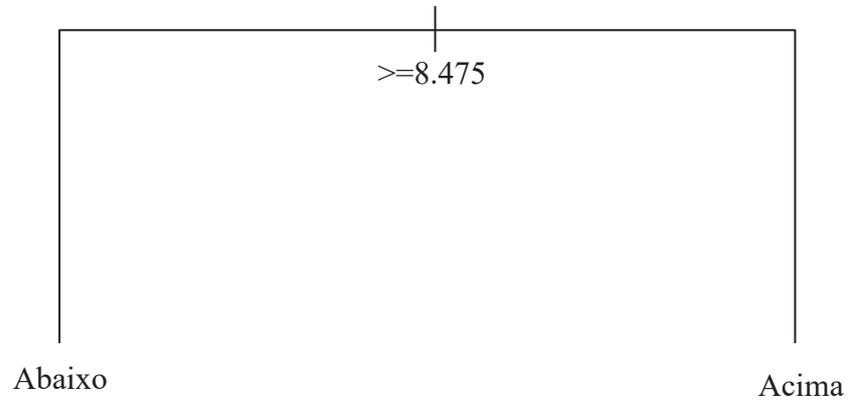


Figura 2: Resultado obtido pelo método CART para infecção por CMV e CXCL9.

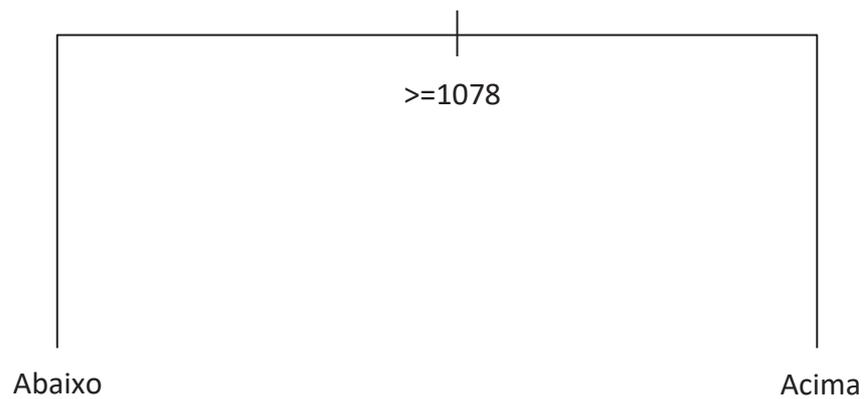


Figura 3: Resultado obtido pelo método CART para infecção por CMV e CXCL10.

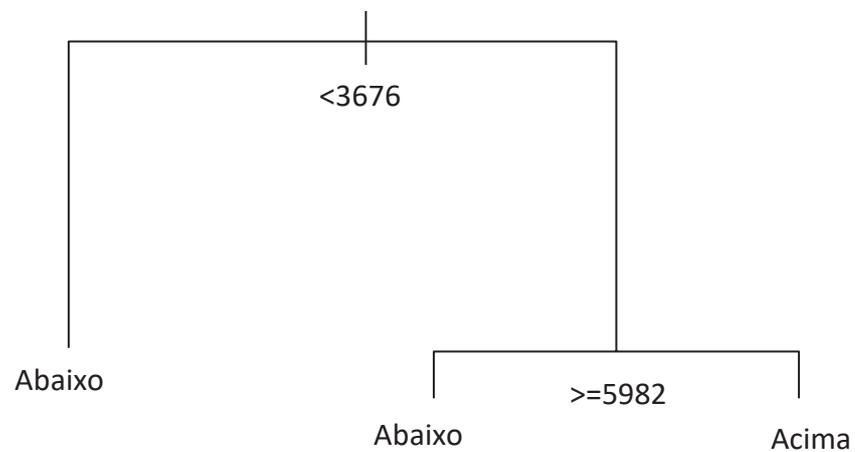


Figura 4: Resultado obtido pelo método CART para infecção por CMV e CCL2.

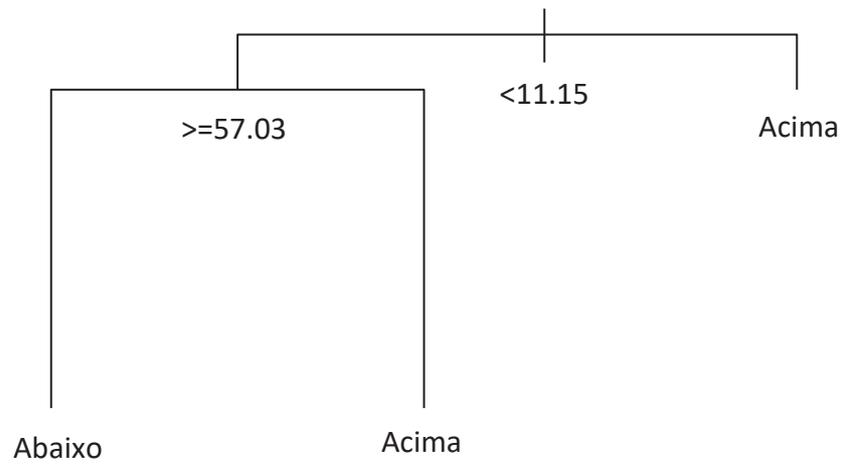


Figura 5: Resultado obtido pelo método CART para infecção por CMV e CCL5.

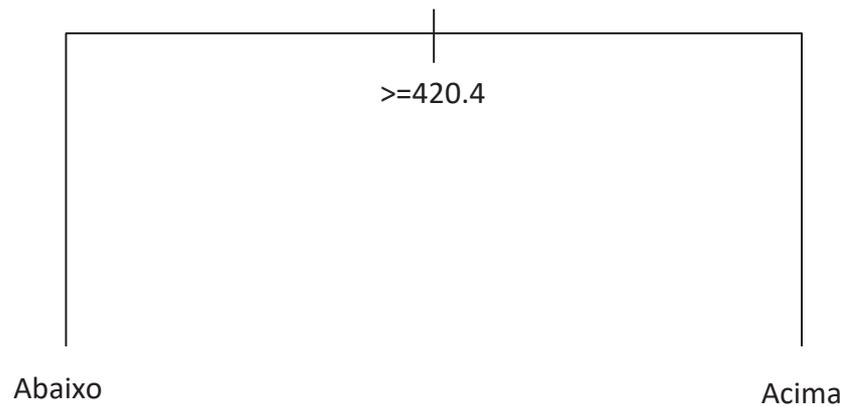


Figura 6: Resultado obtido pelo método CART para infecção por CMV e IL-6.

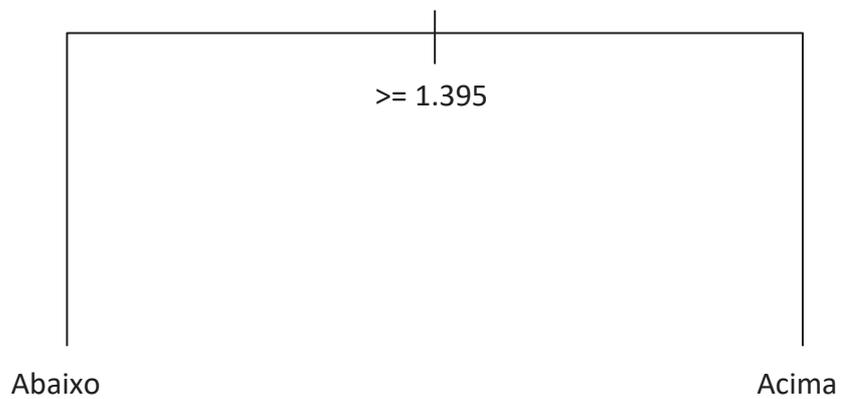


Figura 7: Resultado obtido pelo método CART para infecção por CMV e PCR.

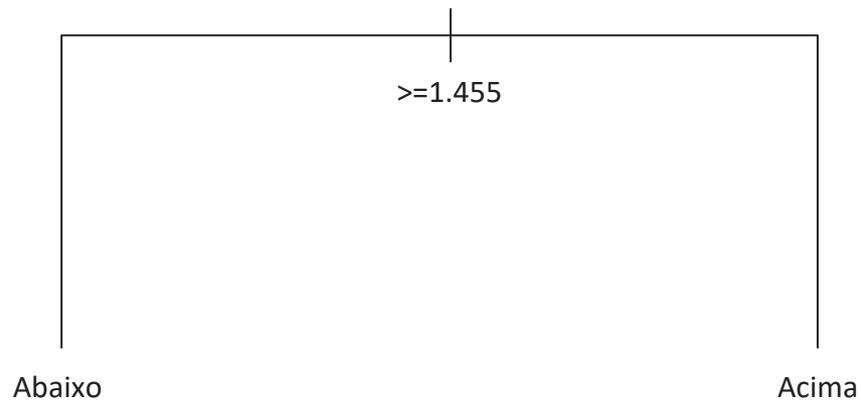


Figura 8: Resultado obtido pelo método CART para infecção por HSV-1 e CXCL8.

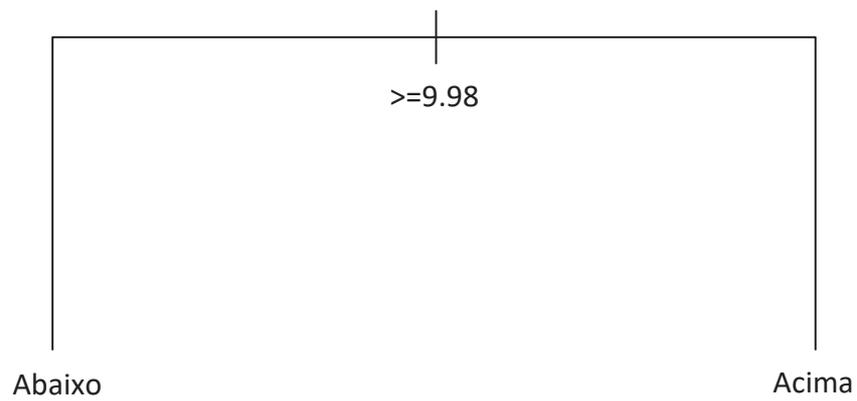


Figura 9: Resultado obtido pelo método CART para infecção por HSV-1 e CXCL9.

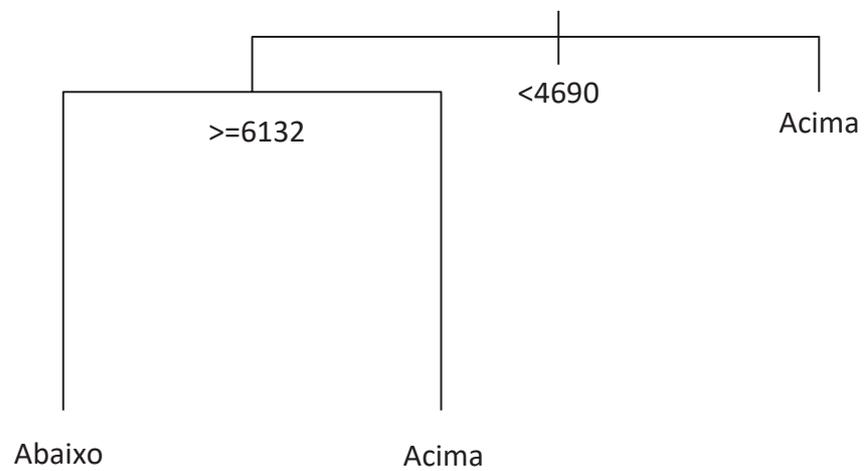


Figura 10: Resultado obtido pelo método CART para infecção por HSV-1 e CXCL10.

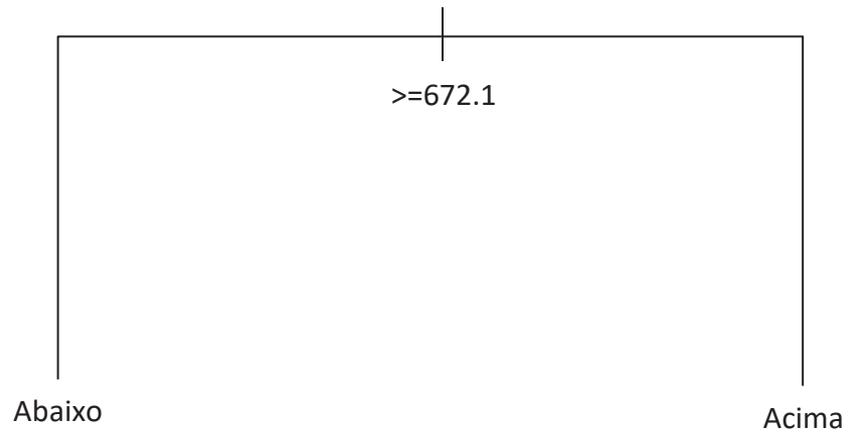


Figura 11: Resultado obtido pelo método CART para infecção por HSV-1 e CCL2.

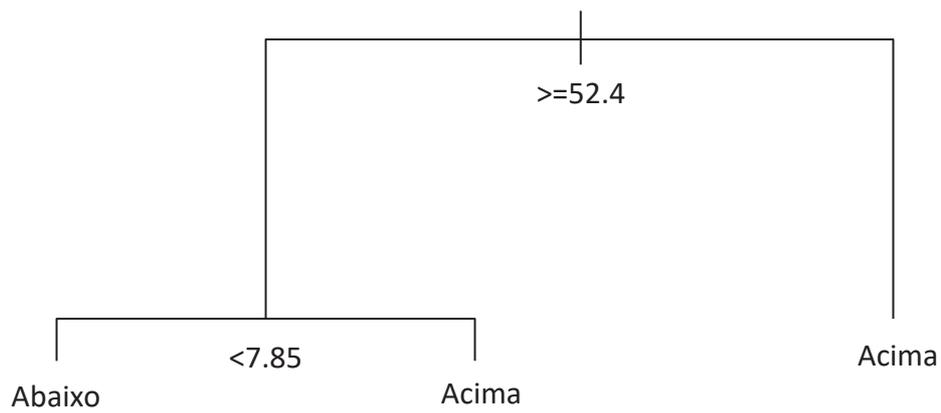


Figura 12: Resultado obtido pelo método CART para infecção por HSV-1 e CCL5.

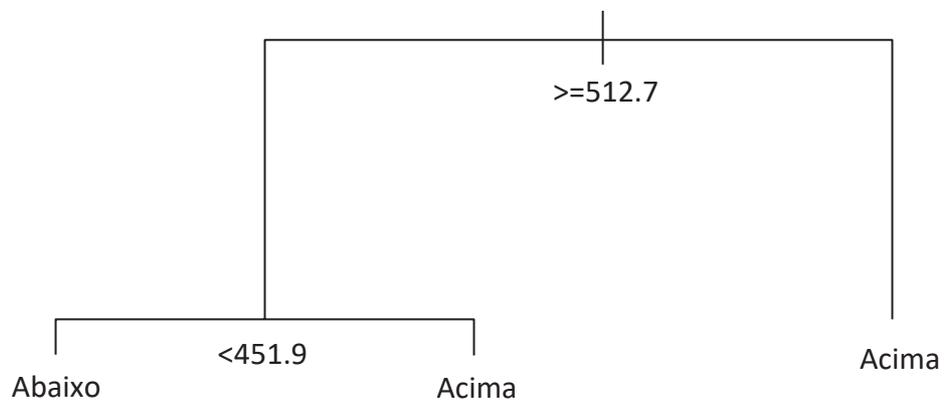


Figura 13: Resultado obtido pelo método CART para infecção por HSV-1 e IL-6.

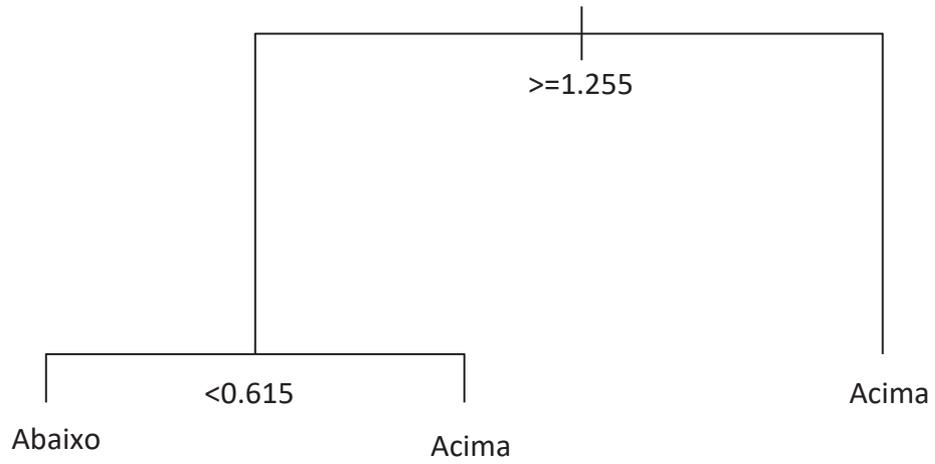
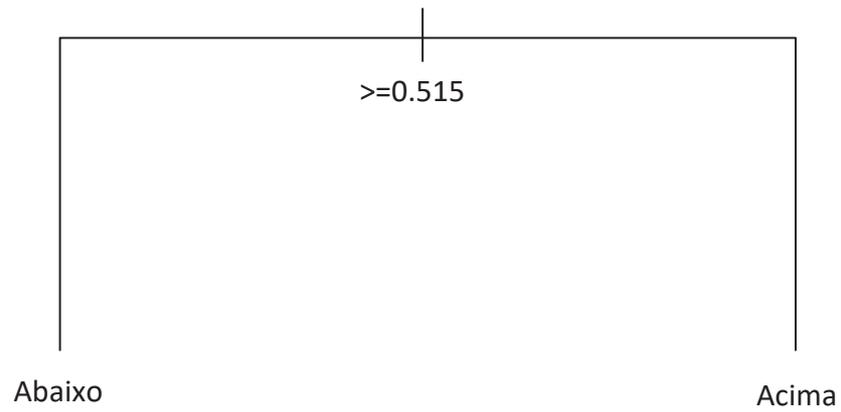


Figura 14: Resultado obtido pelo método CART para infecção por HSV-1 e PCR.



ANEXO: Autorização da Experimental Gerontology para incluir artigos completos e publicados.

De: Permissions Helpdesk <permissionshelpdesk@elsevier.com>

Enviado: 18 de mar. de 2022 14:19

Para: pn.beatriz@gmail.com

Assunto: Re: Beatriz Prado Noronha [220318-001913]

Dear Beatriz Noronha,

We hereby grant you permission to reprint the material below at no charge in your thesis subject to the following conditions:

1. If any part of the material to be used (for example, figures) has appeared in our publication with credit or acknowledgement to another source, permission must also be sought from that source. If such permission is not obtained then that material may not be included in your publication/copies.

2. Suitable acknowledgment to the source must be made, either as a footnote or in a reference list at the end of your publication, as follows:

“This article was published in Publication title, Vol number, Author(s), Title of article, Page Nos, Copyright Elsevier (or appropriate Society name) (Year).”

3. Your thesis may be submitted to your institution in either print or electronic form.

4. Reproduction of this material is confined to the purpose for which permission is hereby given.

5. This permission is granted for non-exclusive world English rights only. For other languages please reapply separately for each one required. Permission excludes use in an electronic form other than submission. Should you have a specific electronic project in mind please reapply for permission.

6. As long as the article is embedded in your thesis, you can post/share your thesis in the University repository.

7. Should your thesis be published commercially, please reapply for permission.

This includes permission for the Library and Archives of Canada to supply single copies, on demand, of the complete thesis. Should your thesis be published commercially, please reapply for permission.

This includes permission for UMI to supply single copies, on demand, of the complete thesis. Should your thesis be published commercially, please reapply for permission.

8. Posting of the full article/ chapter online is not permitted. You may post an abstract with a link to the Elsevier website **Erro! A referência de hiperlink não é válida.** or to the article on ScienceDirect if it is available on that platform.

Kind regards,
 Subash Balakrishnan
 Copyrights Coordinator
ELSEVIER | HCM - Health Content Management
 Visit [Elsevier Permissions](#)

Dear Beatriz Noronha,

We hereby grant you permission to reprint the material below at no charge in your thesis subject to the following conditions:

1. If any part of the material to be used (for example, figures) has appeared in our publication with credit or acknowledgement to another source, permission must also be sought from that source. If such permission is not obtained then that material may not be included in your publication copies.
2. Suitable acknowledgment to the source must be made, either as a footnote or in a reference list at the end of your publication, as follows:
 "This article was published in Publication title, Vol number, Author(s), Title of article, Page Nos, Copyright Elsevier (or appropriate Society name) (Year)."
3. Your thesis may be submitted to your institution in either print or electronic form.
4. Reproduction of this material is confined to the purpose for which permission is hereby given.
5. This permission is granted for non-exclusive world English rights only. For other languages please reapply separately for each one required. Permission excludes use in an electronic form other than submission. Should you have a specific electronic project in mind please reapply for permission.
6. As long as the article is embedded in your thesis, you can post/share your thesis in the University repository.
7. Should your thesis be published commercially, please reapply for permission.

This includes permission for the Library and Archives of Canada to supply single copies, on demand, of the complete thesis. Should your thesis be published commercially, please reapply for permission.

This includes permission for UMI to supply single copies, on demand, of the complete thesis. Should your thesis be published commercially, please reapply for permission.

8. Posting of the full article chapter online is not permitted. You may post an abstract with a link to the Elsevier website www.elsevier.com, or to the article on ScienceDirect if it is available on that platform.

Kind regards,
 Subash Balakrishnan
 Copyrights Coordinator
ELSEVIER | HCM - Health Content Management