

UNIVERSIDADE SANTO AMARO
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde

Brenda Rodrigues Silva

**AVALIAÇÃO DA RESPOSTA IMUNE SISTÊMICA PARA A VACINA
CONTRA O SARS-COV-2 EM IDOSOS QUE MANTINHAM UMA
ROTINA REGULAR DE EXERCÍCIOS FÍSICOS ANTERIORMENTE A
PANDEMIA**

SÃO PAULO

2023

Brenda Rodrigues Silva

**AVALIAÇÃO DA RESPOSTA IMUNE SISTÊMICA PARA A VACINA
CONTRA O SARS-COV-2 EM IDOSOS QUE MANTINHAM UMA
ROTINA REGULAR DE EXERCÍCIOS FÍSICOS ANTERIORMENTE A
PANDEMIA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* da Universidade Santo Amaro — UNISA, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

Orientador: Dr. André Luis Lacerda Bachi.

Co-orientadora: Dra. Marina Tiemi Shio.

SÃO PAULO

2023

S578a Silva, Brenda Rodrigues.

Avaliação da resposta imune sistêmica para a vacina contra o SARS-CoV-2 em idosos que mantinham uma rotina regular de exercícios físicos anteriormente a pandemia. — São Paulo, 2023.

60 p.: il., color.

Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) — Universidade Santo Amaro, 2023.

Orientador: Prof. Me. Dr. André Luis Lacerda Bachi.

1. Covid-19. 2. Vacina. 3. Imunossenescência. I. Bachi, André Luis Lacerda, orient. II. Universidade Santo Amaro. III. Título.

Fernando Carvalho — CRB8/10122

Brenda Rodrigues Silva

**AVALIAÇÃO DA RESPOSTA IMUNE SISTÊMICA PARA A VACINA
CONTRA O SARS-COV-2 EM IDOSOS QUE MANTINHAM UMA
ROTINA REGULAR DE EXERCÍCIOS FÍSICOS ANTERIORMENTE A
PANDEMIA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* da Universidade Santo Amaro — UNISA, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

Orientador: Dr. André Luis Lacerda Bachi.

Co-orientadora: Dra. Marina Tiemi Shio.

São Paulo, 26 de Janeiro de 2023

Banca Examinadora

.....
Prof. Dr. André Luis Lacerda Bachi

.....
Prof. Dr. Luiz Henrique da Silva Nali

.....
Prof. Dra. Juliana de Melo Batista dos Santos

Conceito Final

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer e dedicar essa dissertação as seguintes pessoas:

Meus pais, Hilda e João, por todo o amor, carinho e apoio. Vocês me dão força para superar qualquer obstáculo. Amo vocês mais que tudo.

A minha gatinha Kuika, por me fazer companhia há 17 anos e estar ao meu lado enquanto escrevia essa dissertação.

A toda equipe ORL, por tornar esse trabalho possível.

Ao meu orientador, Prof. Dr. André Bachi, pela oportunidade de ser sua aluna, por toda paciência e ensinamentos. Obrigada pelo tempo dedicado ao meu aprendizado, por me incentivar e ajudar. Tenho você como inspiração para seguir a vida acadêmica/pesquisa.

Um agradecimento em especial para todos os voluntários que aceitaram participar desse estudo.

Também gostaria de agradecer a Universidade Santo Amaro pela bolsa de estudos e a toda a equipe multidisciplinar do programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde pela sabedoria transmitida nessa jornada.

Por fim, agradeço a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, por financiar esse projeto sob número de parecer 2021/03235-5.

RESUMO

Introdução: É sabido que a imunossenescência é um processo que, devido ao progressivo declínio na função imunológica associado ao envelhecimento, acarreta redução da resposta vacinal na população idosa, e este fato gera preocupação na atual situação de pandemia causada pelo vírus SARS-CoV-2, pois, segundo dados epidemiológicos, esta população é a mais afetada na COVID-19. Embora nosso grupo tenha mostrado que idosos praticantes regulares de exercícios físicos apresentem melhor resposta à vacinação, especificamente contra a gripe, quando comparados a idosos não praticantes ou sedentários, as restrições impostas pela pandemia alteraram a rotina desta população e a manutenção da prática regular de exercícios físicos pela população idosa tem sido um grande desafio para todos os envolvidos. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar a resposta imune, tanto celular quanto humoral, à vacinação para COVID-19 em idosos que mantinham ou não uma rotina de exercícios físicos, por pelo menos 12 meses, antes da pandemia. **Métodos:** Para isso, foram convidados a participar deste estudo 93 idosos de ambos os sexos, com idades entre 60 e 85 anos, que mantiveram uma rotina regular de prática de exercícios físicos por, pelo menos 12 meses, antes do início da quarentena [grupo EF, n=69, subdividido em CoronaVac (n=46) e Chadox-1 (n=23)] ou que não praticavam exercícios físicos regularmente, vacinados com Chadox-1 (NEF, n= 24). Amostras de sangue foram coletadas antes e 30 dias após a administração da segunda dose da vacina contra a COVID-19 (CoronaVac ou ChadOx-1), para determinação dos níveis séricos das imunoglobulinas A (IgA) e G (IgG) e o número de linfócitos T, tanto CD4 e CD8, “naives” (CD28+CD57-), duplo positivos (CD28+CD57+) e senescentes (CD28-CD57+). **Resultados:** Maiores níveis séricos de IgG foram observados nos 2 grupos de idosos participantes do estudo vacinados com ChadOx-1 pós-vacinação (subgrupos EF - ChadOx-1, p=0,0002 e grupo NEF - ChadOx-1, p=0,0012) do que os valores pré-vacinação. Com relação à imunogenicidade, foi encontrado valores de 39,1% e 56,5% nos subgrupos EF - CoronaVac e ChadOx-1, respectivamente, e 66,7% no grupo NE- ChadOx-1. Maiores níveis séricos de IgA foram encontrados somente no subgrupo EF - ChadOx-1 pós-vacinação do que pré-vacinação (p=0,0001). Além disso, significativa correlação positiva foi evidenciada somente entre os valores séricos de IgA e IgG no subgrupo EF – CoronaVac pós-vacinação (r=0,295 e p=0,046). As porcentagens de linfócitos TCD4 “naive” (CD28+CD57-) foram menores nos subgrupos EF - ChadOx-1 (p=0,0001) e CoronaVac (p=0,0231), enquanto as células TCD8 “naive” mostraram significativa redução apenas para no subgrupo EF - ChadOx-1 (p=0,0006) pós-vacinação. Quanto aos linfócitos TCD4 e TCD8 duplo positivos (CD28+CD57+), foi observado aumento significativo pós-vacinação em comparação aos valores pré-vacinação apenas para no subgrupo EF - ChadOx-1, tanto para linfócitos TCD4, (p=0,0045) quanto TCD8 (p=0,0172). Por fim, nenhuma diferença foi evidenciada nos linfócitos T senescentes (CD28-CD57+) no momento tanto pós-vacinação em comparação com os valores pré-vacinação. **Conclusões:** Os voluntários vacinados com ChadOx-1 apresentaram tanto melhor resposta de anticorpos quanto uma significativa modulação na porcentagem dos perfis de linfócitos T, principalmente no grupo previamente exercitado.

Palavras-chave: COVID-19, vacina, imunossenescência, anticorpos, linfócito.

ABSTRACT

Introduction: It is known that immunosenescence is a process that, due to the progressive decline in immune function associated with aging, leads to a reduction in the vaccine response in the elderly population, and this fact raises concern in the current pandemic situation caused by the SARS-CoV-2 virus, since, according to epidemiological data, this population is the most affected by COVID-19. Although our group has shown that elderly people who regularly exercise have a better response to vaccination, specifically against influenza, when compared to non-practicing or sedentary elderly people, the restrictions imposed by the pandemic changed the routine of this population and maintaining the regular practice of physical exercises by the elderly population has been a major challenge for everyone involved. Thus, the objective of this study was to evaluate the response to vaccination for COVID-19 in older adult population who maintained or not a physical exercise routine for at least 12 months before the pandemic. **Methods:** Older adult population, of both sexes, aged between 60 and 85 years, who maintained or not a regular routine of physical exercise for at least 12 months, before the beginning of the quarantine were invited to participate voluntarily in this study [EF group, n=69, subdivided into CoronaVac (n=46) and Chadox-1 (n=23)] or who did not practice physical exercises regularly, vaccinated with Chadox-1 (NEF, n= 24). Blood samples were collected before and 30 days after the administration of the second dose of the vaccine against COVID-19 (CoronaVac or ChadOx-1), to determine the serum levels of immunoglobulins A (IgA) and G (IgG) and the number of T lymphocytes, both CD4 and CD8, “naive” (CD28+CD57-), double positive (CD28+CD57+) and senescent (CD28-CD57+). **Results:** Higher serum IgG levels were observed in the 2 groups of older adult population participants in this study vaccinated with ChadOx-1 post-vaccination [subgroups: EF - ChadOx-1, $p=0.0002$; and the group NEF - ChadOx-1, $p=0.0012$] than pre-vaccination values. In terms of immunogenicity, the values found were: 39.1% and 56.5% in the subgroups EF - CoronaVac and ChadOx-1, respectively, and 66.7% in the group NE-ChadOx-1. Higher serum IgA levels were found only in the subgroup EF - ChadOx-1 postvaccination than pre-vaccination ($p=0.0001$). In addition, a significant positive correlation was evidenced only between the serum values of IgA and IgG in the subgroup EF – CoronaVac post-vaccination ($r=0.295$ and $p=0.046$). The percentages of CD4 T cells “naive” (CD28+CD57-) were lower in the subgroups EF - ChadOx-1 ($p=0.0001$) and CoronaVac ($p=0.0231$), whereas the CD8 T cells “naive” showed a significant reduction only in the subgroup EF - ChadOx-1 ($p=0.0006$) post-vaccination. A significant increase of CD4 T ($p=0.0045$) and CD8 T ($p=0.0172$) cells double positive (CD28+CD57+) was observed post-vaccination compared to pre-vaccination values only in the subgroup EF - ChadOx-1. Lastly, no difference was evidenced both in CD4 T and CD8 T cells senescent (CD28-CD57+) values found post-vaccination as compared to pre-vaccination values. **Conclusions:** The volunteers vaccinated with the ChadOx-1 presented not only a better antibody response but also a significant modulation in the percentage of T cell profiles, mainly in the pre-viously exercised group.

Keywords: COVID-19, vaccine, immunosenescence, antibodies, lymphocyte.

LISTA DE ABREVIATURAS

ACE2	Angiotensin Converting Enzyme 2
CD	Cluster of Differentiation
E	Envelope
EF	Exercício Físico
IgA	Imunoglobulina A
IgG	Imunoglobulina G
IL-2	Interleucina 2
IL-6	Interleucina 6
M	Membrana
N	Nucleocapsídeo
NEF	Não-Exercício Físico
OMS	Organização Mundial da Saúde
PCR	Proteína C Reativa
RBD	Receptor Binding Domain
RNA	Ribonucleic acid
S	Spike
SARS	Severe Acute Respiratory Syndrome
TNF- α	Interferon alfa

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fluxograma do desenho do estudo.....	23
Figura 2. Painel representativo de citometria de fluxo.....	26
Figura 3. Concentração total sérica de IgG.....	29
Figura 4. Concentração total sérica de IgA.....	30
Figura 5. Imunogenicidade da CoronaVac para IgA e IgG.....	31
Figura 6. Concentração total sérica e imunogenicidade de IgA e IgG do grupo ChadOx-1 (NEF).....	32
Figura 7. Concentração total sérica e imunogenicidade de IgA e IgG do grupo ChadOx-1 (EF).....	33
Figura 8. Correlação entre IgA e IgG dos voluntários do grupo EF.....	34
Figura 9. Porcentagem das células T naïve dos grupos EF.....	35
Figura 10. Porcentagem das células T CD28+CD57+ dos grupos EF.....	36
Figura 11. Porcentagem das células T senescentes dos grupos EF.....	37

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	12
2. OBJETIVOS.....	20
2.1 Objetivo geral	20
2.2 Objetivos específicos.....	20
3. MATERIAL E MÉTODOS	21
3.1. Design de estudo	21
3.2. Declaração ética	21
3.3. Critérios de Seleção dos Participantes	21
3.3.1 Critérios de Inclusão	21
3.3.2 Critérios de Exclusão.....	21
3.4 Cálculo do Tamanho da Amostra e Grupos Experimentais	22
3.5. Protocolo de intervenção de exercício.....	23
3.6. Vacinação.....	23
3.7 Coleta dos materiais biológicos	24
3.8 Avaliações laboratoriais	24
3.8.1 Determinação das Imunoglobulinas A e G específicas para o vírus SARS-CoV-2.....	24
3.8.2. Avaliação da imunofenotipagem e perfil das células T	25
3.9. Plano de Gestão dos Dados	26
3.10. Análise estatística	27
4. RESULTADOS	28
5. DISCUSSÃO.....	38
6. CONCLUSÕES.....	45
REFERÊNCIAS.....	46
ANEXOS	566

ANEXO A- Termo de consentimento livre e esclarecido	566
ANEXO B- Parecer consubstanciado do CEP.....	6060

1. INTRODUÇÃO

Coronaviridae compreendem uma grande família de vírus que podem ser a causa de quadros respiratórios em humanos, indo desde o resfriado comum até a síndrome respiratória aguda grave (SARS). A doença por coronavírus 19 ou a COVID-19 é causada pelo coronavírus zoonótico SARS-CoV-2 e foi identificada na China em dezembro de 2019. Após sua disseminação, em 11 de março de 2020, a Organização Mundial da Saúde (OMS) a declarou uma pandemia associada a COVID-19. Segundo dados da OMS, foram contabilizados mais de 660 milhões de casos confirmados e quase 7 milhões de óbitos por COVID-19, causando substancial pressão sobre os sistemas de saúde, além de efeitos negativos sobre a economia mundial.^{1,2,3}

O SARS-CoV-2 é um beta-coronavírus de material genético RNA de fita simples e sentido positivo não segmentado e envelopado, composto de algumas glicoproteínas estruturais e não estruturais, incluindo a spike (S), nucleocapsídeo (N), envelope (E) e membrana (M). A glicoproteína S é formada por duas subunidades funcionais: S1 e S2. A primeira subunidade é responsável pela ligação a um receptor de membrana na superfície da célula hospedeira, o receptor da enzima conversora da angiotensina 2 – ECA2. Já a segunda subunidade possui a função de proporcionar a fusão do vírus às membranas celulares. O domínio B da subunidade S1, por sua vez, é a região exata onde a proteína S liga-se, com alta afinidade, ao receptor ECA2. Esse domínio, também chamado de domínio de ligação ao receptor (RBD), interage com o receptor ECA2 da célula hospedeira, levando a endocitose.^{4,5} Após a entrada na célula, o RNA viral é liberado no citoplasma da célula e sofre tradução e replicação formando genomas descendentes e RNAm subgenômicos. Este último se traduz em proteínas de membrana, proteína N e uma variedade de proteínas acessórias. O SARS-CoV-2 possui sua própria enzima central chamada RNA polimerase dependente de RNA, que, juntamente com outras proteínas virais e celulares, compõe o principal complexo de replicação responsável pela replicação do genoma viral. As proteínas de membrana formadas (S, M e E) são então inseridas no retículo endoplasmático rugoso e são transportadas para o compartimento intermediário do retículo endoplasmático-golgi. As proteínas N junto com o RNA genômico formam então os nucleocapsídeos, que se fundem no retículo endoplasmático-golgi. Finalmente, o patógeno é transportado para a membrana plasmática e é exportado para fora da célula por exocitose.⁵

O novo coronavírus viaja, principalmente, em gotículas de saliva eliminadas na fala, espirros ou tosse. O contato com elas pode ocorrer de forma direta, de pessoa para pessoa, ou de forma indireta, quando encostamos em superfícies e objetos contaminados. O SARS-CoV-2 penetra pelas vias aéreas superiores, onde a infecção se inicia e, a partir desse ponto, segue para os pulmões e dissemina para outros órgãos que também possuem o receptor ECA2, tais como, coração, fígado, intestino, rins e sistema nervoso central, podendo causar lesão em múltiplos órgãos.⁶ Segundo dados,^{6,7} o período médio de incubação por coronavírus é de 05 dias, com intervalos que chegam a 12 dias e os sintomas podem variar desde um resfriado comum até quadros mais graves caracterizados pela síndrome respiratória aguda grave, podendo ainda apresentar, simultaneamente, coagulopatias, distúrbios neurológicos e resposta hiperflamatória sistêmica, conhecida como tempestade de citocinas ou “*Cytokine Storm*”. Estudos relatam que 20% das pessoas com COVID-19 apresentam casos graves e necessitam de hospitalização.^{6,8} Por outro lado, na maioria dos casos, os indivíduos têm poucos ou nenhum sintoma, sendo uma fonte de transmissão e representando um desafio para prevenir a disseminação da doença.⁸

Estudos apontam que a gravidade das manifestações clínicas e maior possibilidade de óbito estão relacionadas não somente a ocorrência da *Cytokine Storm*, ou Tempestade de Citocinas, induzida pela COVID-19, mas também à presença de doenças ou comorbidades, como: hipertensão, diabetes, obesidade e doença pulmonar obstrutiva crônica, bem como tabagismo e estar na faixa etária correspondente à idosos.^{6,7}

Com base no fato de que a resposta inflamatória pode estar envolvida na gravidade da infecção por SARS-CoV-2, dados epidemiológicos destacam que os idosos estão entre as populações mais afetadas pela COVID-19, em parte devido à presença de um fenômeno denominado “*Inflamaging*” que se caracteriza como um perfil inflamatório sistêmico crônico, estéril e de baixo grau e que pode favorecer essa população a apresentar as maiores taxas de doença grave e morte por infecção por SARS-CoV-2.⁹

De acordo com a literatura, a ocorrência de outro fenômeno denominado imunossenescência, que se caracteriza pela redução gradual e significativa das respostas imunes associadas ao envelhecimento, é um fator fundamental que também pode levar essa população a apresentar altas taxas de letalidade relacionadas a

COVID-19.^{10,11} Entre alguns aspectos, esse fenômeno está associado a um declínio significativo na quantidade e qualidade de anticorpos e células do sistema imune, desencadeando um aumento na incidência de doenças infecciosas, morbidade e mortalidade nessa população.^{9,12}

Neste ponto, vale salientar que a população idosa está crescendo drasticamente em todo o mundo.¹³ Segundo dados da Organização Mundial da Saúde, entre 2015 e 2050 a proporção da população mundial com mais de 60 anos quase dobrará de 12% para 22%.¹⁴ Projeções estatísticas das Nações Unidas mostram que uma em cada 9 pessoas no mundo tem 60 anos ou mais, e estima-se um crescimento para 1 em cada 5 por volta de 2050.¹⁵ Desta forma, fica evidente a relevância da ampliação do conhecimento acerca do envelhecimento, seus aspectos moleculares, celulares e sistêmicos, para melhor poder assistir essa população crescente.

Assim, entender os reais motivos pelo qual a população idosa se configura como uma das mais afetadas pela COVID-19 se torna preponderante. Neste sentido, estudos têm destacado que as diversas alterações presentes na imunossenescência podem estar diretamente envolvidas na maior vulnerabilidade desta população a infecção pelo SARS-CoV-2.^{16,17}

É amplamente aceito que dentre as implicações da imunossenescência sobre o sistema inato destacam-se principalmente o declínio na funcionalidade dos macrófagos, assim como as alterações na produção de citocinas pró e anti-inflamatórias, que levam ao *Inflammaging*. Além destes, os mais relevantes impactos do envelhecimento sobre o sistema adaptativo estão associados a uma redução de células T naive (CD28+CD57-) em oposição a um aumento em células T senescentes (CD28+CD57+), tanto para células TCD4+ como TCD8+. Alguns dos fatores que conduzem a alterações na atividade dos linfócitos T associadas com o envelhecimento incluem: mudanças na expressão de moléculas de superfície, alterações na sinalização intracelular, aumento na razão de apoptose e diminuição na capacidade proliferativa.^{6,16,17,18}

O processo de imunossenescência também tem expressivo impacto nos linfócitos B, os quais são responsáveis pela secreção de anticorpos específicos para um determinado antígeno. O envelhecimento está associado a um declínio no número e qualidade (capacidade de neutralização) dos linfócitos B, devido à diminuição na capacidade de diferenciação e alterações na sinalização intracelular. Entretanto,

alguns dados recentes têm sugerido que algumas das mudanças na funcionalidade dessas células não se devem a mudanças nelas mesmas, mas sim em mudanças em seu ambiente, tais como estimulação incompleta de outras células ou alterações nas citocinas circulantes.^{17,18, 19}

Dentre os aspectos mais bem estudados da imunossenescência está o aumento nos níveis circulatórios de citocinas inflamatórias como a interleucina (IL)-6, IL-1 β , o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e a proteína C reativa (PCR). Particularmente, tem sido reportado que aumento da PCR se relaciona com todas as causas de mortalidade, enquanto o aumento da IL-6 é considerado por alguns como um relevante preditor de mortalidade em idosos.^{18, 20}

Retornando ao foco da COVID-19, a primeira vacina candidata contra o SARS-CoV-2 começou seus testes em seres humanos em 16 de março de 2020, apenas 5 dias após ser declarada pandemia pela OMS.²³ Nunca antes a pesquisa científica caminhou de forma tão rápida e eficiente.

Centenas de vacinas foram e estão sendo desenvolvidas contra a COVID-19 por empresas e universidades em todo o mundo. De fato, foram testadas diferentes tecnologias, algumas das quais nunca haviam sido utilizadas antes. Vale salientar que algumas dessas vacinas visam a produção de anticorpos pelo sistema imune capazes de bloquear (neutralizar) efetivamente a ligação entre o RBD da glicoproteína S e o receptor ECA-2, impedindo a entrada do vírus à célula-alvo e sua replicação.^{4,22}

Dentre as vacinas amplamente utilizadas em todo mundo, inclusive no Brasil, destaca-se a produzida pela farmacêutica Pfizer em parceria com a BioNTech, a qual utiliza RNA mensageiro sintético que dá as instruções ao organismo para a produção de proteínas S encontradas na superfície do novo coronavírus, estimulando a resposta do sistema imune. Essa vacina entrou em uso no dia 8 de dezembro de 2020 no Reino Unido, menos de uma semana após a aprovação de seu uso emergencial, sendo esta a primeira vacina aprovada contra o novo coronavírus. Esta é uma das vacinas em atual uso no Brasil.^{23, 24}

Além desta, a vacina recombinante ChAdOx1 nCoV-19, utilizada também no Brasil, foi desenvolvida pela Universidade de Oxford em parceria com a farmacêutica AstraZeneca e consiste em um vetor não replicante de adenovírus de chimpanzé,

contendo o gene do antígeno da glicoproteína de superfície estrutural (*spike*) do SARS-CoV-2.^{25, 26}

De forma semelhante à vacina da Astrazeneca, a vacina Ad26.COV2.S, produzida pela Janssen, também disponibilizada para população brasileira, é uma vacina recombinante de vetor viral, utilizando um adenovírus humano não replicante que expressa a proteína *spike* do SARS-CoV-2. Foi a primeira vacina de dose única utilizada no Brasil e no mundo.²⁷

No Brasil, a vacinação contra o novo coronavírus teve início em 17 janeiro de 2021, no estado de São Paulo. A primeira vacina utilizada foi a CoronaVac, desenvolvida pelo laboratório chinês Sinovac em parceria com o Instituto Butantã. A CoronaVac foi criada por meio de uma tecnologia molecular já muito utilizada em outros imunizantes. Essa vacina é composta pelo vírus inativado, capaz de ser reconhecido pelo sistema imune para produção de defesas, porém sem capacidade de replicação.^{28, 29}

Entretanto, dados confirmam que o fator idade influencia na eficácia dos imunizantes Oxford/Astrazeneca e CoronaVac, gerando menor proteção contra o vírus na população idosa.³⁰

Além disso, o surgimento de várias novas variantes do SARS-CoV-2 ao longo da pandemia levantou preocupações sobre o impacto potencial nos esquemas de vacinação em andamento. Dados sugerem que as vacinas atuais permanecem altamente eficazes contra a variante alfa, enquanto algumas vacinas têm eficácia reduzida contra doença sintomática causada pela variante beta. Embora os dados sobre a eficácia do esquema primário contra ômicron sejam limitados, programas de reforço usando vacinas de mRNA demonstraram restaurar a proteção contra infecções e doença sintomática (independentemente da vacina usada para o esquema primário) e manter alta eficácia contra a hospitalização. No entanto, a eficácia contra infecções e doenças sintomáticas diminui com o tempo após a dose de reforço. Neste sentido, várias estratégias de mitigação estão sendo investigadas para abordar o potencial de eficácia ou eficácia reduzida contra variantes atuais e futuras do SARS-CoV-2, incluindo modificação de vacinas para certas variantes, formulações de vacinas multivalentes e diferentes mecanismos de administração.^{31, 32}

Sobre vacinas, vale pontuar que o grande desafio é desenvolver uma de forma que a resposta imunológica seja intensa o bastante para garantir um período longo de proteção, mas que não seja grave a ponto de causar efeitos colaterais acentuados, como lesão nos pulmões. As tecnologias vacinais baseiam-se, justamente, na estimulação do sistema imune e da produção de células de memória sem que o indivíduo tenha que ter contato direto com o patógeno em estado natural. Embora as vacinas com organismos atenuados costumam apresentar as melhores taxas de resposta imune; elas são também as que mais comumente desencadeiam sintomas, mesmo que leves. Várias outras estratégias, como as que utilizam o patógeno inativado, ou algumas de suas partes, costumam ser mais seguras, porém rotineiramente necessitam de doses de reforço para que a imunidade possa ser assegurada e mantida.^{22, 33}

Sabe-se que com a imunização, a proteção contra a infecção é mais frequentemente mediada por anticorpos específicos para vírus. Um grande problema é que as vacinas atuais apresentam eficácia reduzida em idosos, levando a uma alta taxa de infecções em indivíduos vacinados. Por exemplo, a vacina anual contra o vírus *Influenza*, causador da gripe, tem eficácia de apenas 40% a 50% em indivíduos mais velhos.³³ Os idosos também apresentam maiores taxas de complicações, como insuficiência cardíaca congestiva e doença pulmonar, resultando no aumento da taxa de hospitalização e morte após a infecção pelo vírus *Influenza*.³⁴ Além da gripe, respostas reduzidas em idosos foram observadas com vacinações para tétano, encefalite, hepatite e *Streptococcus pneumoniae*, todas cujo objetivo é gerar uma resposta protetora de anticorpos.³⁴

De acordo com a literatura, o declínio na produção de anticorpos após a vacinação em idosos pode estar associada à redução da expansão e diferenciação das células B específicas do antígeno, levando à produção de títulos reduzidos de IgG específica para o antígeno. Além disso, os anticorpos produzidos são de baixa qualidade devido à redução da mudança de classe e mutação somática nos genes da região variável, resultando em afinidade reduzida. Desta forma, os anticorpos produzidos por indivíduos mais velhos têm capacidade diminuída de neutralizar e opsonizar patógenos, resultando em menos proteção contra infecções.^{16, 34, 35}

Diante da situação que idosos apresentam menor capacidade de produzir anticorpos funcionais contra infecções, faz-se necessária intervenção com outras

terapias conjuntas à vacinação, como por exemplo, a prática regular de exercício físico. O exercício físico é considerado como uma terapia não medicamentosa que tem recebido grande atenção científica nos últimos tempos. Quando comparado com outras terapias, o exercício físico é preferencialmente empregado, devido ao menor custo e facilidade de implementação. Diversos estudos têm constatado que a prática regular de exercício físico tende a amenizar os efeitos deletérios causados pelo envelhecimento sobre o sistema imune. Além disso, o exercício físico também pode ter um impacto benéfico em outros tipos de doenças crônicas como artrites, doenças cardíacas, diabetes, osteoporose e doenças pulmonares.^{36,37} Em estudo de Dreia e colaboradores, a atividade física moderada a longo prazo gerou um aumento da produção de IL-2 e melhorou o estado do sistema imune frente à senescência.³⁸ Já num estudo realizado por Timmermam e colaboradores, a atividade física foi associada com menor porcentagem de monócitos CD14+ e CD16+ em idosos treinados, causando uma melhora no perfil inflamatório desses idosos, uma vez que esses monócitos estão associados a produção de citocinas pró-inflamatórias.³⁹ Os achados de Nieman e colaboradores demonstram que o exercício de caminhada durante 12 semanas mostrou um significativo aumento na atividade das células *Natural Killer* e na função das células T em idosas previamente condicionadas, quando comparado com idosas sedentárias, mas permaneceu em níveis mais baixos em relação a mulheres jovens sedentárias.⁴⁰

Vale destacar que nosso grupo de pesquisa tem mostrado que idosos praticantes regulares de exercícios físicos em intensidade moderada apresentam melhor resposta de anticorpos à vacinação contra o vírus *Influenza*, tanto sistemicamente como na mucosa das vias aéreas superiores, quando comparados a idosos não praticantes e sedentários.^{41,42,43}

Embora estas informações nos permitam balizar estratégias e intervenções para melhorar a resposta de idosos a vacinação, devido às restrições impostas pela pandemia, especialmente aos idosos, manter a prática regular de exercícios físicos se tornou uma dificuldade. Neste sentido, uma pergunta ainda sem resposta é: a prática regular de exercícios físicos, mesmo sendo descontinuada, ainda é capaz de favorecer a ativação da resposta imune contra a vacinação?

Vale a pena salientar que a cada dia muitas questões são levantadas e, uma em especial tem ganhado espaço e se relaciona a possível necessidade de

aprendermos a conviver com esse vírus, pois embora haja esperança que essa pandemia seja controlada num futuro próximo, surtos inesperados e o desenvolvimento de resistência à tratamentos e vacinas são altamente possíveis devido a mutações e variantes do vírus. Desta forma, fica evidente que a avaliação das respostas imunes sistêmicas em idosos que mantiveram uma rotina regular de exercícios físicos antes do isolamento social imposto pela COVID-19 pode fornecer dados que nos permitam avançar no entendimento de como podemos gerar uma eficiente proteção à infecção pelo SARS-CoV-2.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar a resposta imune sistêmica para a vacina contra o SARS-CoV-2 em idosos que mantinham ou não uma rotina regular de exercícios físicos anteriores à pandemia.

2.2 Objetivos específicos

Propõe-se avaliar:

- os níveis das imunoglobulinas A e G específicas para SARS-CoV-2;
- o número de linfócitos T “naive” (CD28+CD57-);
- o número de linfócitos T duplo positivos (CD28+CD57+);
- o número de linfócitos T senescentes (CD28-CD57+).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Design de estudo

Este é um estudo multifatorial, intervencional e prospectivo pré-pós de 3 braços controlado, envolvendo idosos (com idade entre 60 e 85 anos) vacinados contra COVID-19 e envolvidos ou não em um programa de treinamento físico combinado por, pelo menos, 12 meses antes do isolamento social imposto pela COVID-19. Os voluntários de ambos os sexos foram recrutados na Disciplina de Geriatria e Gerontologia da Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP) ou no Hospital Geriátrico e de Convalescentes Dom Pedro II, pertencente à Secretaria de Saúde do Estado de São Paulo. Os dados e amostras de sangue foram coletados entre janeiro e fevereiro de 2021 (antes da administração da primeira dose da vacina para COVID-19) e entre março e abril de 2021 (30 dias após administração da segunda dose da vacina CoronaVac) ou entre maio e junho de 2021 (30 dias após a administração da segunda dose da vacina ChadOx-1).

3.2. Declaração ética

Todos os voluntários que manifestaram interesse em participar do estudo foram orientados a assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), disponível em Anexo A, já aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Santo Amaro (UNISA), número 4.951.537 (Anexo B). O estudo seguiu as orientações da Declaração de Helsinque para pesquisa com seres humanos.

3.3. Critérios de Seleção dos Participantes

3.3.1 Critérios de Inclusão

- Participar do estudo espontaneamente
- Ter idade entre 60 e 85 anos no momento do recrutamento;
- Aceitar ser imunizado contra o SARS-CoV-2;
- Concordar em participar da pesquisa.

3.3.2 Critérios de Exclusão

- Ter recebido o diagnóstico de qualquer tipo de doença severa mental ou física ou apresentar infecções agudas ou crônicas, neoplasias ou doença hepática e renal.
- Estar submetido à corticoterapia ou fazer uso de qualquer outro medicamento anti-inflamatório em alguma fase do estudo.
- Estar submetido à terapia com plasma convalescente em alguma fase do estudo.
- Não comparecer a uma etapa de coleta de amostras biológicas.

3.4 Cálculo do Tamanho da Amostra e Grupos Experimentais

Embora esse desenho experimental tenha sido planejado como um estudo experimental naturalista e exploratório, o cálculo amostral foi realizado para estabelecer um número mínimo de participantes por grupo. Usando o programa de software G*Power, o tamanho da amostra e o poder estatístico foram estimados com base no teste T de *Student*, tamanho do efeito (0,30) no nível α (0,05), poder estatístico de 0,95 e três grupos com duas medidas (pré-pos). Considerando uma margem de 30% de perdas ou recusas, foi considerado um mínimo de 22 indivíduos por grupo. Conforme o fluxograma (Figura 1), inicialmente foram convidados a participar do estudo um total de 102 idosos da comunidade. Juntamente com a equipe médica e acadêmica, e guiados por critérios de seleção de participantes previamente determinados, nossa equipe de pesquisa recrutou 93 voluntários, que foram separados em três subgrupos de acordo com o tipo de vacina recebida e sua adesão ao programa de exercícios físicos antes da pandemia. Os seguintes grupos foram gerados a partir da análise final da amostra: (I) dois grupos, um composto por idosos previamente engajados em um programa de exercício físico (EF) que foram vacinados com CoronaVac (n = 46), e outro grupo composto por idosos vacinados com ChadOx-1 (n = 23); (II) um grupo de idosos não praticantes de exercício físico (NEF) e vacinados com a vacina ChadOx-1 (n = 24).

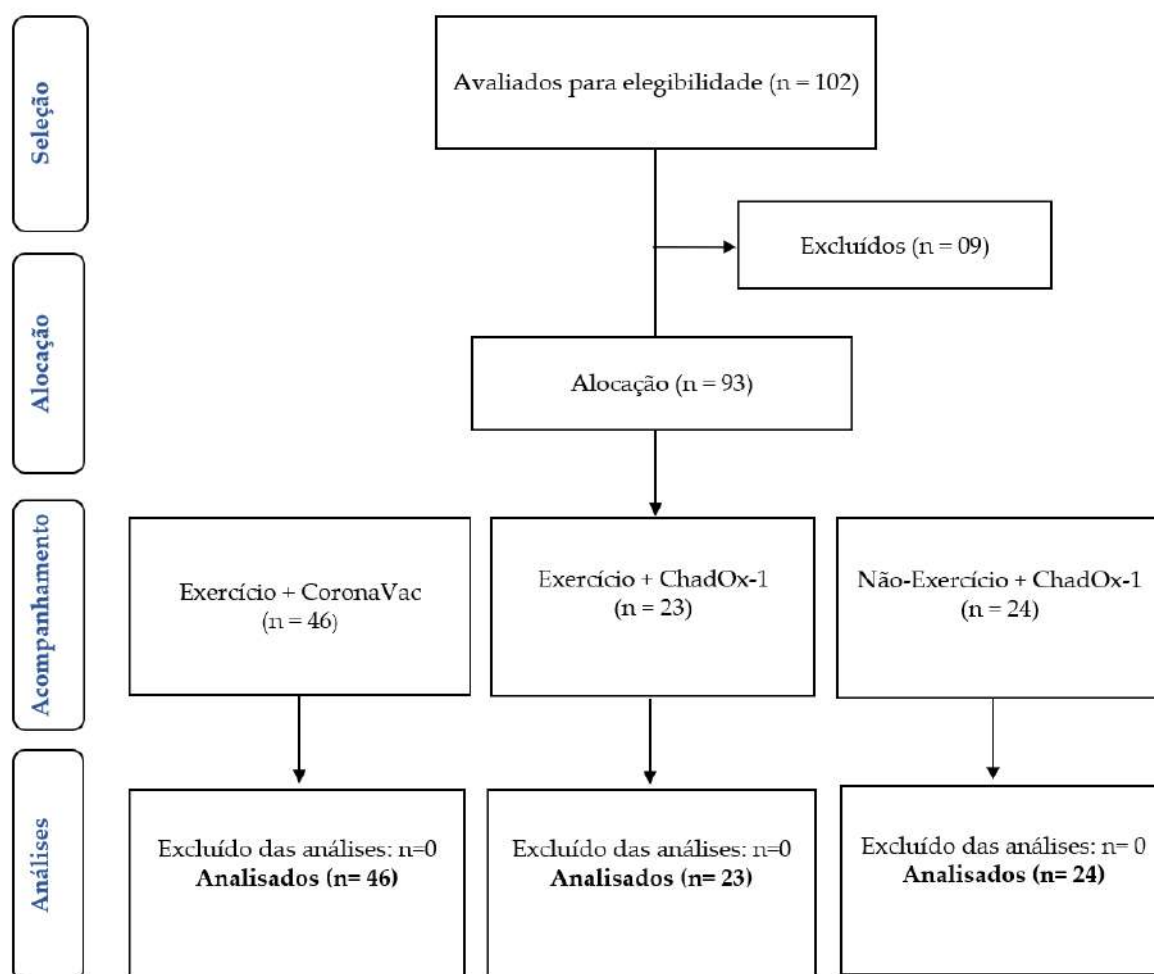


Figura 1. Fluxograma do desenho do estudo.

3.5. Protocolo de intervenção de exercício

Detalhes específicos sobre o programa de treinamento físico realizado pelos voluntários idosos que compuseram o grupo EF podem ser evidenciados em nossos relatos anteriores.^{41,42} Resumidamente, essa população realizou o seguinte programa que consistia em uma combinação de exercícios aeróbicos e resistidos contínuos. Cada sessão teve duração de 60-75 min, realizadas três vezes por semana em dias alternados, em monitoração de intensidade moderada por avaliação por meio de frequencímetro (marca Polar, modelo FT1, Polar-Finlândia) e pela Escala de Borg de Esforço Percebido. Todos realizaram o programa por, no mínimo, 48 semanas (12 meses), e foram supervisionados pelo mesmo profissional de educação física.

3.6. Vacinação

De acordo com o calendário vacinal inicialmente proposto para a população idosa pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), em Janeiro-Feveireiro de 2021, essa população poderia ser imunizada exclusivamente com CoronaVac ou ChadOx-1. Com base nele, os voluntários inscritos neste estudo foram imunizados com as vacinas para COVID-19 disponíveis pelo Sistema Único de Saúde (SUS). Vale esclarecer que, nesse momento, conforme descrito anteriormente, todos os voluntários foram submetidos a duas doses da mesma vacina, sendo que, para a CoronaVac o intervalo entre a primeira e a segunda dose foi em torno de 28 dias, e para a ChadOx -1, foi em torno de 120 dias.

3.7 Coleta dos materiais biológicos

As amostras de sangue periférico foram coletadas em jejum e em tubos apropriados para obtenção do soro e células mononucleares do sangue periférico em dois momentos distintos: antes e 30 dias depois da administração da segunda dose da vacina para COVID-19.

Alíquotas de soro (mínimo de 500µL) foram obtidas após coagulação do sangue no próprio tubo de coleta e centrifugação a 2500rpm por 10 minutos a 4°C, sendo posteriormente congeladas a -80°C para posterior determinação das concentrações das imunoglobulinas A e G.

Outras amostras de sangue periférico foram coletadas em tubo com anticoagulante EDTA para avaliação da imunofenotipagem. Neste último caso, o sangue foi diluído 1:1 em PBS (1x, pH=7,4), sendo a mistura adicionada a tubos contendo Histopaque (gradiente de densidade de 1.077, Sigma) e então submetida a centrifugação a 4°C por 30 minutos. Após esta etapa, o *pool* de células obtido, correspondente a fração dos leucócitos, foi isolado, lavado em PBS (1x, pH=7,4) e novamente submetido a centrifugação a 4°C por 10 minutos. Em seguida, 1×10^6 células foram misturados com 1mL de meio de congelamento (90% de soro fetal bovino + 10% de DMSO) e então armazenados em nitrogênio líquido para posterior determinação da imunofenotipagem e o perfil de ativação das células T.

3.8 Avaliações laboratoriais

3.8.1 Determinação das Imunoglobulinas A e G específicas para o vírus SARS-CoV-2

A concentração da IgA e IgG específicas para o SARS-CoV-2 foi determinada através da técnica de ELISA em amostras de soro obtidas antes e depois da vacinação. As placas de reação foram sensibilizadas com a melhor concentração de antígenos N, M e S do SARS-CoV-2 (0,12µg/mL). As amostras foram diluídas (1:2.000 para IgA e 1:5.000 para IgG) em tampão PBS-tween 0,1% contendo 1M NaCl e adicionadas a placa previamente sensibilizada e bloqueada, deixando-se incubar durante pelo menos 2 horas a 37°C. Após essa etapa de incubação e lavagem de cada poço da placa, conjugados anti-IgA (1:2.000) e anti-IgG (1:10.000) para humanos foram adicionados à placa e a mesma mantida 1 hora a 37°C. Após este tempo, nova etapa de lavagem foi realizada e a reação foi avaliada pela adição de uma solução de tampão citrato (pH 4,3) acrescido de OPD e H₂O₂ a cada poço da placa. Em seguida a reação foi parada com a adição de solução de H₂SO₄ 2N. A leitura da reação foi realizada a 492nm em um leitor de microplaca (Labsystem Multiskan MS).

3.8.2. Avaliação da imunofenotipagem e perfil das células T

Para a avaliação da imunofenotipagem, as células mononucleares do sangue periférico, previamente armazenadas conforme descrito no item 3.2 desta seção, foram retiradas do nitrogênio líquido e após seu descongelamento, a mistura de células e solução de congelamento foi adicionada a tubos Falcon® de 15mL contendo, no mínimo, 9mL de PBS (1x, pH=7,4). Logo após, os tubos foram submetidos a centrifugação a 4°C por 10 minutos a 2000rpm. Após a centrifugação, o sobrenadante será descartado e o *pellet* correspondente as células foi transferido para tubos *ependorf's* de 1,5mL junto com *MACS Buffer* [PBS (1x, pH=7,4) contendo albumina do soro bovino (0,5%) e EDTA (2mM)], respeitando o volume final de 250µL. Logo após, as células foram incubadas com o mix de anticorpos monoclonais para avaliação da imunofenotipagem associada ao perfil de ativação de células tanto TCD4 e TCD8, além das moléculas CD28 e CD57, como descrito na figura 2. As células foram incubadas no escuro a 4°C por 30 minutos e, logo após, submetidas a duas lavagens sucessivas com *MACS Buffer*. Por fim as células foram submetidas à citometria de fluxo.

A aquisição dos dados foi realizada no citometro de fluxo (*Becton Dickinson Immunodiagnostic Systems*, San Jose, CA, EUA) e os dados gerados foram analisados no programa FlowJo (TreeStar, San Carlos, California, USA). A definição dos *gates* serão baseadas na análise do FMO (*Fluorescente MinusOne*).

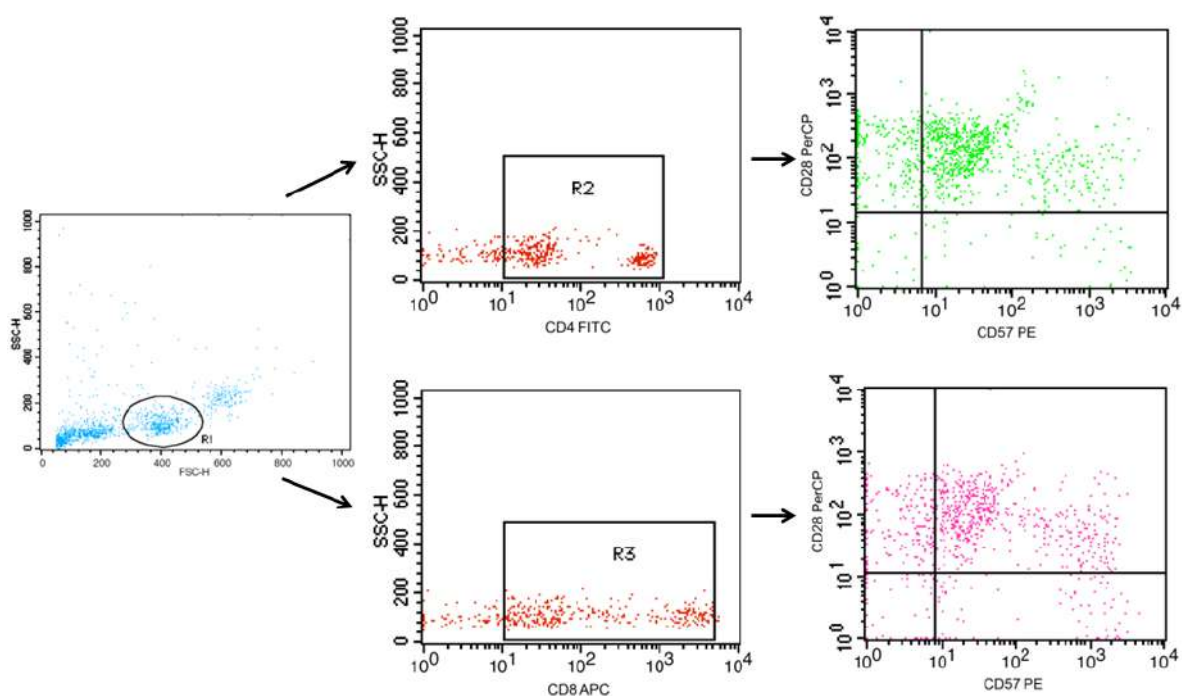


Figura 2. Gráficos de pontos representativos de um painel de citometria de fluxo usado para a detecção de células TCD4+ e células TCD8+ associadas ao perfil “naïve” (CD28+CD57-), duplo-positivo (CD28+CD57+) e senescente (CD28-CD57-). PBMCs foram marcados com anticorpos específicos para reconhecimento das proteínas de superfície CD4, CD8, CD28 e CD57.

3.9. Plano de Gestão dos Dados

Realizou-se uma estratégia personalizada de gestão dos dados que se iniciou pela identificação das demandas baseadas nas evidências oriundas das fontes de dados coletadas durante o desenvolvimento do projeto. Para isso, foi utilizado o programa Microsoft Excel® como repositório e Banco de Dados devido à facilidade de manuseio e conhecimento dos profissionais envolvidos no projeto. Em seguida, a exploração dos dados, deu-se por meio de uma variedade de ângulos com a intenção de determinar limitações e/ou insuficiências escondidas que pudessem impactar de forma negativa sobre os resultados, além de tendências e oportunidades que gerassem um maior valor aos desfechos de interesse do projeto. Por fim, os dados obtidos passaram por um processo de limpeza e padronização, exploração e análise por meio do domínio de estruturas do Excel® para Banco de Dados, seguida por análises e confecção de gráficos/figuras através do programa GraphPad Prism v8.1.2. Vale destacar que todos os dados ficaram em arquivos compartilhados na nuvem (Programa GoogleDrive) entre os pesquisadores envolvidos no projeto.

3.10. Análise estatística

Inicialmente, os dados obtidos foram comparados com a curva de Gauss e a normalidade de cada determinada pelo teste de *Shapiro-Wilk*. Além disso, a homogeneidade da variância foi avaliada pelo teste de *Levene*. Como todas as variáveis apresentaram comportamento não paramétrico, foram representadas por mediana e intervalos interquartis. Além disso, as comparações intragrupos foram feitas pelo teste de *Wilcoxon*, enquanto as avaliações intergrupos foram feitas pelo teste de *Kruskal-Wallis* com pós-teste de *Müller-Dunn*. O teste do coeficiente de correlação de *Spearman* foi utilizado para avaliar a existência de correlação entre as variáveis estudadas. Por fim, também foi realizada a análise de regressão multivariada ajustada para idade. Para todas as análises foi considerado o risco α de 5% ($p \leq 0,05$).

4. RESULTADOS

Na tabela 1 são apresentados os dados antropométricos referentes aos voluntários do grupo EF e do grupo NEF submetidos à vacinação com CoronaVac ou ChadOx-1, bem como o número de mulheres e homens que compuseram esses grupos. Pode-se observar que apenas o número de mulheres e homens nos subgrupos apresentou diferença significativa.

Tabela 1. Dados antropométricos, apresentados em média e desvio padrão ($X \pm SD$) dos voluntários participantes do presente estudo.

	Grupo Exercício Físico (EF)		Grupo Não- Exercício Físico (NEF)	Valor de <i>p</i>
	Vacina CoronaVac (<i>n</i> = 46)	Vacina ChadOx-1 (<i>n</i> = 23)	Vacina ChadOx-1 (<i>n</i> = 24)	
Idade (anos)	74.4 ± 3.9	75.3 ± 9.1	75.6 ± 7.9	>0.05
Mulheres (n)	34	18	06	<0.0001
Homens (n)	12	05	18	<0.0265
Altura (m)	1.57 ± 0.1	1.57 ± 0.08	1.56 ± 0.09	>0.05
Peso (kg)	63.4 ± 12.2	65.9 ± 12.7	66.7 ± 16.6	>0.05
IMC (kg/m ²)	25.9 ± 4.6	26.7 ± 5.3	27.4 ± 6.2	>0.05

Na figura 3 é apresentado a comparação entre os resultados referentes as concentrações totais séricas de IgG obtidos de idosos vacinados com ChadOx-1 e CoronaVac, independente da separação em grupos EF e NEF. É possível observar que os níveis totais de IgG pós-vacinação aumentaram de forma significativa quando comparados aos valores pré-vacinação para aqueles vacinados com ChadOx-1 ($p=0,0004$), porém aqueles vacinados com CoronaVac não demonstraram diferença significativa ($p=0,4764$). Vale salientar que no momento pré-vacinação alguns voluntários apresentavam anticorpos, o que nos permite sugerir que tiveram contato com o SARS-CoV-2, mas foram assintomáticos para COVID-19.

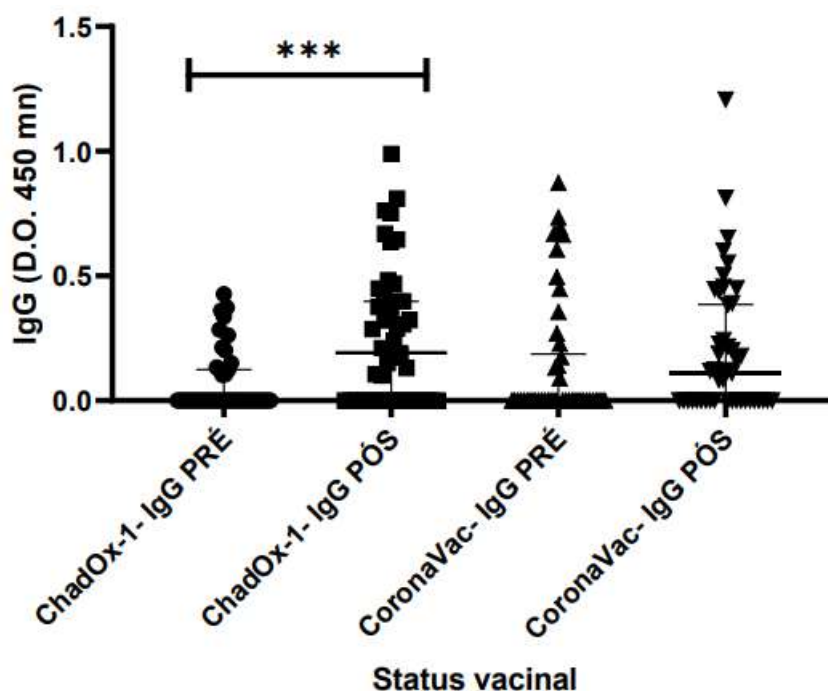


Figura 3. Variação da concentração total sérica de IgG (D.O. 450nm) nos voluntários idosos participantes do estudo antes (pré) e após 30 dias da administração da segunda dose (pós) da vacina ChadOx-1 e CoronaVac, independente da prévia prática regular, ou não, de exercício físico. Os dados são apresentados com em mediana e intervalo interquartil. *** $p < 0,001$.

A Figura 4 mostra os resultados referentes as concentrações totais séricas de IgA obtidos nos voluntários idosos vacinados com ChadOx-1 e CoronaVac, independente dos grupos EF e NEF. De maneira semelhante ao observado para IgG, os níveis totais séricos de IgA pós-vacinação aumentaram de forma significativa quando comparados aos valores pré-vacinação para aqueles vacinados com ChadOx1 ($p=0,0006$) enquanto o grupo vacinado com CoronaVac não demonstrou diferença para as concentrações desse anticorpo ($p>0,9999$). Corroborando a sugestão anterior, alguns voluntários apresentaram níveis de IgA antes da vacinação.

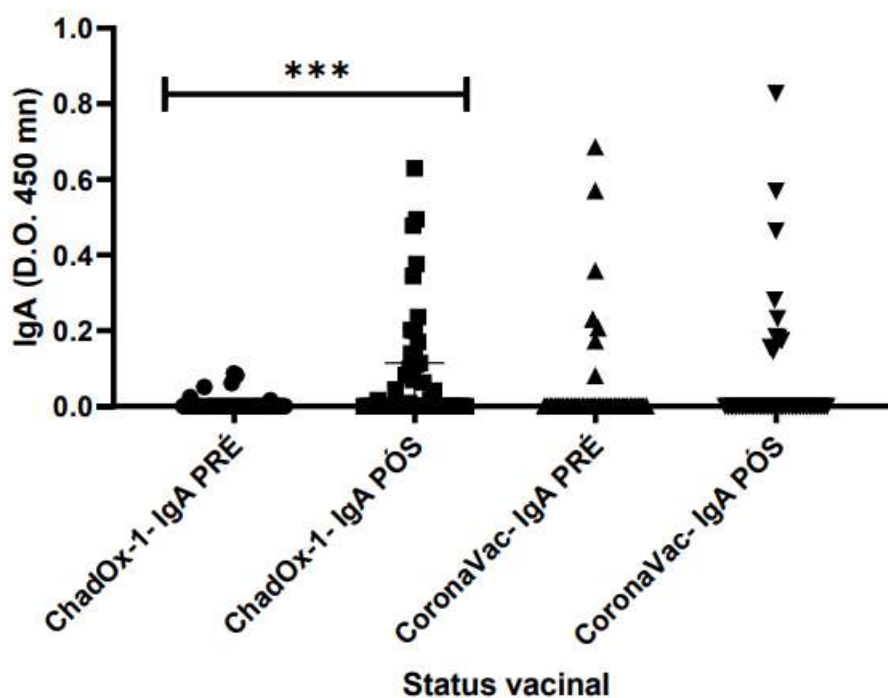


Figura 4. Variação da concentração total sérica de IgA (D.O. 450nm) nos voluntários idosos participantes do estudo antes (pré) e após 30 dias da administração da segunda dose (pós) da vacina ChadOx-1 e CoronaVac, independente da prévia prática regular, ou não, de exercício físico. Os dados são apresentados com em mediana e intervalo interquartil. *** $p < 0,001$.

Tendo em conta que a vacina CoronaVac foi aplicada exclusivamente em um subgrupo de voluntários do grupo EF, os dados relacionados a concentração total sérica de IgG e IgA já foram apresentados nas Figuras 3 e 4 e mostram que não houve diferença significativa nos seus níveis pós-vacinação em relação aos valores observados pré-vacinação.

Já, a figura 5 a seguir apresenta os resultados referentes a avaliação da imunogenicidade relacionada a resposta sérica tanto de IgG (Figura 5A) quanto IgA (Figura 5B) obtida no grupo de idosos submetidos a vacinação com CoronaVac. De acordo com os dados apresentados na Figura 5A, com relação à IgG, pode-se observar que 39,1% responderam a vacinação, enquanto 39,1% não responderam, e 21,8% tiveram queda nas concentrações totais séricas desse anticorpo pós-vacinação em comparação aos valores pré-vacinação. Já, em relação à IgA (Figura 5B), pode-se observar que apenas 19,6% responderam a vacinação, enquanto 71,7% não responderam, e 8,7% tiveram queda nas concentrações totais séricas de IgA pós-vacinação em comparação aos valores pré-vacinação.

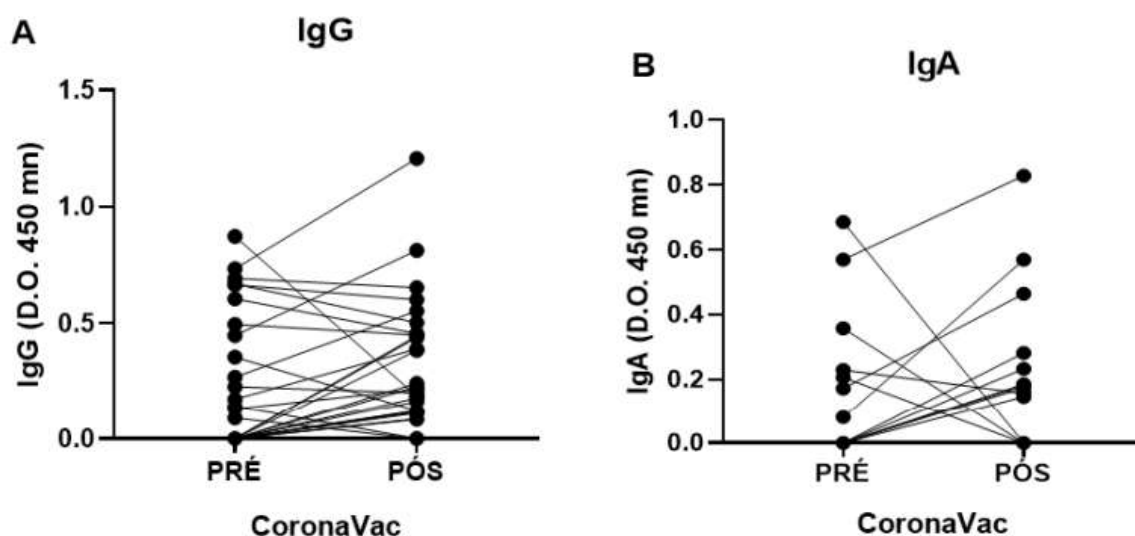


Figura 5. Avaliação da imunogenicidade relacionada às concentrações totais séricas de IgG (A) e IgA (B) nos idosos participantes do estudo antes (pré) e após (pós) 30 dias da administração da segunda dose da vacina CoronaVac.

Além destas avaliações e, no intuito de responder aos objetivos deste estudo, a seguir apresentamos os resultados obtidos nas avaliações das repostas vacinais dos voluntários idosos separados em grupos EF e NEF.

Na Figura 6 são apresentados os resultados referentes tanto as concentrações totais séricas de IgG (Figura 6A) e IgA (Figura 6C) quanto a imunogenicidade relacionada a IgG (Figura 6B) e IgA (Figura 6D) obtidos no grupo NEF submetidos à vacinação com ChadOx-1. Vale neste momento salientar que, conforme relatado anteriormente, os voluntários deste grupo foram vacinados somente com ChadOx-1. É possível observar na Figura 6A que os níveis totais séricos de IgG pós-vacinação aumentaram de forma significativa quando comparados aos valores pré-vacinação ($p=0,0012$), enquanto os níveis totais séricos IgA pós-vacinação apresentaram tendência ao aumento em relação aos valores pré-vacinação ($p=0,0645$). Já, em se tratando da imunogenicidade para IgG, pôde-se observar que 66,7% responderam a vacinação, enquanto 20,8% não responderam, e 12,5% tiveram queda nas concentrações desse anticorpo (Figura 6B). Sobre a imunogenicidade para IgA observou-se que 33,33% responderam a vacinação, enquanto 58,33% não responderam, e 8,33% tiveram queda nas concentrações desse anticorpo.

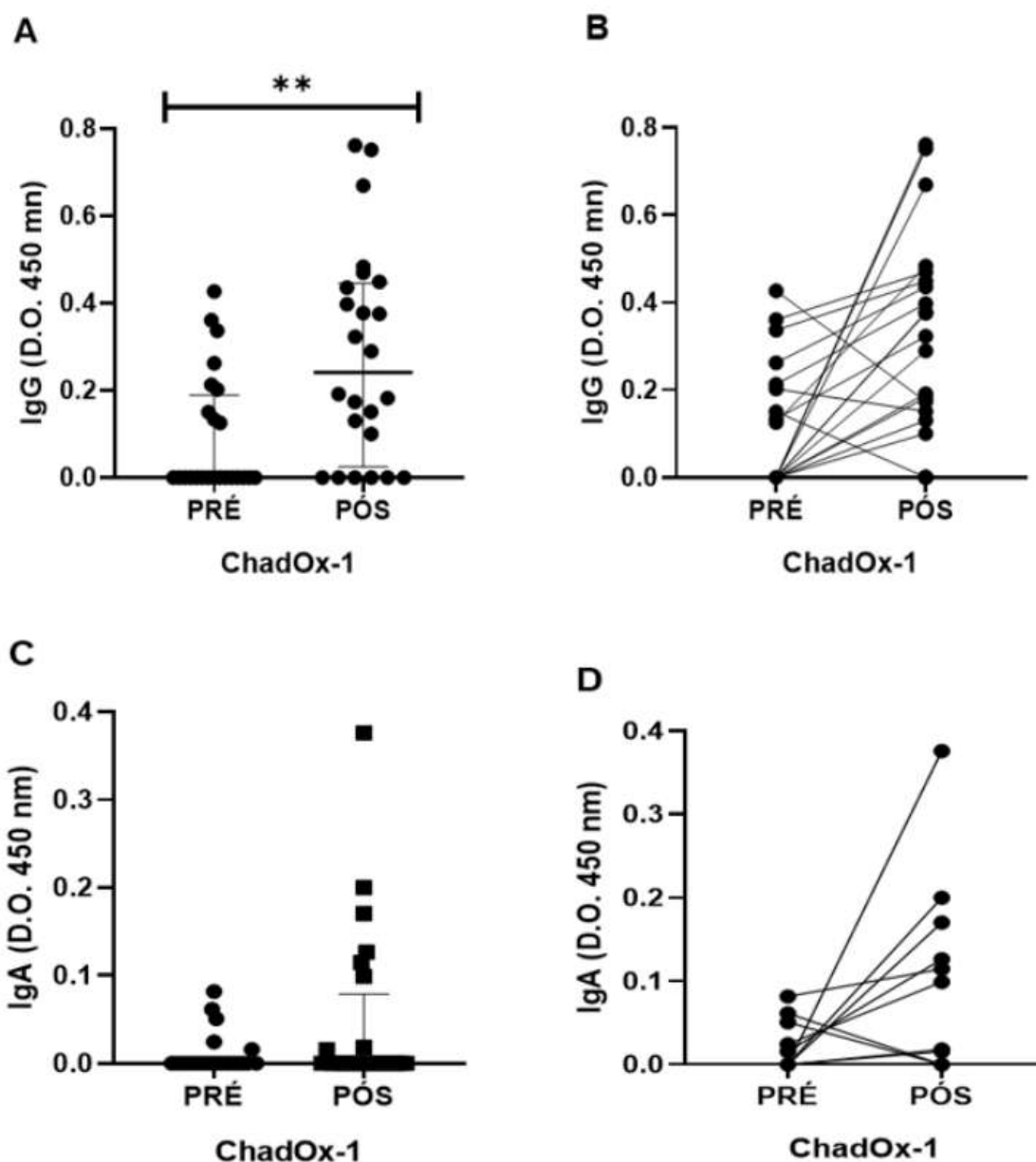


Figura 6. Variação da concentração total sérica de IgG (A, D.O. 450nm) e IgA (C, D.O. 450nm), além da avaliação da imunogenicidade relacionada às concentrações totais séricas de IgG (B) e IgA (D) nos voluntários idosos do grupo NEF antes (pré) e após 30 dias da administração da segunda dose (pós) da vacina ChadOx-1. **p <0,01.

A Figura 7 mostra os resultados relativos tanto as concentrações totais séricas de IgG (Figura 7A) e de IgA (Figura 7C) quanto a imunogenicidade relacionada a IgG (Figura 7B) e IgA (Figura 7D) obtidos no grupo EF submetidos à vacinação com ChadOx-1. Com relação aos níveis totais séricos dos anticorpos IgG (Figura 7A) e IgA (Figura 7C) foi possível observar aumento significativo desses anticorpos pós-vacinação quando comparados aos valores obtidos pré-vacinação ($p=0,0002$ e $p=0,0001$, respectivamente). Sobre a imunogenicidade para IgG (Figura 7B), pôde-se

observar que 56,5% responderam e 43,5% não responderam a vacinação, enquanto para IgA (Figura 7D), 60,9% responderam e 39,1% não responderam a vacinação.

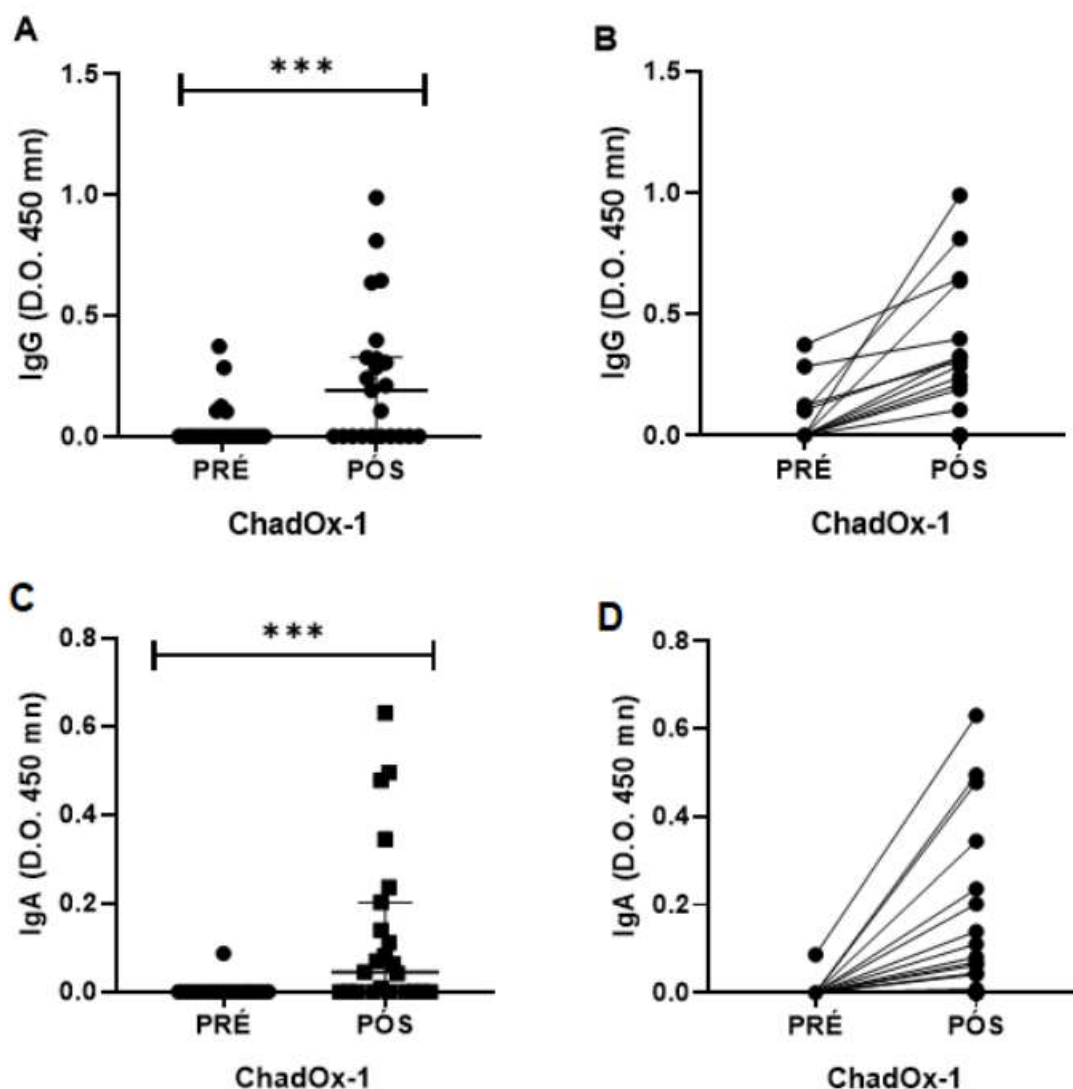


Figura 7. Variação da concentração total sérica de IgG (A, D.O. 450nm) e IgA (C, D.O. 450nm), além da avaliação da imunogenicidade relacionada às concentrações totais séricas de IgG (B) e IgA (D) nos voluntários idosos do grupo EF antes (pré) e após 30 dias da administração da segunda dose (pós) da vacina ChadOx-1. *** $p < 0,001$.

No intuito de verificar a dinâmica de produção dos anticorpos IgA e IgG tanto antes (pré) quanto 30 dias após a administração da segunda dose das vacinas CoronaVac e ChadOx-1 (pós) nos grupos de voluntários participantes do estudo, foi realizado a avaliação do coeficiente de correlação de *Spearman*. Conforme se observa na Figura 8, apenas o subgrupo EF vacinado com CoronaVac (Figura 8B) mostrou uma significativa correlação positiva no momento pós-vacinação entre os valores séricos de IgA e IgG.

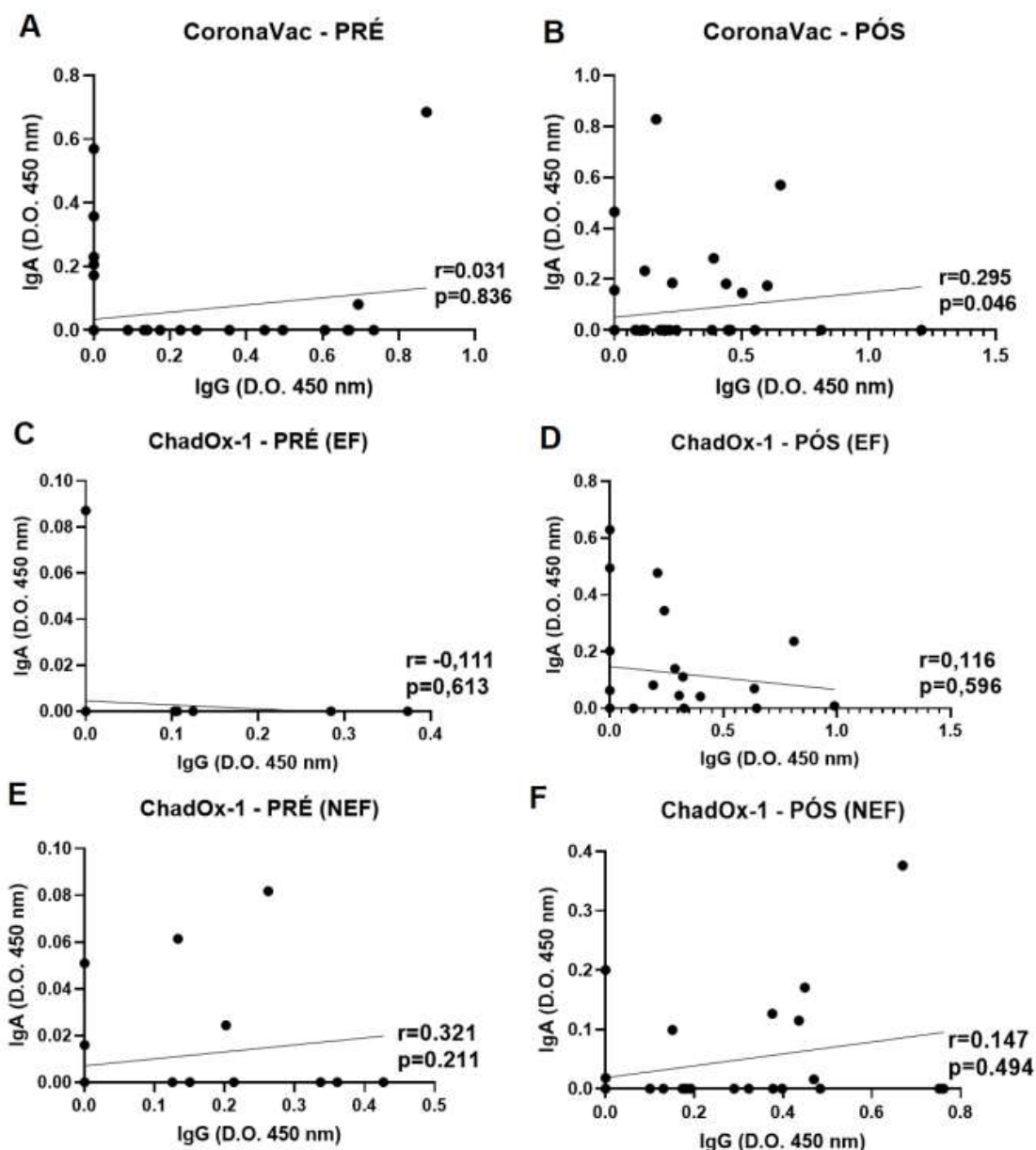


Figura 8. Avaliação do coeficiente de correlação de Spearman entre os valores séricos de IgA e IgG nos voluntários idosos do grupo EF antes (pré, A, C e E) e após 30 dias da administração da segunda dose (pós, B, D e F) da vacina CoronaVac (A e B) ou ChadOx-1 (EF – C e D; NEF – E e F).

Além da avaliação da resposta de anticorpos à vacinação para COVID-19, também foi objetivo deste estudo analisar a porcentagem de linfócitos TCD4 e TCD8 tanto “naive” quanto senescentes antes e 30 dias após a administração da segunda dose das vacinas CoronaVac e ChadOx-1. Contudo, é importante salientar que essa análise ficou restrita aos voluntários do grupo EF, pois infelizmente não foi possível obter as células dos voluntários do grupo NEF.

Conforme apresentado na Figura 9, menores porcentagens de linfócitos TCD4+CD28+CD57- (“naive”) foram observadas nos voluntários do grupo EF

submetidos à vacinação tanto com ChadOx-1 (Figura 9A, $p=0,0001$) quanto CoronaVac (Figura 9B, $p=0,0231$) pós-vacinação do que os valores pré-vacinação. Já, em relação às porcentagens dos linfócitos TCD8+CD28+CD57-, significativa redução da porcentagem destas células foi observada somente no subgrupo de idosos vacinados com ChadOx-1 (Figura 9C, $p=0,0006$) pós-vacinação quando comparados valores pré-vacinação, enquanto nenhuma alteração significativa foi evidenciada no subgrupo de idosos vacinados com CoronaVac (Figura 9D, $p=0,4836$).

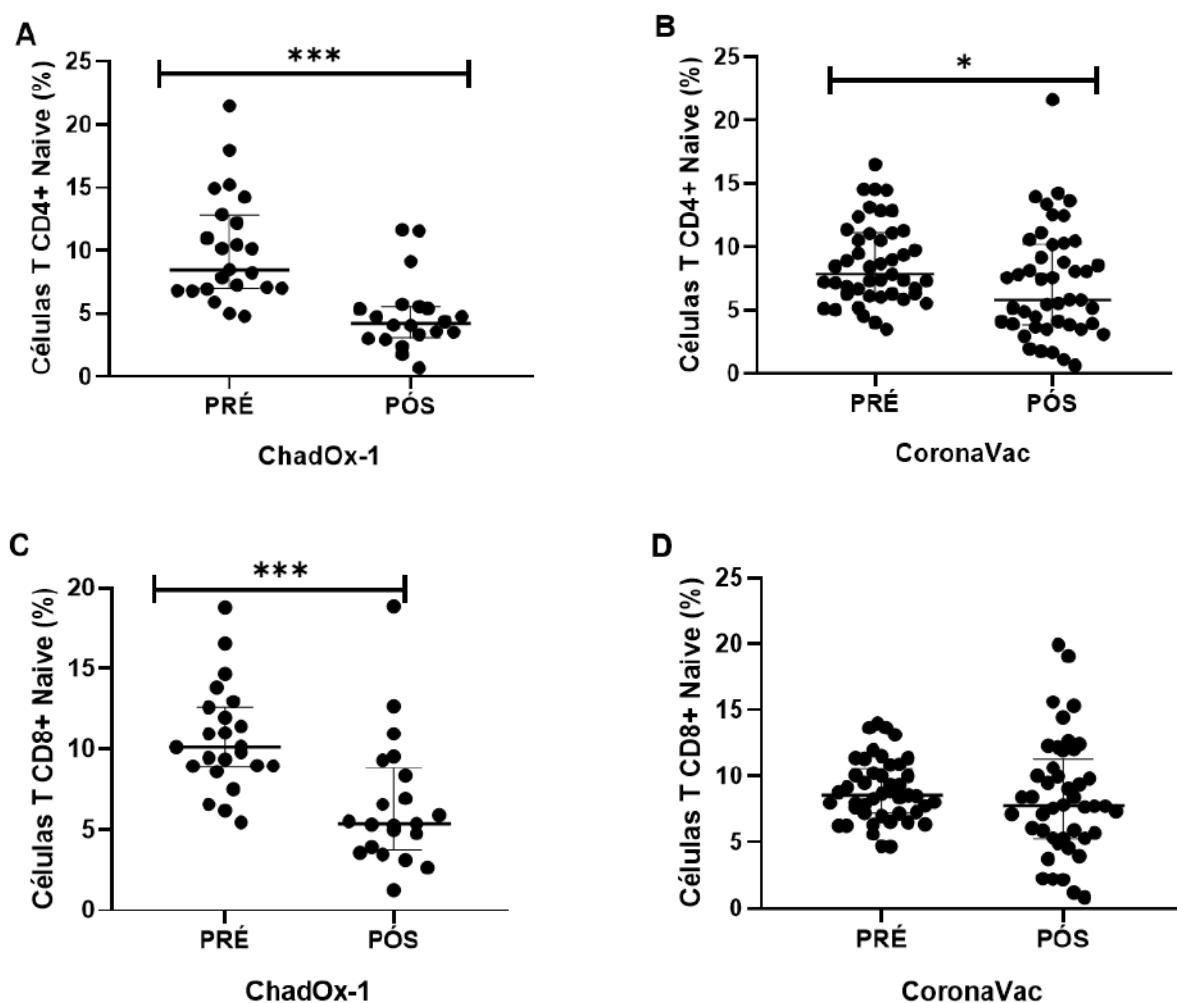


Figura 9. Porcentagem de linfócitos TCD4+CD28+CD57- (A e B) e linfócitos TCD8+CD28+CD57- (C e D) nos voluntários idosos grupos EF, antes (pré) e 30 dias após a administração da segunda dose da vacina ChadOx-1 (A e C) ou CoronaVac (B e D). * $p < 0,05$; *** $p < 0,001$.

A Figura 10 mostra os resultados obtidos na avaliação das porcentagens de linfócitos TCD4+CD28+CD57+ (Figuras 10A e 10B) e linfócitos TCD8+CD28+CD57+ (Figuras 10C e 10D), considerados como células duplo-positivas, obtidos nos voluntários do grupo EF submetidos à vacinação com ChadOx-1 (Figuras 10A e 10C) ou CoronaVac (Figuras 10B e 10D). De maneira interessante, pôde-se evidenciar que

as porcentagens dos linfócitos TCD4+CD28+CD57+ (Figura 10A, $p=0,0045$) e dos linfócitos TCD8+CD28+CD57+ (Figura 10C, $p=0,0172$) nos idosos vacinados com ChadOx-1 apresentou aumento significativo pós-vacinação em comparação aos valores pré-vacinação. Já, para o grupo de idosos vacinados com CoronaVac nenhuma alteração foi observada tanto para as porcentagens dos linfócitos TCD4+CD28+CD57+ (Figura 10B, $p=0,2003$) quanto para linfócitos TCD8+CD28+CD57+ (Figura 10D, $p=0,7475$).

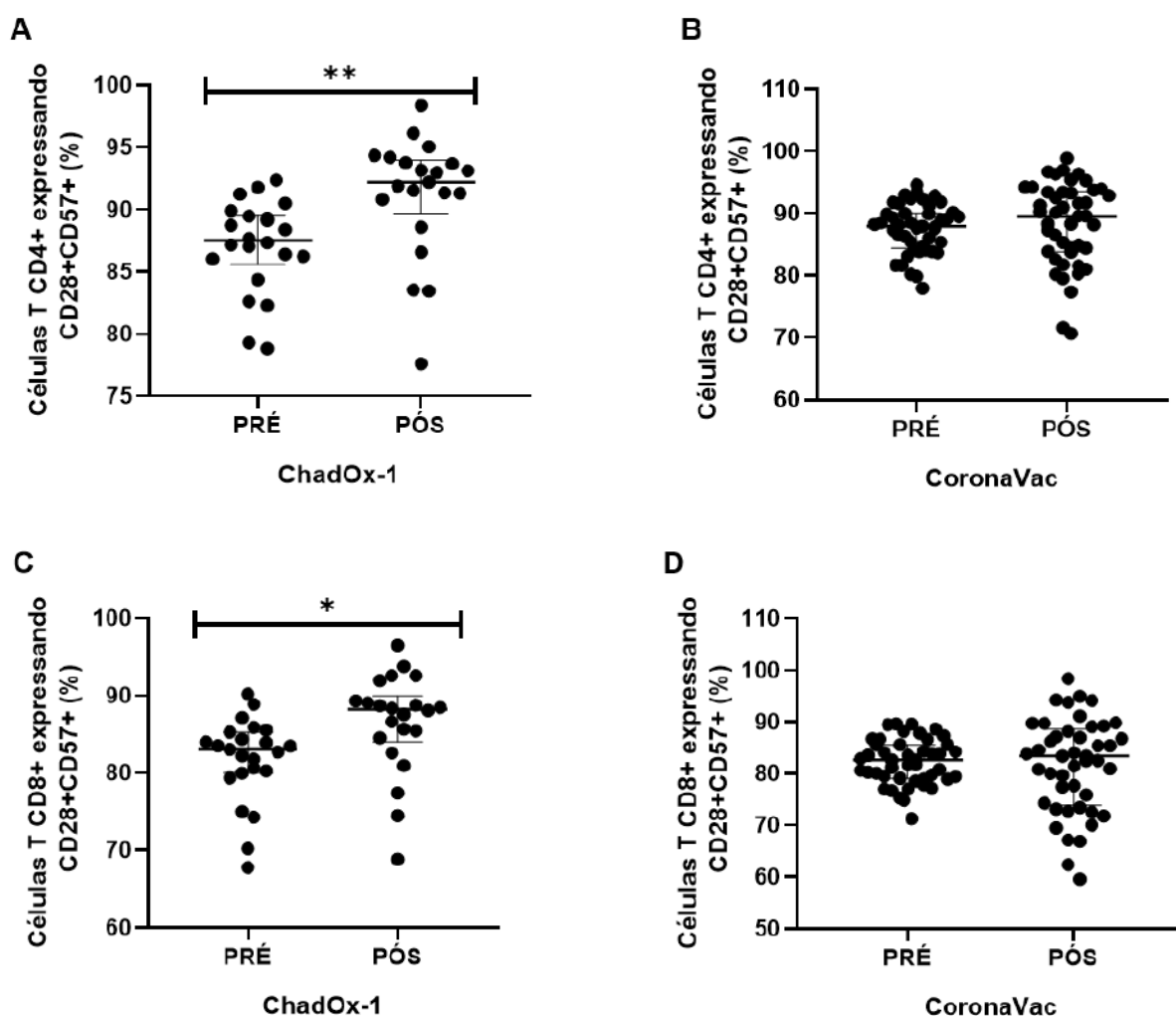


Figura 10. Porcentagem de linfócitos TCD4+CD28+CD57+ (A e B) e linfócitos TCD8+CD28+CD57+ (C e D) nos voluntários idosos grupos EF, antes (pré) e 30 dias após a administração da segunda dose da vacina ChadOx-1 (A e C) ou CoronaVac (B e D). * $p<0,05$; ** $p<0,01$.

Na figura 11 são apresentados os resultados relacionados a avaliação das porcentagens de linfócitos TCD4+CD28-CD57+ (Figuras 11A e 11B) e linfócitos TCD8+CD28-CD57+ (Figuras 11C e 11D), considerados como células senescentes, obtidos nos voluntários do grupo EF submetidos à vacinação com ChadOx-1 (Figuras

11A e 11C) ou CoronaVac (Figuras 11B e 11D). É possível observar que não houve nenhuma alteração tanto nas porcentagens dos linfócitos TCD4+CD28-CD57+ (ChadOx-1, $p=0,7919$, Figura 11A; CoronaVac, $p=0,3585$, Figura 11B) quanto dos linfócitos TCD8+CD28-CD57+ (ChadOx-1, $p=0,0956$, Figura 11C; CoronaVac, $p=0,0936$, Figura 11D) pós-vacinação em comparação com os valores observados pré-vacinação.

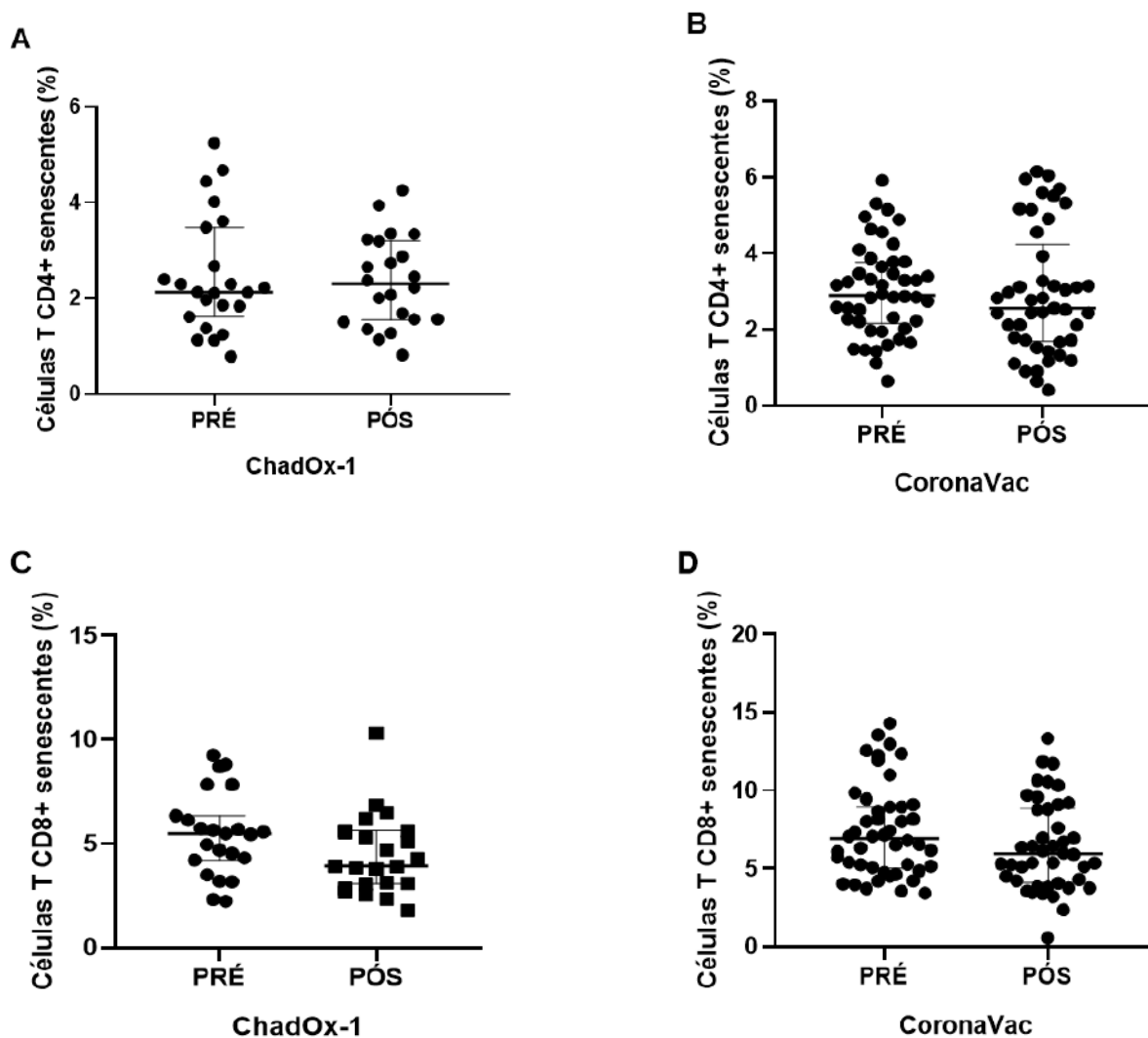


Figura 11. Porcentagem de linfócitos TCD4+CD28-CD57+ (A e B) e linfócitos TCD8+CD28-CD57+ (C e D) nos voluntários idosos grupos EF, antes (pré) e 30 dias após a administração da segunda dose da vacina ChadOx-1 (A e C) ou CoronaVac (B e D).

Como a idade pode impactar na resposta imune, adicionalmente realizamos uma análise de regressão multivariada ajustada para a idade. Foi observado que a idade apresentou efeito significativo nos níveis séricos de IgG específica para antígenos SARS-CoV-2 pós-vacinação apenas o grupo EF vacinado com CoronaVac ($\beta = -0.01536$; 95% CI -0.02970 a -0,001029; $p = 0,0363$; $R^2 = 0.2296$).

5. DISCUSSÃO

Este estudo teve como objetivo avaliar a resposta de anticorpos específicos à vacinação contra COVID-19 e a porcentagem de células T “naïve”, duplo positivas e senescentes em idosos que mantinham ou não uma prática regular de exercícios físicos antes da pandemia. De modo geral, os resultados obtidos neste estudo mostraram que: (1) a vacina ChadOx-1 foi mais eficaz em provocar uma resposta imune, particularmente em termos de imunogenicidade, do que a vacina CoronaVac; (2) o grupo de idosos que realizava o programa de exercícios combinados antes da pandemia apresentou melhor resposta vacinal, principalmente em termos de IgG e IgA específicos para antígenos SARS-CoV-2, do que o grupo composto por idosos não-praticantes do programa de exercícios físicos.

É amplamente aceito que o processo de imunossenescência leva a alterações significativas não apenas no número, mas também na funcionalidade das células do sistema imune. Por exemplo, esse processo pode impactar negativamente tanto na resposta das células B, células responsáveis pela produção de anticorpos contra um antígeno específico, levando a uma redução da resposta humoral, quanto nas células T, promovendo um declínio no número de células T “naïve” e acúmulo de células T senescentes em associação com alterações notáveis em sua funcionalidade.⁴⁴ À medida que essas alterações se apresentam, as respostas imunes à vacinação em idosos estarão prejudicadas.⁴¹ Corroborando essas informações, foi documentado que a vacinação anual para o vírus *Influenza*, patógeno causador da gripe, tem demonstrado uma imunogenicidade em torno de 40% a 50% em idosos, o que leva essa população a apresentar um alto índice de infecções, especialmente por vírus respiratórios, mesmo em indivíduos vacinados.³⁴

Além da imunossenescência, neste ponto, é importante destacar que, de acordo com a literatura, tanto a quarentena quanto o distanciamento social são considerados experiências desagradáveis, que envolvem perda da liberdade, solidão, insegurança no emprego, separação de entes queridos e medo de doença devido a várias restrições que perturbam abruptamente o estilo de vida.^{45,46,47} Corroborando com estas informações, foi demonstrado que o isolamento social imposto pelo COVID-19 aumentou o sedentarismo,⁴⁸ tanto na população masculina quanto na feminina,⁴⁹ o que pode levar a um enfraquecimento do sistema imunológico à infecção por SARS-CoV-2 e também à vacinação.

Apesar do envelhecimento ser um processo natural e que a ocorrência de imunossenescência não pode ser totalmente evitada, tanto a prática clínica quanto a literatura científica, a cada dia, destacam que a prática regular de treinamento físico pode ser considerada uma poderosa ferramenta para minimizar o declínio do sistema imunológico associado ao envelhecimento, o que inclui uma melhora nas respostas imunes à vacinação.^{50,51}

A esse respeito, nosso grupo relatou que idosos que praticam regularmente intensidade moderada de um programa de exercícios combinados apresentaram melhor resposta de anticorpos à vacinação contra o vírus *Influenza*, tanto sistemicamente quanto na mucosa das vias aéreas superiores, assim como em comparação com idosos que não praticavam exercícios físicos ou apresentavam estilo de vida sedentário.^{41,42} Com base nesses dados, os resultados obtidos no presente estudo permitem supor que os benefícios promovidos pela prática regular de exercícios de longa data sobre as respostas imunes de idosos, até onde pudemos avaliar, foram mantidos mesmo após a interrupção de sua prática por um ano devido ao isolamento social imposto pela pandemia de COVID-19. Essa sugestão se baseia na observação de que o grupo EF vacinado com ChadOx-1 não só apresentou um aumento mais pronunciado nos níveis de IgG específica ($p = 0,0002$) do que os valores observados no grupo NEF ($p = 0,0012$), mas também que apenas os voluntários deste grupo apresentaram um aumento significativo nos níveis de IgA pós-vacinação em comparação com os valores pré-vacinação.

De acordo com a literatura, a maioria das vacinas contra vírus respiratórios, como o COVID-19, são administradas, em geral, por via intramuscular, a fim de provocar uma resposta imune sistêmica robusta, que inclui níveis mais elevados de IgG, e não uma imunidade protetora na mucosa de das vias aéreas superiores, principalmente por IgA secretora, pois pode ser desenvolvida após infecção natural pelo vírus respiratório.⁵² Embora se saiba que os níveis séricos de IgA apresentam um impacto menor na proteção imunológica na mucosa,^{53,54} não é totalmente compreendido se os níveis séricos de IgA podem ser correlacionados com uma resposta adequada de IgA na mucosa,⁵⁵ melhorando a resposta imune à infecção por SARS-CoV-2, pois foi relatado que as respostas de anticorpos IgA estavam associadas a menor disseminação viral.⁵⁵ Além disso, é importante mencionar que níveis mais altos de IgA foram relacionados a um aumento na eficácia da vacinação

contra o vírus *Influenza*.⁵⁶ Portanto, essas informações podem corroborar nossa sugestão de que o grupo EF vacinado com ChadOx-1 apresentou melhor resposta de anticorpos do que o grupo NEF, submetido ao mesmo esquema vacinal.

Apesar de o grupo EF apresentar uma resposta de anticorpos à vacinação com ChadOx-1 mais proeminente do que o grupo NEF, o que poderia ser supostamente atribuído ao seu estilo de vida anterior, de forma interessante, a análise de imunogenicidade, particularmente em termos dos níveis séricos de IgG, mostraram um resultado oposto entre esses grupos. De fato, a imunogenicidade encontrada no grupo NEF foi maior (66,7%) do que os valores encontrados no grupo EF (56,5%), o que pode demonstrar que a interrupção da prática regular de treinamento físico por um ano poderia impactar negativamente na resposta do sistema imunológico de alguns idosos à vacinação. A propósito, nosso grupo publicou recentemente um estudo relatando que o isolamento social imposto pela pandemia foi capaz de alterar significativamente alguns parâmetros metabólicos e piorar a capacidade física funcional de um grupo de mulheres idosas previamente exercitadas.⁵⁷ É de suma importância citar que a imunogenicidade encontrada nos grupos vacinados com ChadOx-1, independentemente da prática prévia ou não de treinamento físico, foi acima da frequentemente observada em idosos, que fica em torno de 40-50%, como anteriormente mencionado.³⁴

Corroborando com esta última informação, a imunogenicidade encontrada nos voluntários do grupo EF vacinados com a CoronaVac foi de 39,1%, embora um estudo realizado com idosos (≥ 60 anos) no Chile tenha demonstrado que, após 4 semanas de administração da segunda dose da vacina CoronaVac, a imunogenicidade encontrada nessa população foi de 70,37%.⁵⁸ Apesar de não poder afirmar, esta menor imunogenicidade encontrada no grupo EF vacinado com CoronaVac poderia ser atribuída ao fato de que apenas neste grupo foi encontrado um efeito negativo da idade também nos níveis séricos de IgG específica para SARS-CoV-2 pós-vacinação. Outro ponto que merece ser mencionado foi que o mesmo grupo apresentou correlação positiva entre os níveis séricos de IgG e IgA específicos para antígenos de SARS-CoV-2 pós-vacinação, o que indica que, em alguns voluntários, a produção de IgG e IgA ocorreram concomitantemente, fato que pode ter sido influenciado pela infecção natural anterior por SARS-CoV-2, pois foi sugerido que anticorpos pré-existentes podem interferir negativamente na capacidade de responder a estímulos

antigênicos repetidos.⁵⁸ É importante destacar que nesta pesquisa, este grupo teve a maioria dos casos assintomáticos de infecção prévia por SARS-VCoV-2.

Além das respostas específicas de anticorpos, as tecnologias aplicadas para produzir as diferentes vacinas para COVID-19 também podem provocar uma resposta celular. De fato, estudos destacaram que as respostas das células T mostraram uma correlação próxima com a proteção clínica em adultos mais velhos.^{59,60,61} Por exemplo, a presença de subconjuntos específicos de células T CD4+ e CD8+ para proteínas internas do vírus *Influenza* mostrou uma correlação evidente com melhores resultados para esta infecção.^{62,63,64} A este respeito, enquanto a vacina CoronaVac é composta por um vírion inteiro inativado,⁶⁵ a vacina ChadOx-1 é composta por um vetor não replicante de adenovírus de chimpanzé que carrega o gene da proteína de superfície estrutural *spike* do vírus SARS-CoV-2.⁶⁶ Foi relatado que essas vacinas são capazes de induzir não apenas respostas humorais, mas também celulares,^{58,67,68} o que corrobora nossos achados sobre as respostas das células T, tanto as células T CD4+ quanto as CD8+, à vacinação avaliada aqui.

De forma interessante, ambas as vacinas aplicadas no grupo EF foram capazes de induzir uma redução significativa nas células T CD4+ “naive”. De acordo com a literatura, a presença de resposta celular tem crucial ação na manutenção de uma resposta robusta contra a infecção viral, não só relacionada a uma re-exposição, mas também à presença de novas variantes desse vírus. Além disso, a colaboração entre células T e B também é crucial para o desenvolvimento de imunidade persistente à infecção por vírus, incluindo infecção por SARS-CoV-2.⁶⁹ De interesse, é apontado que uma resposta de células T CD4+ enfraquecida interferirá no desenvolvimento de uma resposta imune protetora à vacinação em adultos mais velhos.⁶⁴ É bem conhecido que células T CD4+ “naive” estão envolvidas na indução de respostas celulares para novos antígenos; assim, a redução significativa dessas células aqui encontrada permite sugerir supostamente que o desafio imunológico imposto pela vacinação para COVID-19 nos voluntários do grupo EF foi capaz de ativar essas células, melhorando as condições das células B para produzir anticorpos devido à sua função de células imunes auxiliares.^{70,71}

Embora tenha sido demonstrado que a vacina CoronaVac foi capaz de induzir um aumento no número de células T CD4+ e T CD8+, particularmente associado ao perfil de memória efetora, em adultos mais velhos,⁴³ em nosso estudo, a vacinação

com esta vacina afetou apenas a porcentagem de células T CD4+ “naive”. Em contraste, a vacina ChadOx-1 demonstrou a capacidade de impactar não apenas as células T CD4+, mas também as células T CD8+, incluindo diferentes perfis avaliados neste estudo (“naive” e duplo-positivo para CD28+ e CD57+).

Em relação às células T CD8+ “naive”, como mencionado anteriormente para as células T CD4+, a redução nessas células pode reforçar nossa sugestão de que uma resposta celular foi induzida pela vacinação com ChadOx-1 e também pode indicar que uma resposta antiviral associado às células T CD8+ foi gerado adequadamente,⁷² levando a uma melhora da imunidade celular contra a infecção por SARS-CoV-2. Apesar de não podermos afirmar que a redução de células T “naive”, tanto de células T CD4+ quanto CD8+, esteja diretamente relacionada ao aumento do número de células T com perfil efetor clássico, nossos achados de aumento nas porcentagens de células T CD4+ e CD8+ T expressando CD28+ e CD57+ pode nos ajudar a sugerir que uma melhora da resposta imune foi provocada pela vacina ChadOx-1, pois foi relatado que o aumento de células T duplo-positivo para essas marcadores, particularmente em células T CD8+, esteve envolvido na resposta à vacinação para hepatite B. Além disso, também foi relatado que células T CD8+ duplamente positivas têm a capacidade de produzir várias citocinas, especialmente IL-10, uma conhecida citocina anti-inflamatória; essas células estavam diminuídas em pacientes com artrite reumatóide, e um aumento na frequência dessas células na velhice pode beneficiar as respostas imunes.⁷³ De acordo com a descrição apresentada em estudo anterior,⁷³ os marcadores CD28 e CD57 podem ser usados para caracterizar quatro perfis distintos de células T CD28+CD57-, que indica células não ativadas ou precocemente ativadas; CD28+CD57+ está relacionado a células ativadas; CD28-CD57- pode indicar células ativadas ou senescentes precoces; CD28-CD57+ é indicativo de células senescentes terminalmente diferenciadas.

De acordo com a literatura, os indivíduos idosos apresentam um acúmulo gradual de células imunes senescentes, com destaque para as células T, e a existência dessas células está envolvida com o desenvolvimento de um fenótipo sistêmico pró-inflamatório relacionado à idade, denominado *Inflammaging*, que se refere a uma inflamação crônica, sistêmica e de baixo grau associada ao envelhecimento.^{74,75} Além disso, há evidências que demonstram que a persistência a longo prazo de células senescentes pode implicar em efeitos prejudiciais sistêmicos,

pois o acúmulo dessas células foi associado a muitos estados de doenças crônicas e respostas inadequadas à vacinação.^{76,77,78,79}

Considerando que a presença de células senescentes pode prejudicar as respostas vacinais em idosos, podemos sugerir que a resposta encontrada neste estudo à vacina ChadOx-1 foi melhor do que a encontrada após a vacinação com CoronaVac, pois foi verificado que o grupo EF vacinado com CoronaVac apresentaram maiores porcentagens de células T CD8+ senescentes do que o grupo EF vacinado com ChadOx-1. Em consequência, a maior porcentagem de células T senescentes no grupo EF vacinado com CoronaVac pode estar supostamente envolvida na má resposta vacinal desse grupo em comparação ao grupo EF vacinado com ChadOx-1.

Por fim, destacam-se algumas limitações desse estudo, como: (1) O número discrepante de voluntários no grupo EF vacinados com CoronaVac (n = 46) e os outros grupos de voluntários vacinados com ChadOx-1 (23 no grupo EF e 24 no grupo NEF). A esse respeito, é importante mencionar que essa diferença pode ser atribuída ao fato de que (a) a primeira vacina para COVID-19 disponível no Brasil foi a CoronaVac, destinada principalmente à população idosa, levando a maioria dos voluntários inscritos neste estudo a serem imunizados com esta vacina, e também que, (b) como citado anteriormente, os voluntários inscritos no grupo NEF foram recrutados exclusivamente entre os idosos residentes no “Hospital Geriátrico e de Convalescentes Dom Pedro II”, uma instituição em que os idosos podem viver por um longo período e, para eles, foi administrada apenas a vacina ChadOx-1. (2) Um grupo de idosos não praticantes de exercícios físicos vacinados com CoronaVac poderia não apenas melhorar nosso entendimento sobre a imunogenicidade desta vacina na população idosa, mas também verificar se a prática regular de exercícios físicos de longa data poderia favorecer os idosos apresentarem resposta imune satisfatória à vacinação com a CoronaVac. (3) A falta de informação sobre se os participantes que apresentaram níveis específicos de IgG e IgA para antígenos SARS-CoV-2 antes da vacinação contra COVID-19 estavam realmente infectados por SARS-CoV-2 ou outros coronavírus que apresentam reação cruzada com antígenos do SARS-CoV-2. (4) A falta de comparação da imunofenotipagem de linfócitos T entre os grupos EF e NEF, o que poderia melhorar os achados do presente estudo. (5) A falta de avaliação dos níveis sistêmicos de citocinas pró e anti-inflamatórias, o que poderia melhorar nossa

compreensão do estado imunológico de nossos voluntários, pois, como mencionado anteriormente, a inflamação é um fenômeno que pode afetar respostas vacinais.

6. CONCLUSÕES

Os benefícios obtidos com a prática regular de um programa de treinamento de exercícios combinados, mesmo após um ano de interrupção, podem melhorar a resposta imune específica à vacinação para COVID-19. Além disso, nossos achados demonstram que os idosos vacinados com ChadOx-1 apresentaram melhores respostas tanto a anticorpos específicos quanto de células T do que aqueles observados no grupo de idosos submetidos à vacinação com CoronaVac.

REFERÊNCIAS

1. Parra V, Flórez C, Romero C. Inducción de “tormenta de citocinas” en pacientes infectados con SARS- CoV-2 y desarrollo de COVID-19. ¿Tiene el tracto gastrointestinal alguna relación en la gravedad?. Rev Col Gastroenterol 2020 vol.35 supl.1 Bogotá Dec. 2020
2. Ahsan W, Javed S, Bratty MA, Alhazmi HA, Najmi A. Treatment of SARS-CoV-2: How far have we reached? Drug Discov Ther. 2020 May 6;14(2):67-72. doi: 10.5582/ddt.2020.03008. Epub 2020 Apr 25.
3. WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard. Disponível em: <https://covid19.who.int/>. Acesso em 11 de jan. 2023.
4. Uzunian A. Coronavírus SARS-CoV-2 e Covid-19. J. Bras. Patol. Med. Lab. 2020, 56. <https://doi.org/10.5935/1676-2444.20200053>
5. Chams N, Chams S, Badran R, Shams A, Araji A, Raad M, Mukhopadhyay S, Stroberg E, Duval EJ, Barton LM, Hajj Hussein I. COVID-19: A Multidisciplinary Review. Front Public Health. 2020 Jul 29;8:383. doi: 10.3389/fpubh.2020.00383.
6. Aarestrup FM. Imunopatologia da COVID-19 e suas implicações clínicas. Arq Asma Alerg Imunol. 2020;4(2):172-80
7. Azkur AK, Akdis M, Azkur D, Sokolowska M, van de Veen W, Brügger MC, et al. Immune response to SARS-CoV-2 and mechanisms of immunopathological changes in COVID-19. Allergy. 2020.
8. Amorim L, Szwarcwald C, Garcia S, Leon C, Medronho R, Veloso V, et al. Seroprevalence of anti-SARS-CoV-2 among blood donors in Rio de Janeiro, Brazil. Revista de Saúde Pública v. 54,69.
9. Li, H.; Lu, W.; Li, Y.; Lu, Y.; Li, F. Reviewing immunopathology characteristics of SARS-CoV-2 for cancer entwisted with SARS-CoV-2. SAGE Open Med. 2021, 9, 205031212198950. <https://doi.org/10.1177/2050312121989504>.

10. Abd El-Kader, S.M.; Al-Shreef, F.M. Inflammatory cytokines and immune system modulation by aerobic versus resisted exercise training for elderly. *Afr. Health Sci.* 2018, 18, 120–131. <https://doi.org/10.4314/ahs.v18i1.16>.
11. Aw, D.; Silva, A.B.; Palmer, D.B. Immunosenescence: Emerging challenges for an ageing population. *Immunology* 2007, 120, 435–446.
12. Wong, G.C.L.; Strickland, M.C.; Larbi, A. Changes in T Cell Homeostasis and Vaccine Responses in Old Age. *Interdiscip. Top. Gerontol. Geriatr.* 2020, 43, 36–55. <https://doi.org/10.1159/000504487>.
13. Hammerschmidt K S, Santana R F. Saúde do idoso em tempos de pandemia Covid-19. *Cogitare enferm* ; 25: e72846, 2020.
14. Folha informativa - Envelhecimento e saúde. OPAS Brasil. Disponível em: https://www.paho.org/bra/index.php?option=com_content&view=article&id=5661:folha-informativa-envelhecimento-e-saude&Itemid=820#:~:text=Em%202050%2C%20espera-se%20que,etária%20em%20todo%20o%20mundo. Acesso em 13 ou. 2020.
15. UNFPA. Relatório sobre a Situação da População Mundial 2010. Disponível em: Em <http://www.unfpa.org.br/Arquivos/swop2010.pdf>. Acesso em: 15 out. 2020
16. Santos C V, Santos C A, Exercício Físico E Seus Efeitos Sobre o Sistema Imune dos Idosos. *Revista Saúde e Pesquisa*, v. 3, n. 2, p. 181-185, maio/ago. 2010
17. Zhavoronkov A. Geroprotective and senoremediative strategies to reduce the comorbidity, infection rates, severity, and lethality in gerophilic and gerolavic infections. *Aging*. 2020;12.
18. Anjos MCG, Passos LFS, Malheiro A. The effects of physical conditioning on the immunosenescence. *Geriatr Gerontol Aging*.2013;7(1):60-67
19. Gallea, Fernando A; Martella, Diana; Bresciani, Guilherme. Modulación antioxidante y antiinflamatoria del ejercicio físico. *Revista Española de Geriatria y Gerontología*, v. 53, n. 5, p 279-284, set/out 2018.

20. Wagner KH, Cameron-Smith D, Wessner B, Franzke B. Biomarkers of Aging: From Function to Molecular Biology. *Nutrients*. 2016;8(6).
21. Tung T L, Zacharias A, Arun K, Raúl G R, Stig T, Saville M, Mayhew S. The COVID-19 vaccine development landscape *Nature, Reviews Drug Discovery*. 2020, 19, 305-306
22. Lima E J F, Almeida A M, Kfoury R Á. Vacinas para COVID-19: perspectivas e desafios. *Resid Pediatr*. 2020;10(2):1-3.v10n2-04
23. Temperatura, doses e preço: o que se sabe sobre a vacina de Pfizer. Disponível em: <https://www.cnnbrasil.com.br/saude/2020/12/02/temperatura-doses-e-preco-o-que-se-sabe-sobre-a-vacina-de-pfizer>. Acesso em: 9 dez. 2020.
24. Governo federal avança na compra de vacina da Pfizer. Disponível em: <https://www.cnnbrasil.com.br/saude/2020/12/07/governo-federal-avanca-na-compra-de-vacina-da-pfizer>. Acesso em: 9 dez. 2020.
25. Voysey, Meryn; Clemens, Sue Ann C; Madhi, Shabir A; Weckx, Lily Y; Folegatti, Pedro M; Aley, Parvinder K. et al. Safety and efficacy of the ChAdOx1 nCoV-19 vaccine (AZD1222) against SARS-CoV-2: an interim analysis of four randomised controlled trials in Brazil, South Africa, and the UK. 2020.
26. Eficácia de vacina de Oxford não é confirmada para pessoas com mais de 55 anos. Disponível em: <https://www.cnnbrasil.com.br/saude/2020/12/08/eficacia-de-vacina-de-oxford-nao-se-aplica-a-pessoas-com-mais-de-55-anos>. Acesso em 9 dez. 2020.
27. Anvisa aprova uso emergencial da vacina contra a Covid-19 da Janssen. Disponível em: <https://pebmed.com.br/anvisa-aprova-uso-emergencial-da-vacina-contra-a-covid-19-da-janssen/>. Acesso em 05 Set. 2021.
28. CoronaVac provou sua eficácia contra Covid-19 no estudo clínico mais criterioso, feito com profissionais de saúde durante pico de casos. Disponível em: <https://butantan.gov.br/noticias/coronavac-provou-sua-eficacia-contra-covid-19-no-estudo-clinico-mais-criterioso-feito-com-profissionais-de-saude-durante-pico-de-casos>. Acesso em: 13 de ago.2022.

29. Entenda como é feita a Coronavac, primeira vacina contra covid-19 aplicada no Brasil. Disponível em: <https://www12.senado.leg.br/radio/1/noticia/2021/01/20/entenda-como-e-feita-a-coronavac-primeira-vacina-contra-covid-19-aplicada-no-brasil>. Acesso em 22 jan. 2021.
30. Estudo da Fiocruz comprova que eficácia da Astrazeneca e Coronavac cai em idosos. Disponível em: <https://www.cnnbrasil.com.br/saude/estudo-da-fiocruz-comprova-que-eficacia-da-astrazeneca-e-coronavac-cai-em-idosos/>. Acesso em 07 set. 2021.
31. McLean G, Kamil J, Lee B, Moore P, Schulz TF, Muik A, Sahin U, Türeci Ö, Pather S. The Impact of Evolving SARS-CoV-2 Mutations and Variants on COVID-19 Vaccines. *mBio*. 2022 Apr 26;13(2):e0297921.
32. Coronavirus disease (COVID-19): Variants of SARS-COV-2. Disponível em: https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/question-and-answers-hub/q-a-detail/coronavirus-disease-%28covid-19%29-variants-of-sars-cov-2?gclid=CjwKCAiA2fmdBhBpEiwA4CcHzfS8N0s1bgUp9j9_fxEmh0CJ5mdj5M3BYi176JBo7x1JRatTTN3vDRoCjesQAvD_BwE. Acesso em 10 de jan. 2023.
33. Goronzy JJ, Fulbright JW, Crowson CS, Poland GA, O'Fallon WM, Weyand CM. Value of immunological markers in predicting responsiveness to influenza vaccination in elderly individuals. *J Virol*. 2001;75(24):12182-7.
34. Goodwin K, Viboud C, Simonsen L. Antibody response to influenza vaccination in the elderly: a quantitative review. *Vaccine*. 2006;24(8):1159-69.
35. Johnson SA, Cambier JC. Ageing, autoimmunity and arthritis: senescence of the B cell compartment - implications for humoral immunity. *Arthritis Res Ther*. 2004;6(4):131-9.
36. Anjosa M C, Passos L F, Malheiro A. Efeitos do condicionamento físico sobre a imunossenescência. *REVISTA GERIATRIA & GERONTOLOGIA*. P60-67.

37. Dias RMR, Gurjão ALD, Marucci MFN. Benefícios do treinamento com pesos para aptidão física de idosos. *Acta Fisiatr.* 2006; 13(2):90- 95.
38. Drela N, Kozdron E, Szczypiorski P. Moderate exercise may attenuate some aspects of immunosenescence. *BMC Geriatr.* 2004; 4:8.
39. Timmerman KL, Flynn MG, Coen PM et al. Exercise training-induced lowering of inflammatory (CD14+ CD16+) monocytes: a role in the anti-inflammatory influence of exercise? *J Leukoc Biol.* 2008; 84(5):1271-8.
40. Ieman, D. C. et al. Physical activity and immune function in elderly women. *Med. Sci. Sports Exercise*, v. 25, n. 7, p. 823–831, 1993.
41. Monteiro, Fernanda R.; Roseira, Tamiris; Amaral, Jonatas B.; Paixão, Vitória; Almeida, Ewin B; Foster, Roberta; Sperandio, Adriane; Bachi, André L. L. et al. Combined Exercise Training and L-Glutamine Supplementation Enhances Both Humoral and Cellular Immune Responses after Influenza Virus Vaccination in Elderly Subjects. *Vaccines*, v. 8, p. 685, 2020.
42. Bachi, André L. L.; et al. Elderly people practitioners of a combined exercise training shows improvement of specific antibodies in response to influenza virus vaccination. *Annals of Research in Sport and Physical Activity*, v. 2018, p. 233-234, 2018.
43. Bachi, André L.L.; Suguri, Vinicius M.; Ramos, Luiz Roberto; Mariano, Mario; Vaisberg, Mauro; Lopes, Jose D. Increased production of autoantibodies and specific antibodies in response to influenza virus vaccination in physically active older individuals. *Results in Immunology*, v. 3, p. 10-16, 2013.
44. Bektas, A.; Schurman, S.H.; Sen, R.; Ferrucci, L. Human T cell immunosenescence and inflammation in aging. *J. Leukoc. Biol.* 2017, 102, 977–988.
45. Scudiero, O.; Lombardo, B.; Brancaccio, M.; Mennitti, C.; Cesaro, A.; Fimiani, F.; Gentile, L.; Moscarella, E.; Amodio, F.; Ranieri, A.; et al. Exercise, Immune System, Nutrition, Respiratory and Cardiovascular Diseases during COVID-19: A Complex Combination. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 2021, 18, 904.

46. Brooks, S.K.; Webster, R.K.; Smith, L.E.; Woodland, L.; Wessely, S.; Greenberg, N.; Rubin, G.J. (2020). The psychological impact of quarantine and how to reduce it: Rapid review of the evidence. *Lancet* 2020, 395, 912–920.
47. Di Renzo, L.; Gualtieri, P.; Cinelli, G.; Bigioni, G.; Soldati, L.; Attinà, A.; Bianco, F.F.; Caparello, G.; Camodeca, V.; Carrano, E.; et al. Psychological Aspects and Eating Habits during COVID-19 Home Confinement: Results of EHLC-COVID-19 Italian Online Survey. *Nutrients* 2020, 12, 2152.
48. McDowell, C.P.; Herring, M.P.; Lansing, J.; Brower, C.; Meyer, J.D. Working From Home and Job Loss Due to the COVID-19 Pandemic Are Associated with Greater Time in Sedentary Behaviors. *Front. Public Health* 2020, 8, 597619.
49. Brancaccio, M.; Mennitti, C.; Gentile, A.; Correale, L.; Buzzachera, C.F.; Ferraris, C.; Montomoli, C.; Frisso, G.; Borrelli, P.; Scudiero, O. Effects of the COVID-19 Pandemic on Job Activity, Dietary Behaviours and Physical Activity Habits of University Population of Naples, Federico II-Italy. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 2021, 18, 1502.
50. Kohut, M.L.; Cooper, M.M.; Nickolaus, M.S.; Russell, D.R.; Cunnick, J.E. Exercise and psychosocial factors modulate immunity to influenza vaccine in elderly individuals. *J. Gerontol.—Ser. A Biol. Sci. Med. Sci.* 2002, 57, 557–562.
51. Hallam, J.; Jones, T.; Alley, J.; Kohut, M.L. Exercise after influenza or COVID-19 vaccination increases serum antibody without an increase in side effects. *Brain Behav. Immun.* 2022, 102, 1–10.
52. Malley, R.; Trzcinski, K.; Srivastava, A.; Thompson, C.M.; Anderson, P.W.; Lipsitch, M. CD4+ T cells mediate antibody-independent acquired immunity to pneumococcal colonization. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2005, 102, 4848–4853.
53. Weidinger, C.; Hegazy, A.N.; Glauben, R.; Siegmund, B. COVID-19—From Mucosal. *Immunology to IBD patients. Mucosal. Immunol.* 2021, 14, 566–573. <https://doi.org/10.1038/s41385-021-00384-9>.

54. Torow, N.; Marsland, B.J.; Hornef, M.W.; Gollwitzer, E.S. Neonatal Mucosal Immunology. *Mucosal Immunol.* 2017, 10, 5–17. <https://doi.org/10.1038/mi.2016.81>.
55. Romero-Pinedo, S.; Quesada, M.; Horndler, L.; Álvarez-Fernández, S.; Olmo, A.; Abia, D.; Alarcón, B.; Delgado, P. Vaccine Type-, Age- and Past Infection-Dependence of the Humoral Response to SARS-CoV-2 Spike S Protein. *Front. Immunol.* 2022, 13, 1–11. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.809285>.
56. Schijns, V.; Lavelle, E.C. Prevention and treatment of COVID-19 disease by controlled modulation of innate immunity. *Eur. J. Immunol.* 2020, 50, 932–938. <https://doi.org/10.1002/eji.202048693>.
57. Cezário, K.; Santos, C.A.F.d.; Filho, C.d.M.A.; Amirato, G.R.; Paixão, V.D.; Almeida, E.B.; Amaral, J.B.D.; Caldo-Silva, A.; Pimenta, N.; Sampaio, A.R.; et al. Older Women Who Practiced Physical Exercises before the COVID-19 Pandemic Present Metabolic Alterations and Worsened Functional Physical Capacity after One Year of Social Isolation. *Healthcare* 2022, 10, 1–14.
58. Bueno, S.M.; Abarca, K.; González, P.A.; Gálvez, N.M.S.; Soto, J.A.; Duarte, L.F.; Schultz, B.M.; Pacheco, G.A.; González, L.A.; Vázquez, Y.; et al. Safety and Immunogenicity of an Inactivated Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Vaccine in a Subgroup of Healthy Adults in Chile. *Clin. Infect. Dis.* 2022, 75, e792–e804.
59. McElhaney, J.E. Influenza vaccine responses in older adults. *Ageing Res. Rev.* 2011, 10, 379–388. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2010.10.008>.
60. McElhaney, J.E.; Coler, R.N.; Baldwin, S.L. Immunologic correlates of protection and potential role for adjuvants to improve influenza vaccines in older adults. *Expert Rev. Vaccines* 2013, 12, 759–766. <https://doi.org/10.1586/14760584.2013.811193>.
61. Shahid, Z.; Kleppinger, A.; Gentleman, B.; Falsey, A.R.; McElhaney, J.E. Clinical and immunologic predictors of influenza illness among vaccinated older adults. *Vaccine* 2010, 28, 6145–6151. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2010.07.036>.

62. Wilkinson, T.M.; Li, C.K.F.; Chui, C.S.C.; Huang, A.K.; Perkins, M.; Liebner, J.C.; Lambkin-Williams, R.; Gilbert, A.; Oxford, J.; Nicholas, B.; et al. Preexisting influenza-specific CD4 + T cells correlate with disease protection against influenza challenge in humans. *Nat. Med.* 2012, 18, 274–280. <https://doi.org/10.1038/nm.2612>.
63. Sridhar, S.; Begom, S.; Bermingham, A.; Hoschler, K.; Adamson, W.; Carman, W.; Bean, T.; Barclay, W.; Deeks, J.J.; Lalvani, A.; et al. Cellular immune correlates of protection against symptomatic pandemic influenza. *Nat. Med.* 2013, 19, 1305–1312. <https://doi.org/10.1038/nm.3350>.
64. Haq, K.; McElhaney, J.E. Immunosenescence: Influenza vaccination and the elderly. *Curr. Opin. Immunol.* 2014, 29, 38–42. <https://doi.org/10.1016/j.coi.2014.03.008>.
65. Lu, L.; Mok, B.W.Y.; Chen, L.L.; Chan, J.M.C.; Tsang, O.T.Y.; Lam, B.H.S.; Chuang, V.W.M.; Chu, A.W.H.; Chan, W.M.; Ip, J.D.; et al. Neutralization of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Omicron Variant by Sera From BNT162b2 or CoronaVac Vaccine Recipients. *Clin. Infect. Dis. Off. Publ. Infect. Dis. Soc. Am.* 2022, 75, e822–e826.
66. Flaxman, A.; Marchevsky, N.G.; Jenkin, D.; Aboagye, J.; Aley, P.K.; Angus, B.; Belij-Rammerstorfer, S.; Bibi, S.; Bittaye, M.; Cappuccini, F.; et al. Reactogenicity and immunogenicity after a late second dose or a third dose of ChAdOx1 nCoV-19 in the UK: A substudy of two randomised controlled trials (COV001 and COV002). *Lancet* 2021, 398, 981–990.
67. Marshall, J.C.; Murthy, S.; Diaz, J. A minimal common outcome measure set for COVID-19 clinical research. *Lancet Infect. Dis.* 2020, 20, e192–e197. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30483-7](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30483-7).
68. He, Q.; Mao, Q.; Zhang, J.; Bian, L.; Gao, F.; Wang, J.; Xu, M.; Liang, Z. COVID-19 Vaccines: Current Understanding on Immunogenicity, Safety, and Further Considerations. *Front. Immunol.* 2021, 12, 1–13. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.669339>.

69. Naik, S. Immunosenescence and Exercise-Mediated Modulation of the Innate Immune Response to Influenza Infection in Mice. *Kinesiology*, Iowa State University. 2013.
70. Ritzau-Jost, J.; Hutloff, A. T cell/b cell interactions in the establishment of protective immunity. *Vaccines* 2021, 9, 1074. <https://doi.org/10.3390/vaccines9101074>.
71. Parker, D.C. T-cell Dependent B-Cell Activation. *Annu. Rev. Immunol.* 1993, 11, 331–360.
72. Olsen, I.; Sollid, L.M. Pitfalls in determining the cytokine profile of human T cells. *J Immunol Methods*. 2013, 390, 106-112.
73. Pangrazzi, L.; Reidla, J.; Carmona Arana, J.A.; Naismith, E.; Miggitsch, C.; Meryk, A.; Keller, M.; Krause, A.A.N.; Melzer, F.L.; Trieb, K.; et al. CD28 and CD57 define four populations with distinct phenotypic properties within human CD8+ T cells. *Eur. J. Immunol.* 2020, 50, 363–379.
74. Franceschi, C.; Bonafè, M.; Valensin, S.; Olivieri, F.; De Luca, M.; Ottaviani, E.; De Benedictis, G. Inflamm-aging. An evolutionary perspective on immunosenescence. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2000, 908, 244–254. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2000.tb06651.x>.
75. Franceschi, C.; Garagnani, P.; Vitale, G.; Capri, M.; Salvioli, S. Inflammaging and 'Garb-aging'. *Trends Endocrinol. Metab.* 2017, 28, 199–212. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2016.09.005>.
76. Martens, P.B.; Goronzy, J.J.; Schaid, D.; Weyand, C.M. Expansion of unusual CD4+ T cells in severe rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 1997, 40, 1106–1114.
77. Rhee, J.W.; Sabatine, M.S.; Lilly, L.S. Acute coronary syndromes. In *Lilly LS: Pathophysiology of Heart Disease: A collaborative Project of Medical Students and Faculty*, 5th ed.; LW&W: Baltimore, MD, USA, 2013, pp. 161–189.
78. Goronzy, J.J.; Fulbright, J.W.; Crowson, C.S.; Poland, G.A.; O'Fallon, W.M.; Weyand, C.M. Value of Immunological Markers in Predicting Responsiveness to Influenza Vaccination in Elderly Individuals. *J. Virol.* 2001, 75, 12182–12187.

79. Goronzy, J.J.; Weyand, C.M. Mechanisms underlying T cell ageing. *Nat. Rev. Immunol.* 2019, 19, 573–583. <https://doi.org/10.1038/s41577-019-0180-1>.

ANEXOS

ANEXO A- Termo de consentimento livre e esclarecido



TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Convidamos o(a) Sr(a) para participar do projeto de pesquisa intitulado “AVALIAÇÃO DA RESPOSTA IMUNE/INFLAMATÓRIA SISTÊMICA E DAS VIAS AÉREAS SUPERIORES PARA A VACINA CONTRA O SARS-COV-2 EM IDOSOS QUE MANTINHAM UMA ROTINA REGULAR DE EXERCÍCIOS FÍSICOS ANTERIORMENTE A PANDEMIA”, sob a responsabilidade do pesquisador Brenda Rodrigues Silva e sua equipe, constituída pelos professores Dr. André Luis Lacerda Bachi e Ms. Carlos André Freitas dos Santos.

Fica esclarecido que sua participação se dará por meio de adesão voluntária ao processo de seleção e recrutamento realizado pelos médicos geriatras colaboradores do estudo.

Vale informar que atualmente o mundo está diante de uma pandemia originada pelo novo coronavírus

SARS-CoV-2, causador da doença denominada como “doença de coronavírus-2019” ou COVID-19. Pacientes com COVID-19 podem ser assintomáticos, ou apresentar sintomas leves e moderados, os quais não necessitam de hospitalização, ou ainda graves, apresentados com ou sem pneumonia. Tem sido documentado que a população idosa se apresenta não apenas como a mais afetada, mas também que esta contabiliza o maior número de mortes na COVID-19. Estudos sugerem que o aumento da taxa de infecção, gravidade e letalidade por SARS-CoV-2 em idosos está associado tanto à ocorrência da imunossenescência e do fenômeno “inflammaging” quanto ao estresse oxidativo. Enquanto a imunossenescência se traduz como o declínio acentuado das respostas imunes sistêmicas e das mucosas, em especial das vias aéreas, associadas ao envelhecimento, o “inflammaging” representa um estado inflamatório de baixo grau crônico e sistêmico associado ao envelhecimento. Neste

sentido, uma importante questão que merece ser destacada diz respeito ao fato de não haver dados que demonstrem com exatidão que as vacinas disponibilizadas em nosso território são capazes de gerar a proteção que se espera em idosos. Desta forma, vale ressaltar que nosso grupo tem desenvolvido estudos mostrando que idosos praticantes regulares de exercícios físicos apresentam melhor resposta a vacinação, especificamente contra a gripe, quando comparados a idosos não praticantes ou sedentários. Contudo, pelas restrições impostas pela pandemia, a manutenção da prática regular de exercícios físicos pela população idosa tem sido um grande desafio para todos os envolvidos. Diante disso, propomos neste estudo avaliar a resposta imune e inflamatória sistêmica e das vias aéreas superiores para a vacina contra o SARS-CoV-2 em idosos que praticavam regularmente exercícios físicos.

Para podermos responder ao objetivo deste estudo, cem idosos de ambos os sexos, com idade entre 60 a 85 anos, serão convidadas a participar do estudo. No tocante a obtenção dos dados antropométricos, físicos e clínicos dos voluntários do estudo, será utilizado o instrumento “Avaliação Geriátrica Ampla (AGA)”. Já, sobre o plano de trabalho do presente estudo, vale esclarecer que para o desenvolvimento do estudo serão utilizadas amostras de: 1) saliva, que será coletada através do uso de tubos salivette e 2) sangue, que será obtido pela punção de sangue venoso periférico em tubos seco e com anticoagulante ETDA. As amostras serão coletadas em dois momentos: antes e 30 dias depois da vacinação para a COVID-19, sendo estas utilizadas para: avaliação de características imunológicas, metabólicas e genéticas de suas células. Importante informar também que todas as amostras biológicas coletadas serão devidamente processadas e armazenadas nas dependências do Centro de Pesquisas da UNISA até que sejam utilizadas nas avaliações laboratoriais preconizadas no estudo. Vale destacar que as amostras inicialmente não utilizadas nas avaliações laboratoriais permanecerão armazenadas no mesmo local para repetição das análises, caso seja necessária comprovação dos resultados, ou mesmo para que outras análises possam ser realizadas, sendo neste caso solicitado sua permissão.

Os riscos decorrentes de sua participação na pesquisa são mínimos, podendo haver pequeno desconforto no momento da coleta das amostras de material biológico, como, por exemplo, formação de pequeno hematoma (mancha roxa) no momento de coleta de sangue. Além disso, a manifestação de constrangimento ao se expor durante

a realização da coleta de material biológico ou mesmo alterações na autoestima provocadas pela evocação de memórias sobre sua condição clínica podem configurar-se como menor risco. Será garantido sigilo a respeito dos nomes e dos resultados individuais de cada participante, sendo os dados obtidos neste estudo agrupados para confecção dos relatórios, trabalhos de conclusão de curso, dissertações e artigos científicos. Todos os voluntários terão acompanhamento clínico pelos médicos geriatras colaboradores do estudo, com total acesso aos respectivos resultados.

Se o(a) Sr(a) aceitar participar, estará contribuindo compreender melhor se o exercício físico a longo prazo mantém a manutenção das alterações nas respostas imunes e inflamatórias no idoso vacinado contra a COVID-19, mas também poderá permitir a implantação de novas estratégias de promoção de saúde para esta população.

É garantido o acesso, em qualquer etapa do estudo, aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas ou informações sobre os resultados parciais das pesquisas, quando em estudos abertos, ou de resultados que sejam do conhecimento dos pesquisadores.

Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP-UNISA) – Rua Prof. Enéas de Siqueira Neto, 340, Jardim das Imbuías, SP – Tel.: 2141-8687.

É garantida sua a Vossa Senhoria a liberdade da retirada de seu consentimento a qualquer momento e assim deixar de participar do estudo, sem qualquer prejuízo à continuidade de qualquer benefício que você tenha obtido junto às Instituições, antes, durante ou após o período deste estudo. As informações obtidas pelos pesquisadores serão analisadas em conjunto com as de outros participantes, não sendo divulgada a identificação de nenhum deles. Não há despesas pessoais para o participante em qualquer fase do estudo, incluindo exames e consultas. Também não há compensação financeira relacionada à sua participação. Se existir qualquer despesa adicional, ela será absorvida pelo orçamento da pesquisa. (No caso de ressarcimento de despesas dos participantes da pesquisa e delas decorrentes, tais como transporte e alimentação, explicitar como ocorrerá esse ressarcimento e suas condições – Res.

466/12.II.21).

Em caso de dano pessoal, diretamente relacionado aos procedimentos deste estudo (anexo causal comprovado), a qualquer tempo, fica assegurado ao participante o respeito a seus direitos legais, bem como procurar obter indenizações por danos eventuais.

Uma via deste Termo de Consentimento ficará em seu poder.

São Paulo, ____/____/____

Brenda Rodrigues Silva
(Pesquisador Principal)

Se você concordar em participar desta pesquisa assine no espaço determinado abaixo e coloque seu nome e o nº de seu documento de identificação.

Nome: (do participante):

Doc. Identificação:

Ass:

Nome: (do representante legal)

Doc. Identificação:

Nível de representação: (genitor, tutor, curador, procurador.)

Nome do participante:

Declaro (amos) que obtive (mos) de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste participante (ou do representante legal deste participante) para a participação neste estudo, conforme preconiza a Resolução CNS 466, de 12 de dezembro de 2012, IV.3 a 6.



Assinatura do pesquisador responsável pelo estudo

Data: _____

ANEXO B- Parecer consubstanciado do CEP

UNIVERSIDADE DE SANTO
AMARO - UNISA

**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP****DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

Título da Pesquisa: AVALIAÇÃO DA RESPOSTA IMUNE/INFLAMATÓRIA SISTÊMICA E DAS VIAS AÉREAS SUPERIORES PARA A VACINA CONTRA O SARS-COV-2 EM IDOSOS QUE MANTINHAM UMA ROTINA REGULAR DE EXERCÍCIOS FÍSICOS ANTERIORMENTE A PANDEMIA.

Pesquisador: BRENDA RODRIGUES SILVA **Área Temática:**

Versão: 3

CAAE: 47947221.4.0000.0081

Instituição Proponente: OBRAS SOCIAIS E EDUCACIONAIS DE LUZ **Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.951.537

Apresentação do Projeto:

Manteve em relação ao parecer anterior.

Objetivo da Pesquisa:

Manteve em relação ao parecer anterior.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Manteve em relação ao parecer anterior.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Metodologia mantida.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Pendências atendidas:

- Questionário - retirou a palavra nome e submeter a Plataforma Brasil.
- Adequou o cronograma

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

- Aprovado.

Considerações Finais a critério do CEP:

**UNIVERSIDADE DE SANTO
AMARO - UNISA**



Continuação do Parecer: 4.951.537

Endereço: Rua Profº Enéas de Siqueira
Neto, 340

Bairro:Jardim das Imbuias

CEP: 02.450-000

UF: SP **Município:** SAO PAULO

Telefone:(11)2141-8687

E-mail: pesquisaunisa@unisa.br

Página 01 de 02

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1760063.pdf	27/08/2021 21:51:29		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_plataforma_Brasil.pdf	27/08/2021 21:51:03	BRENDA RODRIGUES SILVA	Aceito
Outros	lpaq_questionario.pdf	27/08/2021 21:42:13	BRENDA RODRIGUES SILVA	Aceito
Outros	Resposta_ao_assessor.pdf	05/07/2021 21:53:28	BRENDA RODRIGUES SILVA	Aceito
Folha de Rosto	FRBrendaSilva1.pdf	11/06/2021 00:44:32	BRENDA RODRIGUES SILVA	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Termo_de_Consentimento_Livre_e_Esclarecido.pdf	02/06/2021 22:48:03	BRENDA RODRIGUES SILVA	Aceito
Outros	formulario_brenda.pdf	02/06/2021 22:47:22	BRENDA RODRIGUES SILVA	Aceito
Outros	TERMO_DE_CONCESSAO.pdf	02/06/2021 21:39:24	BRENDA RODRIGUES SILVA	Aceito
Outros	CARTA_DE_ANUENCIA.pdf	02/06/2021 21:36:31	BRENDA RODRIGUES SILVA	Aceito
Outros	TERMO_DE_COMPROMISSO_E_CONFIDENCIALIDADE.pdf	02/06/2021 21:14:33	BRENDA RODRIGUES SILVA	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

SAO PAULO, 03 de Setembro de 2021

Assinado por:
Ana Paula Ribeiro
(Coordenador(a))

Endereço: Rua Profº Enéas de Siqueira
Neto, 340

Bairro:Jardim das Imbuías

CEP: 02.450-000

UF: SP **Município:** SAO PAULO

Telefone:(11)2141-8687

E-mail: pesquisaunisa@unisa.br