

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NEUROCIÊNCIAS**

**EFEITO DE UMA SESSÃO DE EXERCÍCIO AERÓBICO NOS NÍVEIS
SÉRICOS DE FATOR NEUOTRÓFICO DERIVADO DO CÉREBRO
(BDNF) E DE SEU PRECURSOR (proBDNF) EM INDIVÍDUOS APÓS
ACIDENTE VASCULAR CEREBRAL (AVC) NA FASE CRÔNICA**

**Belo Horizonte
2015**

MARIANA LACERDA E SILVA

EFEITO DE UMA SESSÃO DE EXERCÍCIO AERÓBICO NOS NÍVEIS SÉRICOS DE FATOR NEUOTRÓFICO DERIVADO DO CÉREBRO (BDNF) E DE SEU PRECURSOR (proBDNF) EM INDIVÍDUOS APÓS ACIDENTE VASCULAR CEREBRAL (AVC) NA FASE CRÔNICA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Neurociências do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, como parte dos requisitos para a obtenção do grau de Mestre em Neurociências.

Área de Concentração: Neurociências Clínica

Orientadora: Profa. Dra. Paula Luciana Scalzo

Belo Horizonte

2015

Silva, Mariana Lacerda e.

Efeito de uma sessão de exercício aeróbico nos níveis séricos de fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) e de seu precursor (proBDNF) em indivíduos após acidente vascular cerebral (AVC) na fase crônica [manuscrito] / Mariana Lacerda e Silva. – 2015.

54 f. : il. ; 29,5 cm.

Orientadora: Paula Luciana Scalzo.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas.

1. Acidentes vasculares cerebrais - Teses. 2. Exercícios físicos - Teses. 3. Fator neurotrófico derivado do cérebro. 4. Capacidade funcional. 5. Neurociências - Teses. I. Scalzo, Paula Luciana. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Biológicas. III. Título.

CDU: 612

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a todos os meus familiares e amigos pela paciência, apoio, amor e compreensão nos momentos difíceis e por participarem deste sonho com tanta dedicação.

AGRADECIMENTOS

A Deus, ser superior, capaz de modificar e realizar qualquer tipo de sonho, pelas bênçãos derramadas em minha vida e por me conceder tranquilidade e sabedoria para permanecer firme.

Aos meus pais e irmãos pela paciência, compreensão e amor durante este e todos os desafios pelos quais tenho passado, além de estarem ao meu lado em quaisquer circunstâncias.

À Professora Paula Luciana Scalzo, minha orientadora, pelos conselhos, ensinamentos e “puxões de orelha” necessários para o meu crescimento acadêmico, profissional e pessoal.

Aos pacientes pela preciosa colaboração e pelo empenho para que tudo isso fosse possível.

À Renata Maria Silva Santos, técnica em enfermagem, pela dedicação e colaboração para que este estudo fosse realizado.

Ao prof. Dr. Antônio Lúcio Teixeira Jr. e à Dra. Natália Pessoa Rocha pelo auxílio e pelas preciosas orientações durante a realização do ensaio imunoenzimático.

Ao Dr. Paulo Pereira Christo pelo empenho em nos ceder o espaço para o recrutamento de voluntários e para a execução do projeto.

À profa. Dra. Aline Alvim Scianni e à Profa. Dra. Luci Fuscaldi Teixeira Salmela pelo valioso auxílio teórico e metodológico, os quais foram de grande valia para a realização e finalização deste estudo.

MUITO OBRIGADA!

SUMÁRIO

| | |
|--|-----------|
| 1. INTRODUÇÃO | 13 |
| 2. OBJETIVOS | 25 |
| 2.1 Objetivo Geral | 25 |
| 2.2 Objetivos Específicos | 25 |
| 3. MATERIAIS E MÉTODOS | 26 |
| 3.1 Avaliação Clínica | 26 |
| 3.1.1 Mini-Exame do Estado Mental (MEEM) | 27 |
| 3.1.2 Escala Hospitalar de Depressão de Hamilton (HADS-D) | 27 |
| 3.1.3 Perfil de Atividade Humana (PAH) | 28 |
| 3.1.4 Teste de Força Muscular Isométrica | 29 |
| 3.1.5 Teste de Caminhada de Seis Minutos | 30 |
| 3.2 Sessão de Exercício Aeróbico | 30 |
| 3.3 Material Biológico | 31 |
| 3.3.1 Coleta de Sangue | 31 |
| 3.3.2 Mensuração dos Níveis de proBDNF e BDNF | 32 |
| 3.4 Análise Estatística..... | 33 |
| 4. RESULTADOS | 34 |
| 5. DISCUSSÃO | 38 |
| 6. CONCLUSÃO..... | 42 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 43 |
| ANEXO I | 56 |
| APÊNDICE I | 57 |
| APÊNDICE II | 59 |
| APÊNDICE III | 60 |
| ANEXO II | 61 |
| ANEXO III | 62 |
| ANEXO IV | 63 |

ANEXO V 65

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|----|
| Tabela 1: Características clínicas dos participantes do estudo..... | 22 |
| Tabela 2: Nível de atividade física e capacidade de marcha para os participantes do estudo..... | 23 |
| Tabela 3: Força muscular para membro inferior do grupo controle e AVC..... | 24 |
| Tabela 4: Comparação dos níveis séricos basais de proBDNF e BDNF (pg/ml) entre os grupos..... | 24 |
| Tabela 5: Comparação dos níveis séricos basais de proBDNF e BDNF (pg/ml) antes e após a sessão de exercício aeróbico para o grupo controle..... | 25 |
| Tabela 6: Comparação dos níveis séricos basais de proBDNF e BDNF (pg/ml) antes e após a sessão de exercício aeróbico para o grupo AVC..... | 25 |

LISTA DE ABREVIATURAS

AIT - Ataque Isquêmico Transitório
AVC - Acidente Vascular Cerebral
AVD - Atividades de Vida Diária
BDNF – Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro
BHE - Barreira hematoencefálica
BSA - Solução de bloqueio
CaMKII - Proteína quinase tipo II dependente de cálcio/calmodulina
ELISA - Ensaio imunoenzimático
FC - Frequência Cardíaca
FCmáx. - Frequência cardíaca máxima
FGF-2 - fator de crescimento de fibroblasto 2
HADS-D - Escala Hospitalar de Depressão
IGF-1 - Fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1
LTP - Potenciação a longo prazo
MEEM - Mini-Exame do Estado Mental
mRNA - Ácido ribonucleico mensageiro
NGF - Fator de Crescimento do Nervo
NMDA - Receptores N-metil D-Aspartato
NT - Neurotrofinas
NT-3 - Neurotrofina 3
NT-4 - Neurotrofina 4
NT-5 - Neurotrofina 5
OMS - Organização Mundial de Saúde
OPD - Solução substrato o-fenilendiamina dihidroclorido
PAH – Perfil de Atividade Humana
PBS - Solução salina tamponada com fosfato
PKA - Proteína quinase A
proBDNF - Precursor de BDNF
RNA - Ácido ribonucleico
SNC - Sistema Nervoso Central
TC6min - Teste de Caminhada de Seis Minutos
TNF - Fator de Necrose Tumoral

TrK- Tirosina-quinase

UFMG - Universidade Federal de Minas Gerais

VGCC – Canais de cálcio dependentes da voltagem

VO₂máx - Consumo Máximo de Oxigênio

RESUMO

Introdução: O fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) é um importante elemento no processo de plasticidade neuronal e os seus níveis podem ser modificados após o exercício aeróbico. Estudos têm investigado a associação entre os níveis séricos de BDNF e o desfecho clínico em indivíduos após o acidente vascular cerebral (AVC), principalmente, na fase aguda. Entretanto, são escassos estudos avaliando indivíduos na fase crônica e avaliando o efeito do exercício aeróbico nesses níveis. **Objetivo:** Avaliar o efeito de uma sessão de exercício aeróbico (40 minutos de caminhada no solo em baixa intensidade) nos níveis séricos de BDNF e de seu precursor (proBDNF) em indivíduos após AVC na fase crônica. **Materiais e Métodos:** Quarenta e um indivíduos (21 indivíduos hígidos e 20 indivíduos após AVC com tempo médio de 6,2 anos de lesão) foram submetidos à avaliação da função cognitiva (Mini-Exame do Estado Mental, MEEM) e afetiva (Escala Hospitalar de Depressão de Hamilton, HADS-D), do nível de atividade física (Perfil de Atividade Humana, PAH), da força muscular de membros inferiores (dinamômetro Microfet 2MT) e da capacidade funcional a partir do teste de caminhada de seis minutos (TC6min) no primeiro dia de avaliação. No segundo dia, os indivíduos tiveram que caminhar no solo por 40 minutos, em intensidade leve. O sangue periférico foi coletado imediatamente antes e após a sessão de exercício aeróbico, para mensuração dos níveis séricos de proBDNF e BDNF, por meio de ensaio imunoenzimático (ELISA). **Resultados:** Os indivíduos de ambos os grupos foram homogêneos quanto ao IMC, função cognitiva e função afetiva. Entretanto, os indivíduos do grupo AVC apresentaram menor nível de atividade física (Escore Máximo de Atividade, $p=0,007$; Escore Ajustado de Atividade, $p<0,001$) e percorreram menor distância no TC6min ($p<0,001$). Os níveis séricos basais de proBDNF ($p=0,426$) e BDNF ($p=0,778$) não foram diferentes entre os grupos. Não houve mudanças dos níveis de proBDNF (Grupo Controle, $p=0,778$; Grupo AVC, $p=0,422$) e BDNF (Grupo Controle, $p=0,778$; Grupo AVC, $p=0,717$) após a sessão de exercício aeróbico. **Discussão:** Indivíduos após AVC apresentam importante descondicionamento físico, dando continuidade a um ciclo vicioso de inatividade, o que explica o menor nível de atividade física e distância percorrida no TC6min. A baixa intensidade, sem o aumento progressivo da mesma, durante o exercício aeróbico podem ter sido determinantes para a não modificação dos níveis de proBDNF e BDNF em ambos os grupos. **Conclusão:** Uma sessão de exercício aeróbico (caminhada no solo), durante quarenta minutos, em baixa intensidade não foi capaz de modificar os níveis séricos de proBDNF e BDNF na amostra estudada. De fato, não existe consenso na literatura quanto ao tipo, tempo e intensidade de exercício indicados para modificar os níveis deste fator neurotrófico.

Palavras-chave: acidente vascular cerebral, fator neurotrófico derivado do cérebro, capacidade funcional, teste de caminhada de seis minutos, Perfil de Atividade Humana.

ABSTRACT

Introduction: The brain-derived neurotrophic factor (BDNF) is an important element in the neuronal plasticity process and its levels can be modified after aerobic exercise. Studies have investigated the association between serum levels of BDNF and clinical outcome in patients after stroke (stroke), particularly in the acute phase. However, few studies evaluating individuals in the chronic phase and evaluating the effect of aerobic exercise at these levels. **Objective:** To evaluate the effect of aerobic exercise session (40 minutes walk on the ground at low intensity) in serum BDNF and its precursor (proBDNF) in individuals after stroke in chronic phase. **Materials and Methods:** Forty-one subjects (21 healthy individuals and 20 individuals after stroke with a mean of 6.2 years of injury) were assessed for cognitive function (Mini-Mental State Examination, MMSE) and affective (Hospital Scale Hamilton Depression, HADS-D), level of physical activity (Human Activity Profile, PAH), muscle strength of the lower limbs (dynamometer Microfet 2MT) and functional capacity from the six-minute walk test (6MWT) on the first day of evaluation. On the second day, people had to walk on the ground for 40 minutes at low intensity. Peripheral blood was collected immediately before and after the aerobic exercise session, for measurement of serum BDNF proBDNF and through enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). **Results:** Individuals of both groups were homogeneous with BMI, cognitive function and emotional function. However, the stroke group the individuals had lower physical activity level (Activity Score Maximum, $p = 0.007$; adjusted score of activity, $p < 0.001$) and covered a shorter distance in the 6MWT ($p < 0.001$). The basal serum proBDNF ($p = 0.426$) and BDNF ($p = 0.778$) were not different between groups. There was no change in the levels of proBDNF (control group, $p = 0.778$; stroke group, $p = 0.422$) and BDNF (control group, $p = 0.778$; stroke group, $p = 0.717$) after aerobic exercise session. **Discussion:** individuals after stroke have important physical deconditioning, continuing a vicious cycle of inactivity, which explains the lower level of physical activity and distance covered in the 6MWT. The low intensity, without the gradual increase thereof during aerobic exercise can determinants have been no changes to the proBDNF and BDNF levels in both groups. **Conclusion:** One bout of aerobic exercise (walking on the ground) for forty minutes at low intensity has failed to modify serum proBDNF and BDNF in the sample. Indeed, there is no consensus in the literature as to the type, time and intensity of exercise shown to modify the levels of this neurotrophic factor.

Keywords: Stroke, brain derived neurotrophic factor, functional capacity, six minutes walk test, Human Activity Profile.

1. INTRODUÇÃO

O acidente vascular cerebral (AVC) é definido como “[...] comprometimento neurológico focal (ou às vezes global), de ocorrência súbita, com duração de mais de 24 horas (ou que causa morte) e de provável origem vascular [...]” (Instrumento STEPS de AVC da Organização Mundial de Saúde, OMS, 2009). A alteração vascular na circulação cerebral pode ser de origem isquêmica ou hemorrágica, ocasionando um déficit transitório ou definitivo no funcionamento de uma ou mais partes do cérebro e resultando em perda da função neurológica (Rafii *et al.*, 2006).

A lesão isquêmica pode ser produzida essencialmente por dois mecanismos: a trombose (responsável por dois terços dos casos de AVC isquêmico) e a embolia (causa do terço restante). A trombose é caracterizada pela oclusão de grandes artérias (por exemplo, artéria carótida interna e artéria cerebral média), de pequenas artérias penetrantes como acontece no AVC lacunar e, menos frequentemente, dos seios venosos. Essa oclusão ocorre por meio de placas de ateroma em conjunto com processos de fibrose e agregação plaquetária no endotélio vascular. O AVC pode ser precedido por ataques isquêmicos transitórios (AIT), definidos por oclusões temporárias, que tendem a produzir sintomas semelhantes, mas não perdurando por mais de 24 horas (Doyle *et al.*, 2008; Kunz *et al.*, 2010).

Por sua vez, a embolia pode resultar em AVC isquêmico quando os êmbolos oriundos de determinados locais como coração, do arco aórtico ou das grandes artérias, obstruem a região distal das artérias cerebrais. A instalação dos déficits neurológicos ocorre de modo súbito, com um máximo de intensidade no início do quadro. O AIT também pode preceder um AVC embólico, principalmente quando os êmbolos têm origem cardíaca (Aminoff *et al.*, 2005).

A hemorragia cerebral ocorre em consequência de um processo inverso ao da isquemia, onde há o extravasamento de sangue para fora do vaso sanguíneo. Esse pode resultar em dois tipos de hemorragia, dependendo do local afetado: a hemorragia intracerebral, quando o tecido cerebral é atingido e a hemorragia subaracnóide, caracterizada por extravasamento de sangue no espaço subaracnóideo. O AVC hemorrágico está relacionado principalmente com a hipertensão arterial, uma vez que o aumento crônico da pressão nas artérias conduz a uma fragilização da parede arterial, facilitando a ruptura do vaso e uma consequente hemorragia (Habib, 2000).

Quanto à etiologia, na base de um AVC isquêmico podem estar múltiplos distúrbios vasculares, cardíacos e hematológicos, destacando-se a aterosclerose de grandes artérias e as arritmias cardíacas. Esses distúrbios podem ser sintomáticos e previamente conhecidos, ou assintomáticos, sendo o AVC a primeira manifestação do problema. Em relação aos fatores de risco, há uma grande variedade, mas, em destaque pela frequência e pela possibilidade de serem minimizados pela prevenção, tem-se a hipertensão arterial, a dislipidemia, o tabagismo e o etilismo. Ainda, o evento isquêmico prévio é considerado o principal e mais perigoso fator de risco para um próximo AVC, com um alto risco de mortalidade (Aminoff *et al.*, 2005; Kunz *et al.*, 2010).

A recorrência ou recidiva de AVC define-se como o aparecimento de um novo déficit neurológico, de origem vascular, mais de 24 horas depois do primeiro AVC e que não pode ser atribuído a edema cerebral, efeito de massa ou outra complicação do AVC inicial (Rabas *et al.*, 2001). O risco de recorrência varia entre 1,2 e 9% após a ocorrência do insulto, o que pode prolongar o internamento hospitalar, agravar os déficits neurológicos e, inclusive, levar a um aumento das taxas de mortalidade (Moroney *et al.*, 1998).

Em escala mundial, o AVC é a segunda principal causa de morte, com aumento alarmante da sua incidência e prevalência. Em 2000, ocorreram aproximadamente 1,1 milhões de novos casos de AVC, enquanto que, em 2025, ocorrerão mais de 1,5 milhões novos casos. Em 2015, esperam-se 18 milhões de casos de AVC e, em 2030, 23 milhões (OMS, 2010). No Brasil, considerando o *ranking* das principais causas de morte, aproximadamente 40% dos óbitos ocorrem por doença cardiovascular, predominando a mortalidade por AVC em relação à doença coronariana (infarto do miocárdio). Os números atingem 100 mil vítimas por ano, sendo que parte considerável da morte por AVC no Brasil acontece em uma faixa etária precoce, abaixo dos 65 anos de idade. Além dos altos índices de mortalidade, o AVC pode levar a sequelas graves que atingem aproximadamente 50% dos sobreviventes. Isso resulta em grande prejuízo econômico por morte ou incapacitação de uma pessoa produtiva. Assim, o AVC é considerado um problema de saúde pública de grande impacto aos cofres públicos nos países latino-americanos, sendo que os gastos nacionais agregados com atendimento médico na primeira hospitalização de um paciente com AVC no Brasil foram calculados em \$449,3 milhões (OMS, 2008).

O quadro clínico do paciente é influenciado por diversos fatores como a gravidade, o local e o tamanho da área cerebral lesionada e o seu prognóstico é influenciado pela fase em que ele se encontra: aguda (primeiras horas a um mês após a lesão), subaguda (um mês e um dia a seis meses após a lesão) ou crônica (a partir de seis meses após a lesão) (Zhang *et al.*;

2013). Na fase aguda, o território cerebral lesionado é bem delimitado e circundado por uma área chamada zona de penumbra, onde as células possuem sua atividade reduzida. No decorrer dos dias e semanas, se não houver reestabelecimento da circulação sanguínea, essa área é lesionada de modo irreversível, estabelecendo uma perda neurológica mais pronunciada e de pior recuperação (Kunz *et al.*, 2010).

Na maior parte dos casos, o AVC pode resultar em déficits sensoriais, comprometimento do equilíbrio, prejuízos afetivos e cognitivos. Entretanto, a principal deficiência gerada pelo AVC é a hemiplegia/hemiparesia, caracterizada pela ausência/diminuição da força muscular no hemicorpo contralateral à lesão cerebral. A diversidade do quadro clínico impacta negativamente na funcionalidade do indivíduo e na qualidade de vida ao torná-lo limitado a executar suas atividades de vida diária (AVD) e ao isolá-lo do convívio social (Falcão *et al.*, 2004). Estudos demonstraram que apenas 7% dos pacientes pós-AVC são ativos na comunidade (Hill *et al.*, 1997).

A alteração do perfil psicológico após o AVC é muito comum, sendo que a depressão é o transtorno afetivo mais freqüente, com cerca de 33% dos pacientes em desenvolvimento da depressão (Gordon e Hibbard, 1997; Hackett *et al.*, 2005) e é responsável pela perda de autonomia e do agravamento de condições patológicas preexistentes. O reconhecimento e o diagnóstico de depressão nesses pacientes são importantes, pois quando presente tem sido associada a um pior prognóstico e maior mortalidade (Pohjasvaara *et al.*, 200; Linden *et al.*, 2007).

Segundo Tatemichi *et al.* (1994), as funções cognitivas mais comprometidas após um AVC são orientação, atenção, linguagem e memória, além do fato de que o prejuízo cognitivo não é freqüente apenas na fase aguda do AVC, mas também afeta significativamente a adaptação funcional após esse período. Em um estudo utilizando testes neuropsicológicos, esses mesmos autores verificaram demência em 26,3% de idosos após três meses de internação com diagnóstico de AVC isquêmico, o que interfere negativamente na intervenção deste paciente.

Lesões no sistema corticoespinal devido ao AVC resultam em alterações de tônus – espasticidade –podendo reduzir a velocidade angular e interferir no controle motor voluntário (Hack *et al.*, 2003). Em relação às mudanças musculares, podem ocorrer variações nas proporções de tipo de fibras musculares, como por exemplo, aumento na proporção de fibras de contração rápida do músculo vasto lateral do membro contralateral à lesão cerebral (Jakobsson *et al.*, 1991; De Deyne *et al.*, 2004; Hafer-Macko *et al.*, 2008). Ainda, há uma dependência de metabolismo anaeróbico com a geração rápida de lactato durante a prática

isolada de exercício no membro hemiparético em contraste com o metabolismo oxidativo durante exercício isolado no membro ipsilateral, o que explica a fadiga muscular presente nestes pacientes (Hafer-Macko *et al.*, 2008). A musculatura ainda passa por uma redução da densidade capilar e da capacidade oxidativa, elevação da expressão gênica de enzimas que aumentam a degradação de proteínas, o que pode contribuir para a perda de massa muscular (Haddad *et al.*, 2003).

Esses resultados sugerem que as alterações neurológicas podem ser parcialmente responsáveis pela mudança do fenótipo do músculo. A mudança para a contração rápida está em contraste com a mudança para a contração lenta no envelhecimento, onde as fibras de contração rápida são perdidas por meio de denervação e a densidade de fibras de contração lenta aumenta por meio de reinervação (Hafer-Macko *et al.*, 2008). A sarcopenia é um processo multifatorial que afeta o músculo esquelético em contextos como o envelhecimento e o AVC crônico. Em ambos ocorrem redução da resistência muscular, da velocidade de contração, diminuição da síntese de componentes miofibrilares, aumento da produção de citocinas catabólicas, resultando em atrofia e alteração no metabolismo muscular (Degens *et al.*, 2003).

As deficiências motoras após o AVC conduzem a uma relativa inatividade, especialmente no membro afetado, ocorrendo declínio da função muscular, redução da área transversal da fibra com conseqüente diminuição da massa muscular. O indivíduo após AVC também apresenta descondicionamento físico, que resulta em sedentarismo, dando continuidade a um ciclo vicioso de inatividade (Macko *et al.*, 2001). Dessa forma, o declínio da função neuromuscular é acelerado, aumentando a probabilidade de ocorrer outra doença cardiovascular e favorecendo a deficiência (Luft *et al.*, 2008). Tal descondicionamento está relacionado às múltiplas comorbidades associadas ao AVC, incluindo hipertensão, doença cardíaca coronariana, diabetes, depressão e obesidade, agravando suas deficiências motoras e, em geral, sua funcionalidade (Duncan *et al.*, 1997). Além desses fatores, pessoas que experimentam a fadiga física são menos propensas a se envolverem na vida social e em atividades de lazer. Como as atividades são eliminadas da rotina diária, a capacidade de realizar esforços físicos com o mesmo ou maiores gastos energéticos reduz ainda mais (Teixeira-Salmela *et al.*, 1999).

A capacidade aeróbica reduzida está entre as principais deficiências físicas em pacientes com AVC crônico. Segundo Kelly *et al.* (2003), a aptidão cardiorrespiratória está bastante prejudicada dentro de quatro a sete semanas após o evento. Além disso, após testes ergométricos submáximo e máximo, os resultados sugerem que o desempenho da marcha

pode ser afetado pela redução da aptidão cardiorrespiratória e indicam claramente que essa é uma deficiência física significativa em pessoas após AVC independentemente da sua idade ou gênero. O início da incapacidade muitas vezes resulta em maior esforço necessário a exercer uma atividade física, fazendo com que as pessoas com AVC permaneçam sedentárias. A inatividade física prolongada pode resultar no desenvolvimento de condições secundárias e piora da perda funcional, que por sua vez resulta em maior dificuldade em participar de atividades que exigem maior esforço físico e para realizar suas AVD (Rimmer *et al.*, 2005). Na prática clínica, o teste de caminhada de seis minutos (TC6min) é muito utilizado para prever o consumo máximo de oxigênio (VO₂máx), assim como para avaliar a capacidade funcional (Bittner *et al.*, 1993) e funciona como um preditor de morbidade e mortalidade (Cahalin *et al.*, 1996).

Nesse contexto, o processo de reabilitação deve visar à melhora das condições musculares, aptidão cardiorrespiratória e funcionalidade de pacientes após AVC. De com o estudo de Nadeau *et al.* (2013), o treino motor específico progressivo realizado na fisioterapia demonstrou melhora da funcionalidade de pacientes pós AVC na fase aguda, independentemente da gravidade do comprometimento inicial, quando comparado à realização de intervenções domiciliares orientadas pelo terapeuta. Segundo Ada *et al.* (2010), em geral, a conclusão de vários estudos randomizados controlados é de que um treino de marcha na esteira tende a resultar em uma marcha independente e mais próxima do fisiológico após AVC, independente da cronicidade do evento. Além disso, há evidências demonstrando que os bons resultados da intervenção estão associados à alta intensidade do treinamento (Kwakkel *et al.*, 2004). Para Macko *et al.* (1997), o treino de marcha ambulatorial está associado a uma redução na frequência cardíaca (FC) e no consumo de oxigênio para um determinado esforço. Várias evidências demonstram que o treinamento físico, além de restaurar o condicionamento cardiopulmonar, promove melhora funcional, redução de déficits motores e de equilíbrio, favorece a neuroplasticidade cerebral e conseqüentemente, a qualidade de vida (Potempa *et al.*, 1996; Smith *et al.*, 1998; Meek *et al.*, 2003; Rimmer *et al.*, 2005; Robinson *et al.*, 2011).

Apesar de os estudos mostrarem resultados benéficos do processo de reabilitação em parâmetros motores e funcionais, bem como na qualidade de vida de pacientes após AVC, as estruturas e os mecanismos cerebrais específicos envolvidos na recuperação e na reaprendizagem motora após uma lesão cerebral ainda não estão bem esclarecidos. Dentro do processo de neuroplasticidade, nos últimos anos pesquisas têm destacado o papel das neurotrofinas (NT) como um importante elemento capaz de influenciar várias formas de

neuroplasticidade, tanto no tecido cerebral intacto quanto danificado (Ploughman *et al.*, 2009). Até o momento, as NT descritas são: fator de crescimento do nervo (NGF), as neurotrofina 3 (NT-3) e 4/5 (NT-4/5) e o fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) (Leßmann *et al.*, 2009).

As NT fazem parte do grupo de fatores neurotróficos e são proteínas sintetizadas principalmente por neurônios. São sintetizadas no retículo endoplasmático da célula, sendo que o pré-domínio é clivado imediatamente, obtendo-se as chamadas pró-proteínas, precursoras das proteínas maduras (Leßmann *et al.*, 2009). Essas são transportadas via vesículas de transporte para o aparelho de Golgi, onde finalmente terminam em vesículas secretoras. O processamento de um precursor para se tornar uma proteína madura começa a partir de uma clivagem proteolítica com a participação de enzimas como a endopeptidase no aparelho de Golgi. Há dois tipos diferentes de vias de secreção: uma via regulada, dependente de cálcio para que a exocitose dos grânulos de secreção ocorram, e uma via constitutiva, que possui um tipo distinto de vesículas que libera a NT ao atingir a membrana plasmática (Burgoyne e Morgan, 2003). Essas proteínas ativam duas classes diferentes de receptores - a família tirosina-quinase (TrK) e p75NTR, um membro da família de receptores do fator de necrose tumoral (TNF) (Kalb *et al.*, 2005).

Como todas as neurotrofinas, o BDNF é sintetizado como um precursor (proBDNF) (Seidah *et al.*, 1996), que pode ser clivado no meio intracelular para produzir dímeros maduros (Seidah *et al.*, 1996; Matsumoto *et al.*, 2008) ou secretado no meio extracelular (Mowla *et al.*, 1999). É importante para a dobradura apropriada, a dimerização e o direcionamento do BDNF maduro (Lu *et al.*, 2005), mas também pode ser capaz de induzir a apoptose celular, enquanto que a proteína madura promove o desenvolvimento, a diferenciação, a sobrevivência neuronal e a plasticidade celular (Egan *et al.*, 2003). Após ser sintetizado, é transportado anterogradamente em neurônios e liberado no terminal nervoso de uma maneira dependente de atividade (Goodman *et al.*, 1996).

O BDNF é produzido no sistema nervoso central (SNC) e em pequenas quantidades em tecidos-alvo (sistema nervoso periférico, células endoteliais e endócrinas, células musculares lisas e esqueléticas e células do sistema imunológico) e transportado retrogradamente para o SNC onde exerce vários efeitos (Thoenen, 1991). Os níveis mais elevados de BDNF são observados no hipocampo e no córtex (Phillips *et al.*, 1990), regiões do cérebro que são predominantemente envolvidas em funções cognitivas superiores. É altamente dependente do tipo de estimulação: uma despolarização dendrítica duradoura que, por sua vez, desencadeia a ativação de canais de cálcio dependentes da voltagem (VGCC).

Isso requer uma posterior liberação de cálcio por meio dos receptores de rianodina do retículo endoplasmático e esse sinal sustentado pelo cálcio tem de ser traduzido em ativação de proteína quinase tipo II dependente de cálcio/calmodulina (CaMKII) para obter liberação (Kolarow *et al.*, 2007). É importante ressaltar que o influxo de cálcio por meio dos receptores N-metil D-Aspartato (NMDA) pós-sinápticos pode substituir a ativação dos canais de cálcio VGCC do tipo L no desencadeamento da secreção dendrítica de BDNF e outros neuropeptídeos (De Kock *et al.*, 2004; Kolarow *et al.*, 2007). Além do influxo de cálcio, os níveis basais de atividade de proteína quinase A (PKA) são cruciais para permitir a secreção de BDNF eficiente (Patterson *et al.*, 2001; Kolarow *et al.*, 2007).

Além de células do SNC, o BDNF pode ser produzido e armazenado por células da periferia, dentre elas as musculares, onde sua produção ocorre em resposta à contração e, em seguida, liberado para a circulação, otimizando a ação da insulina em outros tecidos, tais como fígado e tecido adiposo (Matthews *et al.*, 2009). Dados sugerem que as células endoteliais vasculares são uma fonte de BDNF circulante no sangue (Nakahashi *et al.*, 2000); células T, B e monócitos produzem BDNF *in vitro* e em reações inflamatórias na presença de lesões e as plaquetas que liberam grandes quantidades de BDNF rapidamente mediante ativação pela trombina, cálcio ou de colágeno, que ocorre provavelmente no local da lesão vascular (Kerschensteiner *et al.*, 1999).

O BDNF possui um amplo repertório de propriedades neuroprotetoras no SNC e na periferia. Centralmente, essa NT está envolvida na modificação da excitabilidade neuronal, na transmissão e eficácia sináptica; regula a morfologia dendrítica e sinaptogênese; é importante para a sobrevivência e diferenciação neuronal; sendo todos estes processos importantes para a aprendizagem e formação da memória (Kalb *et al.*, 2005). Além disso, tem sido implicado na recuperação, angiogênese, proteção contra a lesão cerebral e crescimento regenerativo (Carro *et al.*, 2001). Periféricamente, pode ser citada a sua capacidade neuroendócrina e metabólica, reduzindo a ingestão de alimentos, aumentando a oxidação de glicose, reduzindo os níveis de glicose no sangue e aumentando a sensibilidade à insulina (Knaepen *et al.*, 2010). Esses achados confirmam que o BDNF é essencial não só no sistema neuronal, mas também está intimamente ligado a processos moleculares periféricos de metabolismo energético e da homeostase (Knaepen *et al.*, 2010).

Pesquisas com modelos animais têm elucidado várias de suas funções no SNC. De acordo com Ploughman *et al.* (2009), após um programa de reabilitação em ratos submetidos a isquemia focal e a infusão de bloqueador da expressão de BDNF, essa NT demonstrou um papel crucial na amplificação do efeito da aprendizagem motora. Além disso, as estratégias

que estimulam o aumento dos níveis de BDNF no sistema nervoso, como o exercício, podem melhorar os processos de neuroplasticidade em vários sistemas neuronais envolvidos no reaprendizado motor durante a reabilitação, favorecendo a recuperação funcional.

Griffin *et al.* (2011), ao analisarem níveis de BDNF após a prática de um protocolo de exercício aeróbico em indivíduos hígidos, sugerem que o BDNF é proposto como um mediador de melhora da função cognitiva, possivelmente por meio de seu papel em curto prazo sobre os mecanismos subjacentes do processo de plasticidade sináptica em nível de hipocampo. Tem sido também observada uma participação no processo de potenciação a longo prazo (LTP) no hipocampo, responsável pela formação da memória. O LTP refere-se ao reforço relativo de sinapses, de forma que os estímulos subsequentes serão capazes de facilitar a produção de uma resposta pós sináptica (Waterhouse *et al.*, 2009). Segundo Schrott *et al.* (2004), o BDNF é um mediador da síntese de proteínas essenciais para a manutenção do LTP. Suas ações ocorrem a partir da ligação do BDNF ao seu receptor TrkB (tipo B) ou p75, o que resulta em fosforilação e ativação de uma cascata de sinalização intracelular, levando à ativação de moléculas responsáveis pela sobrevivência neuronal e/ou inativação de sinalização pró-apoptótica (Chao e Bothwell, 2002).

Essa neurotrofina possui elevada capacidade de atravessar a barreira hematoencefálica (BHE) (Pan *et al.*, 1998). Sua entrada no SNC ocorre por meio de um sistema de transporte rápido, uma vez que, segundo Poduslo e Curran (1996), o BDNF possui uma maior área de superfície de permeabilidade na BHE quando comparado a outras NT. Além disso, a associação de BDNF com componentes sanguíneos, como por exemplo, as plaquetas, pode servir para estabilizar a molécula e facilitar a sua disponibilidade para a entrada no cérebro (Pan *et al.*, 1998). Alguns estudos têm sugerido a ocorrência de uma modificação química nas NT a fim de aumentar sua permeabilidade ou a promoção de uma maior estabilidade no sangue (Sakane e Pardridge, 1997). A presença de um sistema de transporte saturável oferece outras abordagens para melhorar o transporte do BDNF para o cérebro, tal como a modificação do próprio transportador para aumentar o fornecimento de BDNF para o SNC ou o desenvolvimento de análogos de maior afinidade com o transportador (Pan *et al.*, 1998), questões estas que ainda não são bem descritas na literatura.

As alterações periféricas de BDNF podem estar relacionadas com a atividade do SNC. Segundo estudos com modelos animais, há passagem de BDNF em toda a BHE (Pan *et al.*, 1998), além das evidências de que níveis de BDNF corticais em animais estão altamente correlacionados com níveis periféricos (sanguíneos). Segundo Rasmussen *et al.* (2009), estudos mostram a capacidade do BDNF de atravessar a BHE em ambas as direções. Além

disso, estudos em humanos também têm mostrado que os níveis de BDNF no SNC estão positivamente associados aos níveis de BDNF periféricos, principalmente no soro e no plasma e, por conseguinte, níveis periféricos circulantes têm sido sugeridos como um bom biomarcador de concentração cerebral desta neurotrofina (Pan *et al.*, 1998).

Apesar de sua regulação no sangue periférico ainda ser pouco entendida (Lommatzsch *et al.*, 2005), as concentrações periféricas são amplamente utilizadas como um indicador dos níveis cerebrais de BDNF (Piccinni *et al.*; 2008). Recentemente, vários estudos têm relatado mudanças periféricas dos níveis de BDNF em pacientes com diferentes transtornos neuropsiquiátricos (Shimizu *et al.*, 2003). Não se sabe, no entanto, até que ponto os níveis no soro ou plasma de BDNF se correlacionam com o BDNF no SNC em seres humanos (Gustafsson *et al.*, 2009).

Existem muitos fatores, tais como, peso, gênero e idade que influenciam os níveis periféricos de BDNF. De acordo com o estudo de Lommatzsch *et al.* (2005), indivíduos que apresentavam maior peso em quilogramas demonstravam menores níveis plasmáticos de BDNF. Sugere-se que a redução na expressão do receptor de alta afinidade com o BDNF (TrkB) pode levar a um ganho de peso e a elevação de níveis plasmáticos de glicose e colesterol (Rios *et al.*, 2001). Quanto à idade, uma diminuição significativa dos níveis de BDNF no plasma foi encontrada com o aumento da idade. Há alguma evidência que indica diminuição da expressão do receptor TrkB em regiões do cérebro e gânglios periféricos específicos durante o processo normal de envelhecimento (Sato *et al.*, 2001). No entanto, uma significativa diminuição da produção total de BDNF cerebral durante o envelhecimento não foi encontrada.

É relatado que mulheres deprimidas têm menores níveis séricos de BDNF do que homens deprimidos e essa diferença se mostrou reforçada ao refletir a gravidade da depressão em mulheres (Karege *et al.*, 2000). Estudos recentes demonstram uma significativa redução dos níveis dessa NT em idosos deprimidos (Diniz *et al.*, 2010). Em indivíduos pós AVC, também já foi descrita a correlação entre os níveis séricos de BDNF e a presença de depressão (Brunoni *et al.*, 2008). A redução dos níveis plasmáticos de BDNF também foi considerada como um marcador biológico de memória e déficits cognitivos em mulheres idosas (Komulainen *et al.*, 2008) e um preditor de risco de mortalidade em idosos frágeis (Krabbe *et al.*, 2009).

Além destes fatores, o ritmo circadiano tem sido investigado e há evidências de ser um importante influenciador nos níveis periféricos de BDNF. Em sentido inverso, achados prévios sugerem que algumas NT, incluindo o BDNF, podem estar envolvidas na regulação

circadiana do núcleo supraquiasmático hipotalâmico (Bina e Rusak, 1996; Liang *et al.*, 2000), considerado o principal relógio biológico em mamíferos (Hastings, 1997). Ainda, já foi descrita variação circadiana significativa para o receptor TrkB que é ativado por BDNF (Bova *et al.*, 1998; Dolci *et al.*, 2003). Desde a primeira evidência da presença de BDNF no plasma e soro humano (Rosenfeld *et al.*, 1995), os níveis periféricos dessa neurotrofina são amplamente investigados. Resultados sugerem que a variação diurna na regulação de BDNF plasmático e sérico pode ser relacionada com o sexo. De acordo com Choi *et al.* (2011), o pico dos níveis plasmáticos dessa neurotrofina ocorre no período da manhã (9 horas), com redução às 13 horas e atinge sua menor concentração às 17 horas, em homens hígidos. Este declínio durante o dia pode reforçar a idéia da influência circadiana em homens, sendo que esses achados são reforçados por outros estudos (Begliomini *et al.*, 2007; Piccinni *et al.*, 2008). Esta variação circadiana de BDNF no plasma pode ser atribuída a um modelo secretor circadiano. Pensa-se que o BDNF é secretado em um ritmo circadiano pulsatório, caracterizado por um declínio progressivo na amplitude dos impulsos durante o dia (Begliomini *et al.*, 2008).

Por ser um efetivo elemento no processo de plasticidade neural, as ações do BDNF têm sido investigadas na fase de recuperação da isquemia no AVC. Após a lesão, a reabilitação auxilia na reorganização do mapa cortical, uma vez que a aprendizagem motora eleva os níveis de BDNF no córtex, contribuindo para o aumento da sinaptogênese, formação de espinhas dendríticas e de ramificações, além de outras formas de plasticidade neuronal envolvidas na recuperação pós-AVC (Muller *et al.*; 2008).

Pesquisas com modelos animais de isquemia focal têm investigado os níveis de BDNF e suas correlações com a recuperação motora pós-lesão no período agudo. Estudos experimentais em ratos, como os de MacLellan *et al.* (2011) e Ploughman *et al.* (2009), demonstraram que a exposição a um ambiente enriquecido de estímulos e sessões de treinamento de alcance elevam os níveis de BDNF e, proporcionalmente, promovem melhora funcional em ratos submetidos à isquemia focal. Além disso, níveis elevados dessa NT no córtex estimulam a reorganização cortical após a lesão (Kleim *et al.*, 2003). A administração de BDNF é capaz de reduzir o volume do infarto cerebral no período agudo (Zhang *et al.*, 2006) e favorece a recuperação motora em ratos (Muller *et al.*, 2008). De acordo com Kleim (2006), baixos níveis séricos de BDNF estão correlacionados à redução da habilidade do mapa cortical em responder ao treino motor. Entretanto, não são descritos os efeitos do BDNF na recuperação cortical após isquemia nas fases subaguda e crônica.

Considerado como um importante estimulador do processo neuroplástico, o exercício físico tem sido explorado por pesquisadores no que diz respeito à elevação de níveis de BDNF, melhora funcional e cognitiva e suas correlações, em indivíduos hígidos e com diagnóstico de doenças neurológicas. De acordo com Neepers *et al.* (1995), o exercício físico pode promover a auto regulação da expressão de BDNF no hipocampo de ratos, sendo essencial na presença de degenerações e lesões. Além disso, estudos demonstram que diferentes tipos de atividades, corrida na esteira e caminhada, promovem mudanças neuroplásticas em diferentes regiões cerebrais (Liu *et al.*, 2009) e a auto regulação de BDNF no hipocampo induzida pelo exercício correlaciona-se com melhora da função cognitiva (Adlard e Cotman, 2004).

Pensava-se que uma NT mediada por resposta ao exercício seria provavelmente restrita aos sistemas sensório-motores do cérebro, tais como o cerebelo, áreas corticais primárias ou núcleos da base. Porém, de acordo com Cotman e Berchtold (2002), após um estudo com modelo animal envolvendo exercício voluntário em ratos, houve um aumento dos níveis de mRNA de BDNF no hipocampo, um processo plástico que normalmente é associado com maior função cognitiva. Além disso, alterações nos níveis de mRNA foram encontradas em neurônios, particularmente aqueles do giro denteado (a camada de células progenitoras do hipocampo) e na região CA3 do hipocampo. Essas alterações surgiram em poucos dias, tanto nas fêmeas quanto nos machos, e foram sustentadas mesmo após várias semanas de exercício e acompanhadas por maiores quantidades de proteína BDNF. Além do hipocampo, houve aumento dos níveis de mRNA do BDNF na medula espinhal lombar, cerebelo e córtex.

Pesquisas em humanos sugerem que o exercício e a estimulação comportamental podem manter ou melhorar a plasticidade cerebral. Aprender, um processo plástico cerebral complexo, aumenta a expressão do gene BDNF que, por sua vez, facilita a aprendizagem. Isto prevê que os mecanismos que induzem a expressão do gene de BDNF, como o exercício, poderiam facilitar o processo de aprendizagem (Griffin *et al.*, 2011).

No que diz respeito à relação entre nível de atividade física e BDNF, um estudo de Currie *et al.* (2009) sugere que a concentração sérica de BDNF diminui com o aumento da potência aeróbica e nível de atividade física, o que já havia sido investigado por Nofuji *et al.* (2008) que observaram uma correlação inversa entre a contagem de passos e os níveis séricos de BDNF em homens. Em um estudo longitudinal, Knaepen *et al.* (2010) demonstraram que indivíduos treinados apresentaram níveis séricos de BDNF mais baixos quando comparados a destreinados, mas não estão claros na literatura quais seriam os mecanismos envolvidos neste processo. Para Currie *et al.* (2009) poderia ser reflexo de um mecanismo de absorção mais

eficiente de BDNF no SNC, no entanto, faltam evidências experimentais para apoiar esta hipótese.

Da mesma forma, ainda é pouco explorado em humanos, o efeito do exercício físico, em situações agudas ou crônicas, nos níveis periféricos de BDNF, principalmente em pacientes neurológicos. Gold *et al.* (2003) observaram um pequeno aumento nos níveis séricos de BDNF em pacientes com esclerose múltipla e indivíduos saudáveis após submetê-los a atividade aeróbica moderada, durante trinta minutos, mantendo 60% do VO₂máx, apesar de não terem detectado diferenças nos níveis basais entre os grupos antes do exercício. Tang *et al.* (2008) detectaram um aumento transitório de BDNF induzido após 15 minutos de *step* em indivíduos saudáveis, sendo que os níveis intra-individuais antes e após a atividade foram relativamente estáveis. De acordo com Knaepen *et al.* (2010), em indivíduos com doenças crônicas, apenas 30 minutos de atividade aeróbica a 60% da frequência cardíaca máxima (FCmáx) são capazes de elevar os níveis de BDNF e provocar benefícios imediatos à função cognitiva. Griffin *et al.* (2011) mostraram que uma sessão aguda em bicicleta ergométrica, com duração de 30 minutos e aumento de carga gradual, é capaz de elevar os níveis séricos de BDNF em indivíduos saudáveis, além de melhorar a função cognitiva, principalmente a memória, imediatamente após o esforço físico. Já Vega *et al.* (2006) verificaram que períodos curtos de apenas dez minutos, em intensidade moderada, não foram capazes de alterar os níveis séricos dessa neurotrofina.

De acordo com a revisão sistemática recente de Coelho *et al.* (2013), ainda não estão bem estabelecidos o tipo e a intensidade de exercício físico que resultam em aumento nos níveis de BDNF, apesar de os estudos sugerirem que os exercícios em intensidade moderada parecem ser mais efetivos para este objetivo em idosos.

Considerando o importante papel do BDNF no processo de neuroplasticidade e, que até o momento, há poucos estudos avaliando o efeito do exercício físico nos níveis periféricos de BDNF em condições neurológicas, o objetivo desse estudo foi avaliar se a realização de uma sessão de exercício aeróbico em baixa intensidade é capaz de modificar os níveis de BDNF e de seu precursor, proBDNF, em indivíduos hígidos e que sofreram AVC na fase crônica.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar se a realização de uma sessão de exercício aeróbico, durante quarenta minutos e em baixa intensidade, modifica os níveis séricos de fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) e de seu precursor (proBDNF) em indivíduos hígidos e que sofreram acidente vascular cerebral (AVC) na fase crônica.

2.2 Objetivos Específicos

- Avaliar se há associação entre a força muscular de membros inferiores, a capacidade funcional e o nível de atividade física com os níveis séricos de proBDNF e BDNF em indivíduos hígidos e indivíduos após AVC na fase crônica;
- Comparar os níveis séricos basais de proBDNF e BDNF entre indivíduos hígidos e indivíduos após AVC na fase crônica;
- Comparar os níveis séricos de proBDNF e BDNF antes e após a realização de uma sessão de exercício aeróbico, caminhada no solo, durante quarenta minutos e em baixa intensidade (35 a 59% da Fcmáx), em indivíduos hígidos e indivíduos após AVC na fase crônica.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

O presente estudo faz parte de um projeto aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade Federal de Minas Gerais (CAAE - 03968712.7.0000.5149 – **ANEXO I**) e todos os participantes assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (**APÊNDICE I**). Os indivíduos dos dois grupos (Grupo Controle e Grupo AVC) foram recrutados a partir do Ambulatório de Neurologia do Centro Metropolitano de Especialidades Médicas da Santa Casa de Belo Horizonte e da Policlínica Paulo Moreira da Costa de Esmeraldas. Esses locais também foram utilizados para a realização de todas as etapas do estudo, devido à infraestrutura favorável e por ser de fácil acesso ao pesquisador.

Os critérios de inclusão utilizados para formar o grupo AVC foram: apresentar diagnóstico clínico de AVC isquêmico em fase crônica (a partir de seis meses do evento), ser capaz de entender os comandos verbais e ser capaz de deambular mesmo que com o auxílio de dispositivos. Foram excluídos os indivíduos que apresentavam diagnóstico de outras doenças neurológicas, déficits visuais e/ou auditivos, condição cardiovascular instável e a presença de outras condições que impediam o indivíduo de realizar os testes propostos ou que interferissem nos níveis basais de BDNF (como o uso de antidepressivos ou qualquer outro medicamento que possua ação semelhante, doenças psiquiátricas prévias). Os mesmos critérios foram utilizados para selecionar os indivíduos do grupo controle, com exceção para o diagnóstico de AVC nos critérios de inclusão.

3.1 Avaliação Clínica

No primeiro dia de avaliação, foi aplicado um questionário geral tanto para os indivíduos do grupo AVC (**APÊNDICE II**) quanto para o grupo controle (**APÊNDICE III**). A partir desse questionário foram obtidas informações sócio-demográficas e clínicas dos indivíduos de ambos os grupos. Em seguida, foram aplicadas escalas para avaliação de parâmetros cognitivos, afetivos e nível de atividade física: Mini-Exame do Estado Mental (MEEM – **ANEXO II**), a Escala Hospitalar de Depressão (HADS-D – **ANEXO III**) e o Perfil de Atividade Humana (PAH – **ANEXO IV**), respectivamente. Para avaliar a força dos músculos de membros inferiores (flexores de quadril, extensores de joelho e flexores plantares) foi utilizado o dinamômetro manual Microfet 2MT (*Hoggan-Health industries*). O TC6min foi realizado para avaliar a capacidade funcional.

No segundo dia, com intervalo de no mínimo uma semana, foi realizada a sessão de exercício aeróbico, no qual foi selecionada a caminhada no solo, durante quarenta minutos, em baixa intensidade. O sangue periférico foi coletado imediatamente antes e após a sessão de exercício aeróbico.

Todos estes procedimentos foram realizados em ambos os grupos na mesma sequência, pelo mesmo fisioterapeuta previamente treinado. A coleta de sangue para todos os indivíduos ocorreu no período entre oito e doze horas, no intuito de evitar alterações nas concentrações séricas de BDNF mediante o ritmo circadiano.

3.1.1 Mini-Exame do Estado Mental (MEEM)

Elaborado por Folstein *et al.* (1975), o MEEM tem como principal objetivo avaliar a função cognitiva de um indivíduo e rastrear quadros demenciais (Lourenço e Veras, 2006). No Brasil, a versão utilizada é a proposta por Bertolucci *et al.* (1994) e por Almeida (1998), após adaptações em alguns itens que preservavam as intenções da versão original e melhor se ajustavam às especificidades da cultura brasileira. Este instrumento avalia seis domínios cognitivos: orientação temporal (5 pontos) e espacial (5 pontos), memória (3 pontos), atenção e cálculo (5 pontos), evocação (3 pontos), linguagem (8 pontos) e habilidade construtiva (1 ponto). Dentro de cada um desses itens, as respostas corretas são pontuadas, totalizando um escore máximo de 30 pontos (Park *et al.*, 2013). Para que o déficit cognitivo seja considerado, valores de referência são adquiridos de acordo com o nível de escolaridade do indivíduo, sendo eles: valores abaixo ou igual a 13 pontos para analfabetos; 18 para baixa e média escolaridade e 26 para alta escolaridade, com sensibilidade de 82,4%, 75,6% e 80%, e especificidade de 97,5%, 96,6% e 95,6%, respectivamente (Bertolucci *et al.*, 1994).

3.1.2 Escala Hospitalar de Depressão de Hamilton (HADS-D)

Desenvolvida inicialmente para rastrear sintomas de ansiedade e depressão em pacientes de hospitais não psiquiátricos, a escala passou a ser utilizada em outros tipos de pacientes e é um instrumento de grande valia nas pesquisas clínicas. Difere-se das outras escalas de mesma função por ter a capacidade de excluir todos os sintomas de ansiedade ou depressão relacionados com doenças físicas, prevenindo a interferência dos distúrbios

somáticos na pontuação final. É de fácil e rápida execução, podendo ser realizada pelo próprio paciente ou por algum entrevistador (Marcolino *et al.*, 2007).

No nosso estudo, apenas a subescala de depressão (HADS-D) foi utilizada, considerando a importante relação dos níveis de BDNF com sintomas depressivos. A HADS-D é composta por sete perguntas, em que o indivíduo deve considerar como estava se sentindo na última semana. Há quatro alternativas de respostas para cada pergunta, pontuadas de 0 a 3, atingindo um escore máximo de 21 pontos. Quanto maior o escore final, maior é a possibilidade da presença de depressão. Os pontos de cortes apontados por Zigmond e Snaith (1983) recomendados para a escala são: pontuação entre 0 e 8 para indivíduos sem depressão e pontuação igual ou superior a 9, sugerindo depressão.

3.1.3 Perfil de Atividade Humana (PAH)

Desenvolvido por Daughton *et al.* (1982), o PAH passou a ser utilizado na avaliação do nível funcional e de atividade física, tanto para indivíduos saudáveis em qualquer faixa etária, quanto para aqueles com algum grau de disfunção (Hamdorf *et al.*, 1993; Souza *et al.*, 2006). O PAH avalia o desempenho por intermédio do autorrelato e é um instrumento validado e confiável, traduzido e adaptado culturalmente para a população brasileira (Kramer *et al.*, 2013).

Esse instrumento avalia atividades rotineiras, sendo constituído por 94 itens, com escore máximo de 94 pontos. Para cada uma das atividades há três possíveis respostas: “ainda faço”, “parei de fazer” e “nunca fiz”. O indivíduo deve marcar a resposta que melhor se encaixa em sua realidade. Por fim, os escores primários, calculados com base nas respostas, são:

- Escore máximo de atividade (EMA): indica a pontuação da atividade de maior gasto energético que o indivíduo “ainda faz”, correspondendo ao nível mais alto de gasto de energia do indivíduo, comparado a outros da mesma idade e gênero;
- Escore ajustado de atividade (EAA): é definido como uma medida de atividades diárias comuns. Fornece uma melhor estimativa do nível médio de energia gasto pelo entrevistado quando esse é comparado a indivíduos da mesma idade e gênero, possibilitando a classificação dos indivíduos, de acordo com a pontuação, em inativos (EAA menores que 53), moderadamente ativos (EAA entre 53 e 74) e ativos (EAA maiores que 74). É definido por $EMA - n^{\circ} \text{ de itens que o indivíduo parou de fazer}$.

3.1.4 Teste de Força Muscular Isométrica

Antes da execução do teste propriamente dito, o peso, a altura e o comprimento dos membros inferiores foram medidos. Para isso, utilizou-se uma balança (Batiki) e fita métrica (Cadena). A medida do comprimento dos membros inferiores foi realizada utilizando as seguintes referências: comprimento da coxa (espinha ilíaca ântero-superior e borda superior da patela), comprimento da perna (borda inferior da patela e maléolo lateral) e comprimento do pé (calcâneo e ponta do hálux).

Considerando a grande influência da força muscular no desempenho funcional, realizou-se o teste de força dos três principais grupos musculares de membros inferiores: flexores de quadris, extensores de joelhos e flexores plantares. O protocolo utilizado neste teste foi o de Dorsch *et al.* (2012), o mais indicado para se executar em pacientes pós AVC.

Para avaliação da força muscular, utilizou-se um dinamômetro manual Microfet 2MT. O indivíduo foi orientado a permanecer em decúbito dorsal na maca, em flexão de quadris e joelhos a aproximadamente 90°, com posição mantida por meio do apoio dos membros inferiores em um banco. Para sua aplicação, o avaliador posicionou o dinamômetro manual de modo estável em regiões padronizadas, de acordo com o grupo muscular a ser testado, com o pistão do dinamômetro sempre em posição perpendicular ao segmento a ser avaliado. Antes de realizar os testes, o indivíduo foi orientado quanto à direção de cada movimento a ser realizado. Em seguida, o indivíduo foi solicitado a realizar a contração desejada contra o aparelho, com sua força máxima. Estímulos de encorajamento foram dados durante todo o teste. O dinamômetro foi mantido estável para evitar que esse fosse deslocado pela força do indivíduo e mascarasse os resultados. Para a avaliação de cada grupo muscular, o avaliador solicitou um tipo de movimento ao sujeito, além de posicionar o dinamômetro de acordo com cada grupo a ser testado:

- Flexores de quadril: o dinamômetro foi posicionado na região anterior distal da coxa, próximo à patela. O indivíduo foi orientado a realizar uma força contra o dinamômetro, de baixo pra cima, na visão do sujeito.
- Extensores de joelho: o dinamômetro foi posicionado sobre a região anterior distal da tíbia. Solicitou-se uma força contrária ao dinamômetro no sentido de tentar estender o joelho.
- Flexor plantar: posicionou-se o pé do indivíduo em posição neutra e o dinamômetro na região posterior do antepé, próximo aos dedos. O indivíduo deveria realizar uma força contra o aparelho, como se fosse empurrar algum pedal.

Foram realizadas três medidas para cada grupo muscular, em ambos os membros, iniciando sempre pelo membro parético, no caso do grupo AVC, considerando-se a média dessas medidas. Respeitou-se um descanso de um minuto entre cada uma das medidas. Os valores obtidos no teste de força muscular foram expressos em libra (L).

3.1.5 Teste de Caminhada de Seis Minutos

O TC6min foi utilizado para avaliar a capacidade funcional dos indivíduos de ambos os grupos. O teste foi realizado de acordo com a *American Thoracic Society*, sendo utilizados: oxímetro de pulso (Nonin Onyx[®] modelo 9500, Plymouth (MN), EUA), trena (LEE TOOLS-600538), esfigmomanômetro e estetoscópio (BD[®]) e cronômetro (Samsung). Os dados vitais - pressão arterial, saturação de oxigênio e frequência cardíaca - foram aferidos antes e após o teste. Uma pista de 30 metros ao ar livre foi utilizada para a execução do teste e os indivíduos foram previamente treinados. Cada indivíduo foi orientado a caminhar pela pista o mais rápido possível, sem correr, durante seis minutos. Se houvesse qualquer tipo de sintoma de desconforto como tontura, dispnéia ou dores, o indivíduo deveria interromper imediatamente o teste. Ao término do teste, a distância percorrida pelo indivíduo foi calculada e registrada em metros (m).

3.2 Sessão de Exercício Aeróbico

Após o primeiro dia de avaliação, os indivíduos foram novamente contactados para realizar uma sessão aguda de exercício aeróbico. A caminhada no solo foi selecionada por ser de fácil aplicação e baixo custo, além de ser comumente empregada em estudos clínicos em indivíduos após AVC (Britto *et al.*, 2006).

Inicialmente, os dados vitais (pressão arterial, saturação de oxigênio e frequência cardíaca) foram aferidos. Para isso foram utilizados os instrumentos: polar (Polar[®] RS800 CX), oxímetro de pulso (Nonin Onyx[®] modelo 9500), esfigmomanômetro e estetoscópio (BD[®]) e cronômetro (Samsung). O polar foi devidamente posicionado no indivíduo, sendo que a cinta foi colocada no tórax com o monitor sobre o processo xifóide e o relógio no pulso do sujeito. Os indivíduos foram instruídos a realizarem uma caminhada aumentando gradualmente a velocidade durante os primeiros cinco minutos até atingirem a zona alvo de treinamento. Foi selecionada a intensidade leve de treinamento (35 a 59% da FC_{máx}). Assim

permaneceram durante os 30 minutos seguintes, e finalmente, diminuíram a velocidade gradualmente nos últimos 5 minutos para resfriamento, totalizando quarenta minutos de caminhada. Os indivíduos foram orientados quanto à realização da caminhada e à interrupção da mesma, caso surgisse qualquer tipo de sintoma de desconforto como dores, tontura ou dispnéia.

A zona alvo de treinamento durante os trinta minutos de caminhada intermediários foi calculada de acordo com a fórmula de Karvonen (I Consenso de Nacional de Reabilitação Cardiovascular, 1997). Primeiramente obtém-se a $FC_{máx}$ ($FC_{máx} = 220 - idade$) e, em seguida, calcula-se o percentual da $FC_{máx}$ segundo a fórmula:

$$FCT = FCR + x\% (FC_{máx} - FCR)$$

Onde:

- FCT: frequência cardíaca de treinamento
- FCR: frequência cardíaca de repouso
- x%: percentual da frequência cardíaca desejada para o treinamento (?)
- $FC_{máx}$: frequência cardíaca máxima

Quando o indivíduo fazia uso de betabloqueador, foi determinado o percentual da redução da FCT ou %FC a ser corrigida, segundo a fórmula (I Consenso de Nacional de Reabilitação Cardiovascular, 1997):

$$\%FC \text{ a corrigir} = Y + 95,58 / 9,74$$

Onde Y será a dose em mg do medicamento utilizado.

O sangue foi coletado imediatamente antes e após a caminhada de quarenta minutos, para mensuração dos níveis de proBDNF e BDNF em ambos os grupos.

3.3 Material Biológico

3.3.1 Coleta de Sangue

O sangue foi coletado imediatamente antes e após a sessão de exercício aeróbico. Durante a coleta, o indivíduo permaneceu sentado e com um dos membros superiores repousando sobre uma mesa. Foram colhidos aproximadamente 10 ml de sangue venoso da veia ulnar, em dois tubos plásticos descartáveis a vácuo (marca *Vacuum II*), sem aditivo. Após

a coleta, os tubos foram deixados por trinta minutos em temperatura ambiente e, posteriormente, mantidos em uma caixa de isopor com gelo.

Após a coleta de sangue, as amostras foram processadas no Laboratório de Neurobiologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). Os tubos foram centrifugados a 2000 rpm por 10 minutos em centrífuga (*CENTRIBIO TDL80-2B*). Após a centrifugação, foi separado apenas o sobrenadante, que consistia em soro e aliqüotados em tubo cônico tipo *eppendorf* de 500 μL (marca *Cral-Plast*), com a identificação dos indivíduos do grupo controle ou AVC. Todos estes procedimentos foram realizados em uma bancada limpa e esterilizada, utilizando os devidos cuidados de proteção. As amostras foram, então, estocadas em freezer a -70C° .

Após a obtenção do material biológico de todos os indivíduos de ambos os grupos, as amostras de sangue foram enviadas para o Laboratório Interdisciplinar de Investigação Médica da Faculdade de Medicina da UFMG, onde foram mensuradas as concentrações de proBDNF e BDNF.

3.3.2 Mensuração dos Níveis de proBDNF e BDNF

As concentrações de proBDNF e BDNF no soro foram mensuradas por meio da técnica de ensaio imunoenzimático (ELISA). A técnica baseia-se no uso de antígenos ou anticorpos marcados com uma enzima, de forma que os conjugados resultantes tenham atividade tanto imunológica quanto enzimática. Apresenta um dos componentes (antígeno ou anticorpo) fixado sobre um suporte adsorvente, o complexo antígeno anticorpo-conjugado fica imobilizado, e a reação pode ser facilmente revelada mediante a adição de um substrato específico que poderá atuar com a enzima produzindo uma cor visível a olho nu ou quantificável mediante o uso de técnicas colorimétricas e espectrofotométricas. Foram utilizados kits comerciais *DuoSet*, *R&D Systems*, *Minneapolis, MN, USA*. O limite de detecção foi 10 pg/mL para proBDNF e BDNF.

Inicialmente, os kits foram preparados de acordo com as instruções do fabricante. No primeiro dia, a placa de ELISA foi sensibilizada com 100 μL de anticorpo de captura por poço na concentração de 55,5 $\mu\text{L}/10,5\text{mL}$ diluído em solução salina tamponada com fosfato (PBS) estéril. Em seguida, a placa foi vedada e incubada a 4°C *overnight*. No segundo dia, a placa foi lavada quatro vezes utilizando solução de lavagem constituída de PBS com 0,05% de Tween 20 (*Sigma*, *St. Louis, MO, USA*) no lavador automático de placas de ELISA (*ELx50*

Auto Strip Washer), para retirar o anticorpo de captura que não se aderiu à fase sólida. Posteriormente, foram adicionados 200 µL por poço da solução de bloqueio (BSA) 1% em PBS e a placa foi incubada em temperatura ambiente por duas horas sob agitação constante no agitador automático de placas de ELISA (*Titer Plate Shaker, Lab. Line Instruments, INC*). Esse procedimento promove a ligação da solução de bloqueio nos sítios inespecíficos onde não ocorreu ligação do anticorpo de captura. A placa foi novamente lavada quatro vezes com solução de lavagem e foram adicionados 100 µL das amostras, dos padrões e do branco (solução diluente das amostras, BSA 0,1%). A placa foi vedada e incubada a 4°C *overnight*. No terceiro dia, a placa foi lavada quatro vezes com solução de lavagem e foram adicionados 100 µL por poço do anticorpo de detecção biotilado, na concentração de 55,5 µL/10,5mL, diluído em BSA 0,1%. Em seguida, a placa foi incubada em temperatura ambiente por duas horas sob agitação constante. A placa foi lavada quatro vezes com solução de lavagem e foram adicionados 100 µL por poço de solução estreptavidina conjugada a peroxidase e mantida em temperatura ambiente por 30 minutos no agitador de placas. A placa foi novamente lavada e foram adicionados 100 µL por poço da solução cromógeno/substrato contendo 4 mg/mL de solução substrato o-fenilenodiamina dihidroclorido (OPD) (*Sigma, St. Louis, MO, USA*) em 10 mL de tampão citrato e 2 µL de H₂O₂, por 15 a 20 minutos, abrigado da luz. A reação foi interrompida com a adição de 50 µL por poço da solução *stop* (1M de H₂SO₄). Foi realizada a leitura da placa de ELISA em espectrofotômetro com filtro de referência de 492 nm (*Spectra Max 250, Molecular Devices, Minneapolis, MN, USA*), sendo determinadas as concentrações dos marcadores a partir da curva-padrão através do programa *Soft Max Pro* versão 3.1.1, *Molecular Devices, Minneapolis, MN, USA*. Os resultados foram expressos em pg/mL.

3.4 Análise Estatística

A análise estatística foi realizada usando o programa estatístico SPSS (versão 15.0) e foi considerado $p < 0,05$ como nível de significância. Para análise de normalidade dos dados, devido ao tamanho dos grupos, foi utilizado o teste de Shapiro-Wilk. Para a comparação das variáveis do mesmo grupo ou entre os grupos, optou-se pelos testes T (amostras pareadas ou não pareadas) quando a distribuição foi paramétrica, e, os testes de Wilcoxon ou Mann-Whitney quando a distribuição foi não paramétrica. Para a correlação entre as variáveis foram utilizadas a Correlação de Pearson ou o Coeficiente de Correlação de Spearman.

4. RESULTADOS

Após o recrutamento de indivíduos e verificação dos critérios de elegibilidade, o grupo controle foi constituído por 21 indivíduos hígidos e o grupo AVC por 20 indivíduos após AVC na fase crônica, com tempo médio de lesão de 6,2 anos.

A **Tabela 1** ilustra os dados dos indivíduos de ambos os grupos. Ressalta-se que os grupos foram homogêneos quanto à idade, IMC, função cognitiva e função afetiva.

Tabela 1: Características clínicas dos participantes do estudo.

| Variáveis | Grupo Controle | Grupo AVC | Valor de <i>p</i> |
|--------------------------|----------------|------------|-------------------|
| | (n=21) | (n=20) | |
| Gênero (M/F) | 10 / 11 | 11 / 9 | 0,268* |
| Idade (anos) | 56,6 (9,5) | 62,0 (8,4) | 0,064** |
| IMC (kg/m ²) | 27,4 (3,6) | 27,5 (3,0) | 0,602** |
| Doenças associadas | 1 (0 - 3) | 2 (1 - 4) | <0,001 |
| MEEM | 24,3 (2,5) | 22,1 (3,8) | 0,074*** |
| HADS-D | 3,5 (3,2) | 5,2 (3,6) | 0,149*** |

Abreviações: n, número de indivíduos; AVC, acidente vascular cerebral; M, masculino; F, feminino; IMC, índice de massa corporal; kg, kilogramas; m, metros; MEEM, Mini-Exame do Estado Mental; HADS-D, Escala Hospitalar de Depressão de Hamilton. Dados apresentados em valor absoluto, média (desvio padrão) ou mediana (valor mínimo - valor máximo). Teste utilizado: *teste do qui quadrado, **teste t de *Student* não pareado, ***teste de *Mann-Whitney*.

Em relação às doenças associadas, houve maior frequência de hipertensão arterial sistêmica, sendo 16 (80%) indivíduos no grupo AVC e 11 (52,4%) indivíduos no grupo controle. Essa foi seguida de dislipidemia (13, 65%) e (6, 28,6%), diabetes (7, 35%) e (2, 9,5%) e cardiopatia (2, 10%) e 0, respectivamente, para o grupo AVC e o grupo controle.

Quanto à realização de atividade física, quatro indivíduos (19%) do grupo controle e três (15%) do grupo AVC praticavam exercícios regulares, três a cinco vezes por semana, há mais de dois meses. Entretanto, no grupo AVC, outros onze indivíduos (55%) estavam em tratamento fisioterápico de duas a três vezes por semana.

De acordo com a HADS-D, no grupo controle, dezoito (85,7%) indivíduos apresentaram escores abaixo de oito e apenas três (14,3%) apresentaram escores iguais ou acima de nove, o que sugere depressão. Para o grupo AVC, a proporção foi quinze (75%) e cinco (25%), respectivamente.

Em relação aos escores obtidos a partir do PAH e a distância percorrida no TC6min, o grupo AVC apresentou valores estatisticamente menores (**Tabela 2**).

Tabela 2: Nível de atividade física e capacidade de marcha para os participantes do estudo.

| Variáveis | Grupo Controle (n=21) | Grupo AVC (n=20) | Valor de p |
|------------|--------------------------|---------------------|--------------------|
| EMA | 80,0 (5,8) | 70,9 (13,4) | 0,007* |
| EAA | 71,9 (6,2) | 51,4 (31,3) | <0,001* |
| TC6min (m) | 493,2 (84,2) | 286,6 (160,1) | <0,001** |

Abreviações: n, número de indivíduos; AVC, acidente vascular cerebral; EMA, Escore Máximo de Atividade; EAA, Escore Ajustado de Atividade; TC6min, Teste de Caminhada de Seis Minutos. Dados apresentados em média (desvio padrão). Teste utilizado: *teste de *Mann-Whitney*, **teste t de *Student* não pareado.

EMA corresponde ao nível mais alto de gasto energético de um indivíduo e EAA fornece uma estimativa do nível médio de energia gasto por um indivíduo. Os resultados do EAA mostraram que no grupo controle não havia indivíduos considerados inativos, enquanto que quatorze (66,7%) eram moderadamente ativos e sete (33,3%) eram considerados ativos. Entretanto, no grupo AVC, seis (30%) eram inativos, onze (55%) moderadamente ativos e apenas três (15%) eram ativos.

Houve correlação estatisticamente significativa entre a distância percorrida no TC6min e os escores obtidos no EMA (grupo controle: $rs=0,668$, $p=0,001$; grupo AVC: $rs=0,564$, $p=0,012$) e no EAA (grupo controle: $rs=0,630$, $p=0,002$; grupo AVC: $rs=0,628$, $p=0,004$).

A força dos músculos flexores de quadril, extensores de joelho e flexores plantares estão expressas em libras. Foram comparados os valores entre as forças de membro inferior dominante e não dominante para o grupo controle e entre membro afetado e não afetado para

o grupo AVC (**Tabela 3**). Houve diferença estatisticamente significativa apenas para o grupo de flexores plantares entre membro afetado e não afetado do grupo AVC.

Tabela 3: Força muscular para membro inferior do grupo controle e AVC.

| Grupos Musculares | | | |
|------------------------------|----------------|--------------------|-------------------|
| Grupo Controle (n=21) | | | |
| | Lado dominante | Lado não dominante | Valor de <i>p</i> |
| Flexores de quadril | 36,0 (3,3) | 36,1 (3,6) | 0,930* |
| Extensores de joelho | 28,9 (3,3) | 28,4 (3,6) | 0,862** |
| Flexores plantares | 23,8 (2,1) | 24,1 (2,6) | 0,595* |
| Grupo AVC (n=20) | | | |
| | Lado afetado | Lado não afetado | Valor de <i>p</i> |
| Flexores de quadril | 22,5 (11,4) | 29,9 (12,9) | 0,062* |
| Extensores de joelho | 21,8 (10,9) | 28,5 (12,1) | 0,075* |
| Flexores plantares | 13,4 (7,1) | 19,8 (7,0) | 0,003** |

Abreviações: n, número de indivíduos; AVC, acidente vascular cerebral. Dados apresentados em média (desvio padrão). Teste utilizado: *teste t de *Student* não pareado, **teste de *Mann-Whitney*.

A **Tabela 4** ilustra os níveis séricos basais de proBDNF e BDNF para o grupo controle e o grupo AVC.

Tabela 4: Comparação dos níveis séricos basais de proBDNF e BDNF (pg/ml) entre os grupos.

| Variável | Grupo Controle | Grupo AVC | Valor de <i>p</i> |
|-----------------|----------------------------|----------------------------|--------------------------|
| proBDNF | 405,4 (279,9 - 624,4) | 322,4 (85,9 - 562,1) | 0,426 |
| BDNF | 13055,6 (9481,5 - 15350,4) | 11127,3 (8729,2 - 15706,6) | 0,778 |

Abreviações: AVC, acidente vascular cerebral; proBDNF, precursor de fator neurotrófico derivado do cérebro; BDNF, fator neurotrófico derivado do cérebro. Dados apresentados em mediana (primeiro quartil - terceiro quartil). Teste utilizado: teste de *Mann-Whitney*.

Os níveis séricos de proBDNF e BDNF foram comparados antes e após a sessão de exercício aeróbico, em baixa intensidade, para os dois grupos (**Tabela 5:** Grupo Controle e **Tabela 6:** Grupo AVC).

Tabela 5: Comparação dos níveis séricos basais de proBDNF e BDNF (pg/ml) antes e após a sessão de exercício aeróbico para o grupo controle.

| Variável | Grupo Controle | | |
|----------|----------------------------|-----------------------------|-------------------|
| | Antes | Após | Valor de <i>p</i> |
| proBDNF | 405,4 (279,9 - 624,4) | 497,0 (64,3 - 656,1) | 0,778 |
| BDNF | 13055,6 (9481,5 - 15350,4) | 13198,0 (10742,3 - 14189,1) | 0,778 |

Abreviações: proBDNF, precursor de fator neurotrófico derivado do cérebro; BDNF, fator neurotrófico derivado do cérebro. Dados apresentados em mediana (primeiro quartil - terceiro quartil). Teste utilizado: teste de *Wilcoxon*.

Tabela 6: Comparação dos níveis séricos basais de proBDNF e BDNF (pg/ml) antes e após a sessão de exercício aeróbico para o grupo AVC.

| Variável | Grupo AVC | | |
|----------|----------------------------|-----------------------------|-------------------|
| | Antes | Após | Valor de <i>p</i> |
| proBDNF | 322,4 (85,9 - 562,1) | 248,8 (100,5 - 533,3) | 0,422 |
| BDNF | 11127,3 (8729,2 - 15706,6) | 11510,3 (10306,8 - 15489,5) | 0,717 |

Abreviações: AVC, acidente vascular cerebral; proBDNF, precursor de fator neurotrófico derivado do cérebro; BDNF, fator neurotrófico derivado do cérebro. Dados apresentados em mediana (primeiro quartil - terceiro quartil). Teste utilizado: teste de *Wilcoxon*.

Foram encontradas associações para o tempo de estudo e os níveis de proBDNF ($r_s=0,462$, $p=0,046$) e BDNF ($r_s=0,545$, $p=0,016$) no grupo AVC. Para o grupo controle, foi encontrada associação negativa entre o IMC e os níveis de BDNF ($r_s= -0,484$, $p=0,031$). Nesse mesmo grupo, houve correlação estatisticamente significativa entre a força de extensores de joelho e a concentração sérica de BDNF ($r=0,450$, $p=0,046$).

5. DISCUSSÃO

Por ser uma das maiores causas de incapacidades em adultos, o AVC tem sido uma condição clínica muito estudada, principalmente pelo impacto que gera sobre a vida ativa dos pacientes e na saúde pública (Michael *et al.*, 2009). A inatividade física após o AVC contribui para maior fraqueza muscular, fadiga e descondicionamento cardiovascular, resultando em limitação funcional (Michael *et al.*, 2005). Por isso, a recuperação motora envolve um processo de reaprendizagem e esse é mediado por processos de neuroplasticidade. Um dos principais fatores envolvidos nesse processo é o BDNF, que tem sido muito associado à recuperação motora após lesão isquêmica em ratos, sendo que uma das formas de se estimular sua produção e liberação é a prática de atividades aeróbicas (Mang *et al.*, 2013).

Em humanos, vários fatores, incluindo a idade, índice de massa corporal e gênero, podem influenciar os níveis periféricos de BDNF (Lommatzsch *et al.*, 2005; Monteleone *et al.*, 2005; Kim *et al.*, 2007; Bus *et al.*, 2011) e as diferenças entre os gêneros parecem ser influenciadas pela variação hormonal (Begliomini *et al.*, 2007). Além disso, o BDNF tem sido considerado um importante fator na fisiopatologia da depressão, uma vez que baixos níveis desta neurotrofina se associam a presença deste distúrbio afetivo (Laske *et al.*, 2010). Dentre suas diversas funções, os níveis de BDNF também se refletem na função cognitiva do indivíduo. Segundo Griffin *et al.* (2011), um maior recrutamento de regiões cerebrais como o hipocampo e outras associadas a estruturas do lobo temporal medial é seguido de aumento dos níveis séricos de BDNF durante o desempenho de uma tarefa cognitiva específica. Para Peng *et al.* (2005), os níveis séricos de proBDNF e BDNF estão reduzidos precocemente na doença de Alzheimer e se correlacionam com a perda cognitiva gradual do paciente, sugerindo que esses desempenham um papel na perda sináptica e no enfraquecimento cognitivo subjacente à disfunção celular resultante da doença. A partir disso, torna-se importante que os grupos avaliados (controle e AVC) sejam homogêneos, quanto aos parâmetros de idade, gênero, IMC, função cognitiva e afetiva, a fim de evitar a influência de tais fatores nos níveis de BDNF.

A redução da capacidade aeróbica é uma das principais deficiências físicas em pacientes com AVC crônico e o desempenho da marcha pode ser afetado por essa redução. Os níveis de aptidão cardiovascular após AVC correspondem a apenas 50% dos níveis normais para a idade e a demanda de energia da marcha hemiparética é duas vezes mais elevada (Ryan *et al.*, 2000).

Como visto nos nossos resultados, o nível de atividade física avaliado por meio do PAH e a distância percorrida mensurada a partir da realização do TC6min confirmam este tipo de comprometimento na amostra após AVC crônico avaliada quando comparada aos indivíduos hígidos. O PAH foi selecionado por ser um instrumento validado e adaptado para a população brasileira (Souza *et al.*, 2006). Quanto à escolha do TC6min para avaliar a capacidade funcional dos sujeitos, Mudge e Stott (2009) concluem que este é um teste que melhor reflete a capacidade de marcha habitual do indivíduo após AVC quando comparado ao teste de caminhada de 10 minutos. Além disso, é uma forma prática e de baixo custo, que ganhou grande importância tanto na prática clínica quanto em pesquisas nos últimos anos (Soares *et al.*, 2004, Dalgas *et al.*, 2012), apresentando várias vantagens para a avaliação da capacidade de exercício em pessoas idosas.

Nossos resultados demonstram uma correlação positiva entre os escores do PAH e as distâncias percorridas no TC6min, ou seja, baixos escores no PAH se associam a piores desempenhos funcionais, o que corrobora a literatura. O PAH é um questionário capaz de exprimir o desempenho físico de pacientes após transplante de células-tronco hematopoiéticas (Kramer *et al.*, 2013) e é considerado uma excelente medida de desempenho tanto em AVC quanto em controles saudáveis (Teixeira-Salmela *et al.*, 2007). Bautmans *et al.* (2004) investigaram a correlação da distância percorrida em idosos no TC6min e suas condições de saúde. Concluíram que a distância no TC6min diminuiu significativamente com o aumento da idade e com a piora do estado de saúde, o que consequentemente reflete no nível de atividade física dos indivíduos.

Este é o primeiro estudo que compara os níveis de proBDNF e BDNF entre indivíduos saudáveis e após AVC na fase crônica, além de avaliar o efeito de uma sessão de caminhada de longa duração nos níveis dessas NT. Não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas para os níveis basais de proBDNF e BDNF entre os grupos, assim como estes níveis não sofreram mudanças estatisticamente significativas após a caminhada durante quarenta minutos, em intensidade leve. Isso pode ser justificado por ter sido selecionada a intensidade baixa, entre 35 e 59% da FCmáx, e sem aumento gradual da mesma.

Entretanto, tal intensidade foi selecionada já que indivíduos após AVC apresentam um descondicionamento físico que resulta em sedentarismo, dando continuidade a um ciclo vicioso de inatividade, e aumentando a demanda energética para uma dada atividade. Estudos randomizados em pacientes após AVC na fase crônica mostram que, apesar de três meses de exercício aeróbico, o pico de VO₂ é elevado em 8% e os níveis de aptidão declinam 10% em comparação ao grupo controle (Rimmer *et al.*, 2000), revelando a relação esperada entre

inatividade e o descondicionamento progressivo. Portanto, a hipótese seria de que mesmo a realização de uma sessão aguda de exercício aeróbico em intensidade leve, resultaria em modificação nos níveis de NT para esta população.

Além disso, na literatura, os dados são controversos no que se refere às mudanças das concentrações periféricas de BDNF mediante a realização de exercícios, em curto ou longo prazo, em humanos. De acordo com a revisão sistemática de Coelho *et al.* (2013), não há um protocolo de tipo e intensidade de exercício físico estabelecido para aumentar os níveis de BDNF, apesar de os estudos sugerirem que os exercícios em intensidade moderada parecem ser mais efetivos para este objetivo em idosos.

Tang *et al.* (2008) detectaram um aumento transitório de BDNF induzido após 15 minutos de *step* em indivíduos saudáveis, sendo que os níveis intra-individuais antes e após a atividade são relativamente estáveis. Já Vega *et al.* (2006) verificaram que períodos curtos de apenas dez minutos, em intensidade moderada, não foram capazes de alterar os níveis séricos dessa neurotrofina. Gold *et al.* (2003) observaram um pequeno aumento nos níveis séricos de BDNF em pacientes com esclerose múltipla e indivíduos saudáveis após submetê-los a atividade aeróbica moderada, durante 30 minutos, mantendo 60% do VO₂máx, apesar de não terem detectado diferenças nos níveis basais entre os grupos antes do exercício. Entretanto, nesse estudo foi utilizado o teste ergométrico para determinação do VO₂máx e o exercício foi realizado em bicicleta ergométrica, além de os indivíduos não serem idosos.

Além disso, os estudos geralmente usam testes ergométricos com incremento até a exaustão (Brunelli *et al.*, 2012) ou, em algumas situações, curtos períodos em alta intensidade (Griffin *et al.*, 2011) para avaliar os efeitos do exercício agudo nos níveis periféricos de BDNF ou proBDNF, diferente do nosso estudo em que os indivíduos permaneceram em baixa intensidade e sem incrementos ao longo dos quarenta minutos de caminhada.

Esses dados mostram que a elevação dos níveis séricos de BDNF pode ser transitória e dependente do tipo e da intensidade do exercício (Ferris *et al.*, 2007; Gustafsson *et al.*, 2009; Coelho *et al.*, 2013). Ainda deve ser considerado que os parâmetros utilizados para a realização do exercício podem resultar em estresse ao indivíduo, sendo que o cortisol é conhecido como fator de inibição à expressão de BDNF (Murakami *et al.*, 2005).

A correlação entre força de extensores de joelho com os níveis séricos de BDNF no grupo controle pode ser explicada pelo fato de que os músculos estriados além de produzirem, são tecidos-alvo do BDNF (Funakoshi *et al.*, 1993.; Yamamoto *et al.*, 1996) e, como esse grupo muscular é um importante elemento da marcha, sua maior eficiência na produção de força pode estar relacionada a sua maior eficácia na produção e na “receptividade” do BDNF.

Além disso, Matthews *et al.* (2009) mostraram que o BDNF é liberado do tecido muscular para a circulação sanguínea em humanos durante a contração. Eles sugeriram a possibilidade de que os músculos esqueléticos podem contribuir com um aumento do nível de circulação de BDNF induzido pela contração muscular.

Apesar de este ser o primeiro estudo investigando mudanças dos níveis de proBDNF e BDNF ao exercício agudo em indivíduos na fase crônica após o AVC, as principais limitações foram o número pequeno de participantes em ambos os grupos, o que é um fator importante quando se investiga neurotrofinas e o fato de ter sido realizada a caminhada em baixa intensidade.

6. CONCLUSÃO

Nossos resultados indicam que uma sessão de exercício aeróbico (caminhada no solo) por quarenta minutos, em baixa intensidade e sem incremento, não é capaz de modificar os níveis séricos de proBDNF e BDNF em indivíduos hígidos e após AVC na fase crônica. Estudos futuros devem ser realizados para investigar a produção de BDNF em resposta a outras modalidades de exercícios, em curto e longo prazo, e de intensidades diferentes, na fase crônica após AVC, considerando o seu importante papel neuroprotetor, regenerativo e na adaptação neural.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADA, L.; DEAN, C. M.; MORRIS, M. E.; SIMPSON, J. M.; KATRAK, P. **Randomized trial of treadmill walking with body weight support to establish walking in subacute stroke: the MOVILISE trial.** *Stroke*, 41:1237–42; 2010.

ADLARD, P.A; COTMAN, CW. **Voluntary exercise protects against stress-induced decreased in brain-derived neurotrophic factor protein expression.** *Neuroscience*, 124(4): 985-92; 2004.

ALMEIDA, O.P. **Mini-exame do estado mental e o diagnóstico de demência no Brasil.** *Arq Neuropsiquiatr.* 56(3B):605-12, 1998.

AMERICAN THORACIC SOCIETY. **ATS Statement: Guidelines for the Six-Minute Walk Test.** *Am J Respir Crit Care Med*, 166: 111-17, 2002.

AMINOFF, J. et al. **Acidentes Vasculares Cerebrais.** *Neurologia Clínica.* 5ª edição. Porto Alegre: ArtMed, p. 352; 2005.

ARSENJEVIC, Y; WEISS, S. **Insulin-like growth factor-I is a differentiation factor for postmitotic CNS stem cell-derived neuronal precursors: distinct actions from those of brain-derived neurotrophic factor.** *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience.* 18(6): 2118-28; 1998.

BAUTMANS, I.; LAMBERT, M.; METS, T. **The six-minute walk test in community dwelling elderly: influence of health status.** *BMC geriatrics*, 4: 6, 2004.

Begliuomini, S., Lenzi, E., Ninni, F., Casarosa, E., Merlini, S., Pluchino, N., Valentino, V., Luisi, S., Luisi, M., Genazzani, A.R. **Plasma brain-derived neurotrophic factor daily variations in men: correlation with cortisol circadian rhythm.** *The Journal of Endocrinology*; 197: 429–35; 2008.

BINA, K.G., RUSAK, B. **Nerve growth factor phase shifts circadian activity rhythms in Syrian hamsters.** *Neuroscience Letters*; 206: 97–100; 1996.

BITTNER, V.; WEINER, D. H.; YUSUF, S.; ROGERS, W. J.; MCINTYRE, K. M.; BANGDIWALA. S. I. **Prediction of Mortality and Morbidity With a 6-Minute Walk Test in Patients With Left Ventricular Dysfunction.** *JAMA*, 270:1702-07; 1993.

Begliuomini, S; Casarosa, E ; Pluchino, N ; Lenzi, E ; Centofanti, M; Freschi, L ; Pieri, M ; Genazzani, A. D ; Luisi, S ; Genazzani, Andrea R. **Influence of endogenous and exogenous sex hormones on plasma brain-derived neurotrophic factor.** *Human Reproduction*; 22(4): 995-1002; 2007.

Bertolucci PH, Brucki SM, Campacci SR, Juliano Y. **O mini-exame do estado mental em uma população geral: impacto da escolaridade.** *Arq Neuropsiquiatr*; 52:1-7; 1994.

- BOVA, R., MICHELI, M.R., QUALADRUCCI, P., ZUCCONI, G.G. **BDNF and trkB mRNAs oscillate in rat brain during the light-dark cycle.** Brain Research. Molecular Brain Research; 57: 321–24, 1998.
- BRITTO, R. R., SOUSA, L. A. P. **Teste de caminhada de seis minutos: uma normatização brasileira.** Fisioterapia em Movimento; 19 (4): 49-54, 2006.
- BRUNELLI, A.; DIMAURO, I.; SGRÒ, P.; EMERENZIANI, G.P.; MAGI, F.; BALDARI, C.; GUIDETTI, L.; DI LUIGI, L.; PARISI, P.; CAPOROSSI, D. **Acute exercise modulates BDNF and pro-BDNF protein content in immune cells.** Med Sci Sports Exerc. 44(10):1871-80, 2012.
- BRUNONI, A.R; LOPES, M. ; FREGNI, F. **A systematic review and meta-analysis of clinical studies on major depression and BDNF levels: Implications for the role of neuroplasticity in depression.** International Journal of Neuropsychopharmacology, 11(8): 1169-80, 2008.
- BURGOYNE, R. D.; MORGAN, A. **Secretory granule exocytosis.** Physiol. Rev., 83:581–632, 2003.
- BUS, B. A. A.; MOLENDIJK, M. L.; PENNINX, B. J. W. H.; BUITELAAR, J. K.; KENIS, G.; PRICKAERTS, J.; ELZINGA, B. M.; VOSHAAR, R. C. Oude. **Determinants of serum brain-derived neurotrophic factor.** Psychoneuroendocrinology; 36(2): 228-39, 2011.
- CAHALIN, L.P.; MATHIER, M. A.; SEMIGRAW, M. J.; DEC, G. W.; DISALVO, T. G. **The Six-Minute Walk Test Predicts Peak Oxygen Uptake and Survival in Patients With Advanced Heart Failure.** Chest, 110:325-32, 1996.
- CARRO, E.; TREJO, J. L.; BUSIGUINA, S.; TORRES-ALEMAN, I. **Circulating insulin-like growth factor mediates the protective effects of physical exercise against brain insults of different etiology and anatomy.** J. Neurosci, 21:5678–84, 2001.
- CHAO, M.V., BOTHWELL, M. **Neurotrophins: to cleave or not to cleave.** Neuron, 33: 9–12, 2002.
- CHOI, S.W; BHANG, S; AHN, J.H. **Diurnal variation and gender differences of plasma brain-derived neurotrophic factor in healthy human subjects.** Psychiatry Research, 186: 427–30, 2011.
- COELHO, F.G.M; GOBBI, S; ANDREATTO, C.A.A; CORAZZA, D.I; PEDROSO, R.V; SANTOS-GALDURO, R.F. **Physical exercise modulates peripheral levels of brain-derived neurotrophic factor (BDNF): A systematic review of experimental studies in the elderly.** Archives of Gerontology and Geriatrics; 56: 10–15, 2013.
- I Consenso Nacional de Reabilitação Cardiovascular.** Arq Bras Cardiol; 69 (4), 1997.
- COTMAN, C.W; BERCHTOLD, N.C. **Exercise: a behavioral intervention to enhance brain health and plasticity.** Trends In Neurosciences; 25(6): 295-301, 2002.
- CURRIE, K.D; THOMAS, SG ; GOODMAN, J.M. **Effects of short-term**

endurance exercise training on vascular function in young males. *European Journal Of Applied Physiology*; 107(2): 211-218, 2009.

DALGAS,U; SEVERINSEN, K; OVERGAARD,K. **Relations Between 6 Minute Walking Distance and 10 Meter Walking Speed in Patients With Multiple Sclerosis and Stroke.** *Arch Phys Med Rehabil*; 93, 2012.

DAUGHTON DM, FIX AJ, KASS I, BELL CN, PATIL KD. **Maximum oxygen consumption and the ADAPT quality-of-life scale.** *Arch Phys Med Rehabil*; 63:620-2; 1982.

DEGENS, H.; ALWAYS, S. E. **Skeletal muscle function and hypertrophy are diminished in old age.** *Muscle Nerve*; 27(3):339–47, 2003.

DE DEYNE, P.G.; HAFER-MACKO, C.E.; IVEY, F.M; RYAN, A. S.; MACKO, R. F. **Muscle molecular phenotype after stroke is associated with gait speed.** *Muscle Nerve*, 30(2):209–15, 2004.

DE KOCK, C.P., BURNASHEV, N., LODDER, J.C., MANSVELDER, H.D., BRUSSAARD, A.B. **NMDA receptors induce somatodendritic secretion in hypothalamic neurons of lactating female rats.** *J. Physiol*; 561: 53–64, 2004.

DINIZ, B.S; TEIXEIRA, AL ; TALIB, LL ; AMARAL, V ; GATTAZ, WF ; FORLENZA, OV. **Serum BDNF and cytokines levels in anti-depressant free late-life depression patients: effects of age of depression onset and clinical characteristics.** *Bipolar Disorders*, 12:17-28, 2010.

DOLCI, C., MONTARULI, A., ROVEDA, E., BARAJON, I., VIZZOTTO, L., GRASSI ZUCCONI, G., CARANDENTE, F. **Circadian variations in expression of the trkB receptor in adult rat hippocampus.** *Brain Research*; 994: 67–72, 2003.

DORSCH, S; ADA, L; CANNING, C.G; AL-ZHARANI, M. **The strength of the ankle dorsiflexors has a significant contribution to walking speed in people who can walk independently after stroke: an observational study.** Elsevier, 2012.

DOYLE, K. P.; SIMON, R.P.; STENZEL-POORE, M.P. **Mechanisms of ischemic brain damage.** *Neuropharmacology*; 55:310-18, 2008.

DUNCAN, P. W.; SAMSA, G. P.; WEINBERGER, M. **Health status of individuals with mild stroke.** *Stroke*; 28:740–45, 1997.

EGAN, M. F.; KOJIMA, M.; CALLICOTT, J. H.; GOLDBERG, T. E.; KOLACHANA, B. S.; BERTOLINO, A. **The BDNF Val66Met polymorphism affects activity-dependent secretion of BDNF and human memory and hippocampal function.** *Cell*; 112:257–69, 2003.

FALCÃO, I. V.; CARVALHO, E. M. F.; BARRETO, K. M. L.; LESSA, F. J. D.; LEITE, V. M. M. **Acidente vascular cerebral precoce: implicações para adultos em idade produtiva atendidos pelo Sistema Único de Saúde.** *Revista Brasileira de Saúde Materno-Infantil*. 4(1):95, 2004.

FERRIS, L. T.; WILLIAMS, J. S.; SHEN, C. L. **The effect of acute exercise on serum brain-derived neurotrophic factor levels and cognitive function.** *Medicine & Science in Sports & Exercise*; 39:728–34, 2007.

FOLSTEIN, M.F.; FOLSTEIN, S.E.; MCHUGH, P.R. **Mini-mental state: a practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician.** *J Psychiatric Res*; 12:189-98, 1975.

FUNAKOSHI, H.; FRISEN, J.; BARBANY, G.; TIMMUSK, T.; ZACHRISSON, O.; VERGE, V. M. **Differential expression of mRNAs for neurotrophins and their receptors after axotomy of the sciatic nerve.** *J Cell Biol*; 123: 455–65, 1993.

GOODMAN, L. J.; VALVERDE, J.; LIM, F.; GESCHWIND, M. D.; FEDEROFF, H. J.; GELLER, A. I.; HEFTI F. **Regulated release and polarized localization of brain-derived neurotrophic factor in hippocampal neurons.** *Mol. Cell Neurosci*;7:222–38, 1996.

GOLD, S. M.; SCHULZ, K. H.; HARTMANN, S.; MLADEK, M.; LANG, U. E.; HELLWEG, R.; REER, R.; BRAUMANN, K.M.; HEESSEN, C. **Basal serum levels and reactivity of nerve growth factor and brain-derived neurotrophic factor to standardized acute exercise in multiple sclerosis and controls.** *J. Neuroimmunol*; 138:99–105, 2003.

GORDON, W. A.; HIBBARD, M. R. **Poststroke depression: An examination of the literature.** *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation*. 78(6):658-663, 1997.

GRIFFIN, ÉW.; MULLALLY, S.; FOLEY, C.; WARMINGTON, S.A.; O'MARA, S.M.; KELLY, A.M. **Aerobic exercise improves hippocampal function and increases BDNF in the serum of young adult males.** *Physiol Behav*. 24;104(5):934-41, 2011.

GUSTAFSSON, G.; LIRA, C. M.; JOHANSSON, J.; WISE'N, A. **The acute response of plasma brain-derived neurotrophic factor as a result of exercise in major depressive disorder.** *Psychiatry Research*; 169:244–48, 2009.

HACK, W.; KASTE, M.; BOGOUSSLAVSKY, J.; BRAININ, M.; CHAMORRO, A.; LEES, K. **European Stroke Initiative Executive Committee and the EUSI Writing Committee.** *European Stroke Initiative Recommendations for Stroke Management update, Cerebrovasc Dis*; 16:311-37, 2003.

HACKETT, M. L.; ANDERSON, C. S.; HOUSE, A. O. **Management of Depression After Stroke: A Systematic Review of Pharmacological Therapies.** *Stroke*; 36:1092-1097, 2005.

HABIB, M. **Bases Neurológicas dos Comportamentos.** 1ª edição. Lisboa: Climepsi. 2000.

HADDAD, F.; ROY, R. R.; ZHONG, H.; EDGERTON, V. R.; BALDWIN, K. M. **Atrophy responses to muscle inactivity.II. Molecular markers of protein deficits.** *J Appl Physiol*; 95(2):791–802, 2003.

HAFER-MACKO, C. E.; RYAN, A. S.; IVEY, F. M.; MACKO, R. F. **Skeletal muscle changes after hemiparetic stroke and potential beneficial effects of exercise intervention strategies.** *Journal of Rehabilitation Research & Development*;45(2):261(12), 2008.

HAMDORF, P. A.; WITHERS, R. T.; PENHALL, R. K.; HASLAM, M. V. **Physical training effects on the fitness and habitual activity patterns of elderly women.** *Arch Phys Med Rehabil*; 73: 603-8; 1993.

HASTINGS, M.H. **Central clocking.** *Trends in Neurosciences*; 20:459–64, 1997.

HILL, K.; ELLIS, P.; BERHNARDT, J.; MAGGS, P.; HULL, S. **Balance and mobility outcomes for stroke patients: a comprehensive audit.** *Aust J Physiother*;43:173–180, 1997.

INSTRUMENTO STEPS DE AVC DA OMS. **Instrumento STEPS de Acidente Vascular Cerebral. Versão 2.1. 2009.** Disponível em: <http://pt.scribd.com/doc/164729565/Steps-stroke-Manual-Portugues>. Acesso em: 6 de jan. 2009.

JAKOBSSON, F.; EDSTROM, L.; GRIMBY, L.; THORNELL, L. E. **Disuse of anterior tibial muscle during locomotion and increased proportion of type II fibres in hemiplegia.** *J Neurol Sci*;105(1):49–56, 1991.

KALB, R.; **The protean actions of neurotrophins and their receptors on the life and death of neurons.** *TRENDS in Neurosciences*;28 (1) , 2005.

KAREGE F, PERRET G, BONDOLFI G, SCHWALD M, BERTSCHY G, AUBRY JM. **Decreased serum brain-derived neurotrophic factor levels in major depressed patients.** *Psychiatry Res*; 109(2):143–8, 2002.

KERSCHENSTEINER, M; GALLMEIER, E ; VARGAS, V ; STADELMANN, C ; BEHRENS, L ; KLINKERT, WEF ; KOLBECK, R ; LASSMANN, H ; WEKERLE, H; HOHLFELD, R. **Inflammatory cells produce brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in multiple sclerosis brain lesions.** *Neurology*; 52(6): A265-66, 1999.

KELLY, J. O.; KILBREATH, S. L.; DAVIS, G. M.; ZEMAN, B.; RAYMOND, J.. **Cardiorespiratory Fitness and Walking Ability in Subacute Stroke Patients.** *Arch Phys Med Rehabil*; 84. 2003.

KIM, J.M., STEWART, R., KIM, S.W., YANG, S.J., SHIN, I.S., KIM, Y.H., YOON, J.S. **Interactions between life stressors and susceptibility genes (5-HTTLPR and BDNF) on depression in Korean elders.** *Biological Psychiatry*; 62:423–28; 2007.

KLEIM, J.A; JONES, T.A; SCHALLERT, T. **Motor enrichment and the induction of plasticity before or after brain injury.** *Neurochem Res*; 28: 1757–69, 2003.

KLEIM, J.A; CHAN, S; PRINGLE, E; SCHALLERT, K; PROCACCIO, V; JIMENEZ, R; CRAMER, S.C. **BDNF val66met polymorphism is associated with modified experience-dependent plasticity in human motor cortex.** *Nat Neurosci*; 9:735-37, 2006.

- KNAEPEN, K.; GOEKINT, M.; HEYMAN, E. M.; MEEUSEN, R. **Neuroplasticidade exercise-induced response of peripheral brain-derived neurotrophic factor: a systematic review of experimental studies in human subjects.** *Sports Med*; 40:765-801, 2010.
- KOLAROW, R., BRIGADSKI, T., LESSMANN, V. **Postsynaptic secretion of BDNF and NT-3 from hippocampal neurons depends on calcium calmodulin kinase II signaling and proceeds via delayed fusion pore opening.** *J. Neurosci*; 27:10350–10364, 2007.
- KOMULAINEN, P; PEDERSEN, M. ; HÄNNINEN, T. ; BRUUNSGAARD, H. ; LAKKA, T.A. ; KIVIPELTO, M. ; HASSINEN, M. ; RAURAMAA, T.H. ; PEDERSEN, B.K. ; RAURAMAA, R. **BDNF is a novel marker of cognitive function in ageing women: The DR's EXTRA Study.** *Neurobiology of Learning and Memory*;90(4):.596-603, 2008.
- KRABBE, K.S; MORTENSEN, ERIK L. ; AVLUND, KIRSTEN ; PEDERSEN, AGNES N. ; PEDERSEN, BENTE K. ; JØRGENSEN, TORBEN ; BRUUNSGAARD, HELLE. **Brain-Derived Neurotrophic Factor Predicts Mortality Risk in Older Women.** *Journal of the American Geriatrics Society*; 57(8):1447-52, 2009.
- KRAMER, M.; HEUSSNER, P.; HERZBERG, P. Y.; ANDREE, H.; HILGENDORF, I.; LEITHAEUSER, M.; JUNGHANSS, C.; FREUND, M.; WOLFF, D. **Validation of the grip test and human activity profile for evaluation of physical performance during the intermediate phase after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation.** *Support Care Cancer*, 21:1121–29, 2013.
- KUNZ, A.; DIRNAGL, U.; MERGENTHALER, P.. **Acute pathophysiological processes after ischaemic and traumatic brain injury.** *Best Practice & Research Clinical Anaesthesiology*; 24:495-509, 2010.
- KWAKKEL, G.; VAN PEPPEN, R.; WAGENAAR, R. **Effects of augmented exercise therapy time after stroke: a meta-analysis.** *Stroke*; 35:2529–36, 2004.
- LASKE, C.; BANSCHBACH, S.; STRANSKY, E.; BOSCH, S.; STRATEN, G.; MACHANN, J.; FRITSCHKE, A.; HIPPE, A.; NIESS, A.; ESCHWEILER, G. W. **Exercise-induced normalization of decreased BDNF serum concentration in elderly women with remitted major depression.** *International Journal of Neuropsychopharmacology*; 13:595–602, 2010.
- LEßMANN, V.; BRIGADSKI, T. **Mechanisms, locations, and kinetics of synaptic BDNF secretion: An update.** *Neuroscience Research*; 65(1):11-22, 2009.
- LIANG, F.Q., WALLINE, R., EARNEST, D.J. **Circadian rhythm of brain-derived neurotrophic factor in the rat suprachiasmatic nucleus.** *Neuroscience Letters*; 242: 89–92, 1998.
- LIANG, F.Q., ALLEN, G., EARNEST, D. **Role of brain-derived neurotrophic factor in the circadian regulation of the suprachiasmatic pacemaker by light.** *The Journal of Neuroscience*; 20: 2978–87, 2000.

LINDEN, T; BLOMSTRAND, C ; SKOOG, I. **Depressive disorders after 20 months in elderly stroke patients - A case-control study.** *Stroke*; 38(6):1860-63, 2007.

LIU, YU-FAN ; CHEN, HSIUN-ING ; WU, CHAO-LIANG ; KUO, YU-MIN ; YU, LUNG ; HUANG, A-MIN ; WU, FONG-SEN ; CHUANG, JIH-ING ; JEN, CHAUYING J. **Differential effects of treadmill running and wheel running on spatial or aversive learning and memory: roles of amygdalar brain-derived neurotrophic factor and synaptotagmin I.** *The Journal of Physiology*; 587(13):3221-31, 2009.

LOMMATZSCH, M ; ZINGLER, D ; SCHUHBAECK, K ; SCHLOETCKE, K ; ZINGLER, C ; SCHUFF-WERNER, P ; VIRCHOW, JC. **The impact of age, weight and gender on BDNF levels in human platelets and plasma.** *Neurobiology Of Aging*; 26(1): 115-123, 2005.

LOURENÇO, R.A; VERAS, R.P. **Mini-Exame do Estado Mental: características psicométricas em idosos ambulatoriais.** *Rev Saúde Pública*; 40(4):712-9, 2006.

LUFT, A.; MACKO, R.; FORRESTER, L.; GOLDBERG, A.; HANLEY, D. F. **Post-stroke exercise rehabilitation: what we know about retraining the motor system and how it may apply to retraining the heart.** *Cleve Clin J Med*; 75 (Suppl 2):S83–86, 2008.

MACKO, R. F.; DE SOUZA, C. A.; TRETTER, L. D.; SILVER, K. H.; SMITH, G. V.; ANDERSON, P. A. **Treadmill aerobic exercise training reduces the energy expenditure and cardiovascular demands of hemiparetic gait in chronic stroke patients.** *Stroke*; 28:326–30, 1997.

MACKO, R. F.; SMITH, G. V.; DOBROVOLNY, C. L.; SORKIN, J. D.; GOLDBERG, A. P.; SILVER, K. H. **Treadmill training improves fitness reserve in chronic stroke patients.** *Arch Phys Med Rehabil*; 82:879–884, 2001.

MACLELLAN, C.L.; KEOUGH, M.B.; GRANTER-BUTTON, S.; CHERNENKO, G.A.; BUTT, S.; CORBETT, D. **A critical threshold of rehabilitation involving brain-derived neurotrophic factor is required for poststroke recovery.** *Neurorehabil Neural Repair*; 25(8):740-8, 2011.

MANDEL, A.L.; OZDENER, H.; UTERMOHLEN, V. **Identification of pro- and mature brain-derived neurotrophic factor in human saliva.** *Archives of oral biology*; 54:689-95, 2009.

MANG, C. S.; CAMPBELL, K. L.; ROSS, C. J. D.; BOYD, L. A. **Promoting neuroplasticity for motor rehabilitation after stroke: considering the effects of aerobic exercise and genetic variation on brain-derived neurotrophic factor.** (Perspective) *Physical Therapy*; 93(12): 1707-10, 2013.

MARCOLINO, J. A. M.; MATHIAS, L. A. S. T.; FILHO, L. P.; GUARATINI, Á. A.; SUZUKI, F. M.; ALLI, L. A. C. **Escala Hospitalar de Ansiedade e Depressão: Estudo da Validade de Critério e da Confiabilidade com Pacientes no Pré-Operatório.** *Rev. Bras. Anesthesiol.*; 57:1:52-62, 2007.

MATSUMOTO, T; RAUSKOLB, S ; POLACK, M ; KLOSE, J ; KOLBECK, R ; KORTE, M ; BARDE, YA. **Biosynthesis and processing of endogenous BDNF: CNS neurons store and secrete BDNF, not pro-BDNF.** *Nature Neuroscience*; 11(2):131-33, 2008.

MATTHEWS, V. B.; ASTROM, M. B.; CHAN, M. H.; BRUCE, C. R.; KRABBE, K. S.; PRELOVSEK, O.; AKERSTROM, T.; YFANTI, C.; BROHOLM, C.; MORTENSEN, O. H.; PENKOWA, M.; HOJMAN, P.; ZANKARI, A.; WATT, M. J.; BRUUNSGAARD, H.; PEDERSEN, B. K.; FEBBRAIO, M. A. **Brain-derived neurotrophic factor is produced by skeletal muscle cells in response to contraction and enhances fat oxidation via activation of AMP-activated protein kinase.** *Diabetologia*; 52:1409–18, 2009.

MEEK, C.; POLLOCK, A.; POTTER, J.; LANGHORNE, P. **A systematic review of exercise trials post-stroke.** *Clin Rehabil*; 17:6–13, 2003.

MICHAEL, K. M.; ALLEN, J. K.; MACKO, R. F. **Reduced ambulatory activity after stroke: the role of balance, gait, and cardiovascular fitness.** *Arch Phys Med Rehabil*; 86:1552–56, 2005.

MICHAEL, K.; GOLDBERG, A. P.; TREUTH, M. S.; BEANS, J.; NORMANDT, P.; MACKO, R. F. **Progressive Adaptive Physical Activity in Stroke Improves Balance, Gait, and Fitness: Preliminary Results.** *Topics in Stroke Rehabilitation*; 16(2):133(7), 2009.

MONTELEONE, P; FABRAZZO, M; MARTIADIS, V; SERRITELLA, C; PANNUTO, M; MAJ, M. **Circulating brain-derived neurotrophic factor is decreased in women with anorexia and bulimia nervosa but not in women with binge-eating disorder: relationships to co-morbid depression, psychopathology and hormonal variables.** *Psychological Medicine*; 35(6):897-905, 2005.

MORONEY, J. T. et al. **Risk factors for early recurrence after ischemic stroke. The role of stroke syndrome and subtype.** *Stroke*; 29: 2118-24, 1998.

MOWLA, S. J.; PAREEK, S.; FARHADI, H. F.; PETRECCA, K.; FAWCETT, J. P.; SEIDAH, N. G. **Differential sorting of nerve growth factor and brain-derived neurotrophic factor in hippocampal neurons.** *J Neurosci*; 19:2069–80, 1999.

MUDGE, S.; STOTT, N.S. **Timed walking tests correlate with daily step activity in persons with stroke.** *Arch Phys Med Rehabil*; 90:296-301, 2009.

MULLER HD, HANUMANTHIAH KM, DIEDERICH K, SCHWAB S, SCHABITZ WR, SOMMER C. **Brain-derived neurotrophic factor but not forced arm use improves long-term outcome after photothrombotic stroke and transiently upregulates binding densities of excitatory glutamate receptors in the rat brain.** *Stroke*;39:1012–21, 2008.

MURAKAMI, S.; IMBE, H.; MORIKAWA, Y.; KUBO, C.; SENBA, E. **Chronic stress, as well as acute stress, reduces BDNF mRNA expression in the rat hippocampus but less robustly.** *Neurosci. Res*; 53:129–39, 2005.

NADEAU, S. E.; WU, S. S.; DOBKIN, B. H.; AZEN, S. P.; ROSE, D. K.; TILSON, J. K.; CEN, S. Y.; DUNCAN, P. W. **The LEAPS Investigative Team. Effects of Task-Specific**

and Impairment-Based Training Compared With Usual Care on Functional Walking Ability After Inpatient Stroke Rehabilitation: LEAPS Trial. *Neurorehabil Neural Repair*, 27:370, 2013.

NAKASHI, T; FUJIMURA, H ; ALTAR, CA ; LI, J ; KAMBAYASHI, J ; TANDON, NN ; SUN, B. **Vascular endothelial cells synthesize and secrete brain-derived neurotrophic factor.** *Febs Letters*;470(2): 113-17, 2000.

NEEPER SA, G'OMEZ-PINILLA F, CHOI J, AND COTMAN C. **Exercise and brain neurotrophins.** *Nature*; 373: 109, 1995.

NOFUJI, Y.; SUWA, M.; MORIYAMA, Y.; NAKANO, H.; ICHIMIYA, A.; NISHICHI, R.; SASAKI, H.; RADAK, Z.; KUMAGAI, S. **Decreased serum-brain derived neurotrophic factor in trained men,** *Neuro. Lett*; 437:29–32, 2008.

OMS 2008. **É possível prevenir o Acidente Vascular Cerebral?** Disponível em: <http://www.spc.pt/DL/RFR/artigos/286.pdf>. Acesso em: 15 de abril de 2014.

OMS 2010. **É possível prevenir o Acidente Vascular Cerebral?** Disponível em: <http://www.spc.pt/DL/RFR/artigos/286.pdf>. Acesso em: 15 de abril de 2014.

PAN, W.; BANKS, W. A.; FASOLD, M. B.; BLUTH, J.; KASTIN, A. J. **Transport of brain-derived neurotrophic factor across the blood–brain barrier.** *Neuropharmacology*; 37:1553–61, 1998.

PAN, W.; BANKS, W. A.; KASTIN, A. J. **Permeability of the blood–brain:spinal cord barrier to neurotrophins.** *Brain Res*; 788:87–94, 1998.

PARK, M.H; KWON, D.Y. ; JUNG, J.M. ; HAN, C. ; JO, I. ; JO, S.A. **Mini-Mental Status Examination as predictors of mortality in the elderly.** *Acta Psychiatrica Scandinavica*; 127(4):298-304, 2013.

PATTERSON, S.L., PITTENGER, C., MOROZOV, A., MARTIN, K.C., SCANLIN, H., DRAKE, C., KANDEL, E.R. **Some forms of cAMP-mediated long-lasting potentiation are associated with release of BDNF and nuclear translocation of phospho-MAP kinase.** *Neuron*; 32:123–40, 2001.

PENG, SHIYONG.; WUU, J.; MUFSON, E. J.; FAHNESTOCK, M. **Precursor form of brain-derived neurotrophic factor and mature brain-derived neurotrophic factor are decreased in the pre-clinical stages of Alzheimer's disease.** *Journal of Neurochemistry*; 93(6):1412-1421, 2005.

PHILLIPS, H.S. ; HAINS, J.M. ; LARAMEE, G.R. ; ROSENTHAL, A. ; WINSLOW, J.W. **Widespread expression of BDNF but not NT3 by target areas of basal forebrain cholinergic neurons.** *Science*; 250(4978):290-94, 1990.

PICCINNI, A ; MARAZZITI, D ; CATENA, M ; DOMENICI, L ; DEL DEBBIO, A ; BIANCHI, C ; MANNARI, C ; MARTINI, C ; DA POZZO, E ; SCHIAVI, E ; MARIOTTI, A ; RONCAGLIA, I ; PALLA, A ; CONSOLI, G ; GIOVANNINI, L ; MASSIMETTI, G ; DELL'OSSO, L. **Plasma and serum brain-derived neurotrophic factor depressed patients**

during 1 year of antidepressant (BDNF) in treatments. *Journal Of Affective Disorders*; 105(1-3):279-83, 2008.

PLOUGHMAN, M.; WINDLE, V.; MACLELLAN, C.L.; WHITE, N.; DORÉ, J.J.; CORBETT D. **Brain-Derived Neurotrophic Factor Contributes to Recovery of Skilled Reaching After Focal Ischemia in Rats.** *Stroke*; 40:1490-95, 2009.

PODUSLO, J. F.; CURRAN, G. L. **Permeability at the blood–brain and blood–nerve barriers of the neurotrophic factors: NGF, CNTF, NT-3, BDNF.** *Mol. Brain Res*; 36:280–86, 1996.

POHJASVAARA, T.; VATAJA, R.; LEPPÄVUORI, A.; KASTE, M.; ERKINJUNTTI, T. **Depression is an independent predictor of poor long-term functional outcome post-stroke.** *European Journal of Neurology*; 8(4):315-19, 2001.

POTEMPA, K.; BRAUN, L. T.; TINKNELL, T.; POPOVICH, J. **Benefits of aerobic exercise after stroke.** *Sports Med*; 21:337–46, 1996.

RABAS, P.L.; KOLOMINSKY et al. **Epidemiology of ischemic stroke subtypes according to TOAST criteria – Incidence, Recurrence and Long-term survival in ischemic stroke subtypes: a population-based study.** *Stroke*; 32: 2735-40, 2001.

RAFFI, M.S.; HILLIS, A.E. **Compendium of cerebrovascular diseases International review of psychiatry.** Abingdon (England); 18(5):395-407, 2006.

RASMUSSEN, P.; BRASSARD, P.; ADSER, H.; PEDERSEN, M. V.; LEICK, L.; HART, E.; SECHER, N. H.; PEDERSEN, B. K.; PILEGAARD, H. **Evidence for a release of brain-derived neurotrophic factor from the brain during exercise.** *Experimental Physiology*; 94:1062–69, 2009.

RIMMER, J. H; WANG, E. **Aerobic exercise training in stroke survivors.** *Topics in Stroke Rehabilitation, Wntr*; 12(1):17, 2005.

RIMMER, J. H.; RILEY, B.; CREVISTON, T.; NICOLA, T. **Exercise training in a predominantly African-American group of stroke survivors.** *Med Sci Sports Exerc*; 32:1990 –96, 2000.

RIOS M, FAN G, FEKETE C, KELLY J, BATES B, KUEHN R, et al. **Conditional deletion of brain-derived neurotrophic factor in the postnatal brain leads to obesity and hyperactivity.** *Mol Endocrinol*; 15(10):1748–57, 2001.

ROBINSON, C. A.; SHUMWAY-COOK, A.; MATSUDA, P. N.; CIOL, M. A. **Understanding physical factors associated with participation in community ambulation following stroke.** *Disability and rehabilitation*; 33(12): 1033-42, 2011.

ROSENFELD, R.D., ZENI, L., HANIU, M., TALVENHEIMO, J., RADKA, S.F., BENNETT, L., MILLER, J.A., WELCHER, A.A. **Purification and identification of brain-derived neurotrophic factor from human serum.** *Protein Expression and Purification*; 6:465–471, 1995.

RYAN, A. S.; DOBROVOLNY, L.; SILVER, K. H.; SMITH, G. V.; MACKO, R. F. **Cardiovascular fitness after stroke: role of muscle mass and gait deficit severity.** *J Stroke Cerebrovasc Disord*; 9:1–8, 2000.

SAKANE, T.; PARDRIDGE, W. M. **Carboxyl-directed pegylation of brain-derived neurotrophic factor markedly reduces systemic clearance with minimal loss of biologic activity.** *Pharm. Res*; 14:1085–91, 1997.

SATO T, WILSON TS, HUGHES LF, KONRAD HR, NAKAYAMA M, HELFERT RH. **Age-related changes in levels of tyrosine kinase B receptor and fibroblast growth factor receptor 2 in the rat inferior colliculus: implications for neural senescence.** *Neuroscience*; 103(3):695–702, 2001.

SCHRATT, G.M.; NIGH, E.A.; CHEN, W. G.; HU, L.; GREENBERG, M. E. **BDNF regulates the translation of a select group of mRNAs by a mammalian target of rapamycin phosphatidylinositol 3-kinase-dependent pathway during neuronal development.** *J. Neurosci*; 24:7366–77, 2004.

SEIDAH, N. G.; BENJANNET, S.; PAREEK, S.; CHRE'TIEN, M.; MURPHY, R. A. **Cellular processing of the neurotrophin precursors of NT3 and BDNF by the mammalian proprotein convertases.** *FEBS Lett*; 379:247–50, 1996.

SEIDAH, N. G.; BENJANNET, S.; PAREEK, S.; SAVARIA, D.; HAMELIN, J.; GOULET, B.; LALIBERTE, J.; LAZURE, C.; CHRÉTIEN, M.; MURPHY, R. A. **Cellular processing of the nerve growth factor precursor by the mammalian pro-protein convertases.** *J. Biochem*; 314:951–60, 1996.

SHIMIZU, E; HASHIMOTO, KENJI ; OKAMURA, NAOE ; KOIKE, KAORI ; KOMATSU, NAOYA ; KUMAKIRI, CHIKARA ; NAKAZATO, MICHIKO ; WATANABE, HIROYUKI ; SHINODA, NAOYUKI ; OKADA, SIN-ICHI ; IYO, MASAOMI. **Alterations of serum levels of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in depressed patients with or without antidepressants.** *Biological Psychiatry*; 54(1): 70-5, 2003.

SMITH, S.A; MONTAIN, S.J. ; MATOTT, R.P. ; ZIENTARA, G.P. ; JOLESZ, F.A. ; FIELDING, R.A. **Creatine supplementation and age influence muscle metabolism during exercise.** *Journal of Applied Physiology*; 85(4):1349-56, 1998.

SOARES, C. P. S., PIRES, S. R.; BRITTO, R. R.; PARREIRA, V. F. **Avaliação da aplicabilidade da equação de referência para estimativa de desempenho no teste de caminhada de 6 minutos em indivíduos saudáveis brasileiros.** *Revista da Sociedade de Cardiologia do Estado de São Paulo*. 14(1):1-8, 2004.

STANHOPE, V. A.; KNARR, B. A.; REISMAN, D. S.; HIGGINSON, J. S. **Frontal plane compensatory strategies associated with self-selected walking speed in individuals post-stroke.** *Clinical Biomechanics*; 29(5):518-22, 2014.

TANG, S. W.; CHU, E.; HUI, T.; HELMESTE, D.; LAW, C. **Influence of exercise on serum brain-derived neurotrophic factor concentrations in healthy human subjects.** *Neuroscience Letters*; 431(1):62-65, 2008.

TATEMICHI, T. K.; DESMOND, D. W.; STEM, Y.; PAIK, M.; SANO, M.; BAGIELLA, E. **Cognitive impairment after stroke: frequency, patterns, and relationship to functional abilities.** *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*; 57:202-07, 1994.

TEIXEIRA-SALMELA, L. F.; OLNEY, S. J.; NADEAU, S.; BROUWER, B. **Muscle strengthening and physical conditioning to reduce impairment and disability in chronic stroke survivors.** *Arch Phys Med Rehabil*; 80:1211– 18, 1999.

TEIXEIRA-SALMELA, L. F.; DEVARAJ, R.; OOLNEY, S. J. **Validation of the human activity profile in stroke: a comparison of observed, proxy and self-reported scores.** *Disability and rehabilitation*; 29(19):1518-24, 2007.

THOENEN, Hans. **The changing scene of neurotrophic factors.** *Trends in Neurosciences*; 14(5):165-70, 1991.

VEGA, S. R.; STRUDER, H. K.; WAHRMANN, B. V.; SCHIMIDT, A.; BLOCH, W.; HOLLMANN, W. **Acute BDNF and cortisol response to low intensity exercise and following ramp incremental exercise to exhaustion in humans.** *Brain Res*; 1121:59–65, 2006.

WATERHOUSE, E. G.; XU, B.. **New insights into the role of brain-derived neurotrophic factor in synaptic plasticity.** *Molecular and Cellular Neuroscience*; 42:81–89, 2009.

YAMAMOTO, M.; SOBUE, G.; YAMAMOTO, K.; TERAOKA, S.; MITSUMA, T. **Expression of mRNAs for neurotrophic factors (NGF, BDNF, NT-3, and GDNF) and their receptors (p75NGFR, trkA, trkB, and trkC) in the adult human peripheral nervous system and nonneural tissues.** *Neurochem Res*; 21: 929–38, 1996.

YOSHIMURA, R.; MITOMA, M.; SUGITA, A.; HORI, H. **Effects of paroxetine or milnacipran on serum brain derived neurotrophic factor in depressed patients.** *Progress in Neuropsychopharmacology and Biological Psychiatry*; 31: 1034–37, 2007.

ZANARDINI, R.; GAZZOLI, A.; VENTRIGLIA, M.; PEREZ, J. **Effect of repetitive transcranial magnetic stimulation on serum brain derived neurotrophic factor in drug resistant depressed patients.** *Journal of Affective Disorders*; 91:83–86, 2006.

ZHANG, Y; PARDRIDGE, W.M. **Blood-brain barrier targeting of BDNF improves motor function in rats with middle cerebral artery occlusion.** *Brain Res*; 1111:227–29, 2006.

ZHANG, S.; KE, Z.; LI, L.; YIP, S.; TONG, K. **EEG patterns from acute to chronic stroke phases in focal cerebral ischemic rats: correlations with functional recovery.** *Physiol. Meas*; 34:423–35, 2013.

ZHOU, L.; XIONG, J.; LIM, Y.; RUAN, Y.; HUANG, C.; ZHU, Y.; ZHONG, J.; XIAO, Z.; ZHOU, X.. **Upregulation of blood proBDNF and its receptors in major depression.** *Journal of Affective Disorders*; 150(3):776-84, 2013.

ZIGMOND, A.S; SNAITH, R.P. **The hospital anxiety and depression scale.** Acta Psychiatr Scand; 67:361-70, 1983.

ANEXO I



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - COEP

Projeto: CAAE – 03968712.7.0000.5149

Interessado(a): **Profa. Paula Luciana Scalzo**
Departamento de Morfologia
Instituto de Ciências Biológicas - UFMG

DECISÃO

O Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG – COEP aprovou, no dia 27 de novembro de 2012, o projeto de pesquisa intitulado **"Efeito do treinamento aeróbico nos níveis de mediadores inflamatórios e neurotróficos e na capacidade funcional de indivíduos após acidente vascular encefálico"** bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

O relatório final ou parcial deverá ser encaminhado ao COEP um ano após o início do projeto.

Prof. Maria Teresa Marques Amaral
Coordenadora do COEP-UFMG

APÊNDICE I - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Título do Projeto: “EFEITO DO TREINAMENTO AERÓBICO NOS NÍVEIS DE MEDIADORES INFLAMATÓRIOS E NEUOTRÓFICOS E NA CAPACIDADE FUNCIONAL EM INDIVÍDUOS APÓS ACIDENTE VASCULAR ENCEFÁLICO”

Este termo de consentimento pode conter palavras que você não entenda. Peça ao pesquisador que explique as palavras ou informações não compreendidas completamente.

1) Introdução

Você está sendo convidado (a) a participar da pesquisa que pretende avaliar a capacidade funcional (atividades como levantar e sentar de uma cadeira e andar) e fazer a coleta de sangue para avaliar algumas substâncias no sangue. Se decidir participar dela, é importante que leia estas informações sobre o estudo e o seu papel nesta pesquisa.

Você foi selecionado por ter sofrido acidente vascular encefálico e por ser capaz de permanecer em pé e caminhar. A sua participação não é obrigatória e você pode não querer participar do estudo. Sua recusa não trará nenhum prejuízo em sua relação com o pesquisador ou com a instituição. É preciso entender a natureza e os riscos da sua participação e dar o seu consentimento livre e esclarecido por escrito.

2) Objetivo

O objetivo desse estudo é avaliar a capacidade funcional (através de testes que avaliam a marcha) e avaliar substâncias a partir da coleta do sangue que podem estar relacionadas com a doença antes e após o treinamento aeróbico. Também serão avaliados seu nível de independência funcional, sintomas depressivos e qualidade de vida.

3) Procedimentos do Estudo

Se concordar em participar deste estudo você será solicitado a responder algumas perguntas e realizar alguns testes para avaliar a capacidade e independência funcional, depressão e qualidade de vida, à realização da coleta de sangue e o treinamento aeróbico. Esse será realizado três vezes por semana, com duração de 60 a 90 minutos, por um ano. Serão realizadas atividades de caminhada e fortalecimento muscular durante as sessões.

4) Riscos e Desconfortos

Para a coleta do sangue, serão respeitados todos os procedimentos técnicos-científicos para o punção e armazenamento do sangue, sem que a coleta ofereça risco e será realizada por um profissional qualificado. Durante o treinamento aeróbico, caso aconteça algum desconforto ou você sinta algum mal estar, o professor responsável pela pesquisa intervirá e se for necessário, o serviço de atendimento de urgência será acionado.

5) Benefícios

A participação nessa pesquisa não acarretará gasto para você, sendo totalmente gratuita. O conhecimento que você adquirir a partir da sua participação na pesquisa poderá beneficiá-lo com informações e orientações futuras em relação à sua qualidade de vida. As informações obtidas por meio desse estudo poderão ser importantes para incrementar o diagnóstico, monitoramento da doença e a melhora da intervenção fisioterapêutica.

6) Custos/Reembolso

Você não terá nenhum gasto com a sua participação no estudo, da mesma forma que também não receberá pagamento pela sua participação. A sua avaliação acontecerá nos dias do seu atendimento.

7) Caráter Confidencial dos Registros

Algumas informações obtidas a partir de sua participação neste estudo não poderão ser mantidas

estritamente confidenciais. Além dos pesquisadores que vão fazer as perguntas dos questionários e aplicar os testes, os professores orientadores deste estudo e o Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais podem precisar consultar seus registros. Você não será identificado quando o material de seu registro for utilizado, seja para propósitos de publicação científica ou educativa. Ao assinar este consentimento informado, você autoriza as inspeções em seus registros.

8) Participação

É importante que você esteja consciente de que a participação neste estudo de pesquisa é completamente voluntária e de que você pode recusar-se a participar do estudo, sem penalidades ou perda de benefícios aos quais você tenha direito de outra forma.

9) Para obter informações adicionais

Você receberá uma cópia deste termo onde consta o telefone e o endereço do pesquisador principal, podendo tirar suas dúvidas sobre o projeto e sua participação, agora ou a qualquer momento. Caso você tenha mais perguntas sobre o estudo, por favor, entre em contato com os nomes abaixo.

Local do COEP UFMG:

Av. Antônio Carlos, 6627 Unidade Administrativa II - 2º andar - Sala 2005
Campus Pampulha Belo Horizonte, MG - Brasil 31270-901
Telefone: 34094592

Pesquisador Responsável:

Profa. Dra. Paula Luciana Scalzo - Depto de Morfologia, ICB - UFMG
Av. Antônio Carlos, 6627 31270-901 Belo Horizonte, MG - Telefone: 55-31-3409-2799

10) Declaração de Consentimento

Li ou alguém leu para mim as informações contidas neste documento antes de assinar este termo de consentimento. Declaro que fui informado sobre os objetivos do estudo. Declaro que tive tempo suficiente para ler e entender as informações acima. Declaro também que toda a linguagem técnica utilizada na descrição deste estudo de pesquisa foi satisfatoriamente explicada e que recebi respostas para todas as minhas dúvidas. Confirmando também que recebi uma cópia deste formulário de consentimento. Compreendo que sou livre para não participar do estudo, sem perda de benefícios ou qualquer outra penalidade. Dou meu consentimento de livre e espontânea vontade e sem reservas para participar como paciente deste estudo.

Nome do participante (em letra de forma)

Assinatura do participante ou representante legal

Data

Atesto que expliquei cuidadosamente a natureza e o objetivo deste estudo, junto ao participante e/ou seu representante autorizado. Acredito que o participante e/ou seu representante recebeu todas as informações necessárias, que foram fornecidas em uma linguagem adequada e compreensível e que ele/ela compreendeu a explicação.

Assinatura do pesquisador

Data

APÊNDICE II – QUESTIONÁRIO GERAL (GRUPO AVC)

Data da Avaliação: _____ Responsável: _____

ID PACIENTE: _____ Horário da coleta de sangue: _____

DADOS PESSOAIS

Nome: _____ / Gênero: ___ F ___ M

DN: ___/___/___ Idade: _____ Raça: _____ Lado dominante: ___ D ___ E

Nível de Escolaridade: _____ (anos) / Altura: ___ cm / Peso: ___ kg / IMC: _____

Profissão: _____ Renda: _____

Endereço: _____

Telefone: () _____

Nome acompanhante/cuidador: _____ Grau de parentesco: _____

Interesse em participar do estudo? ___ Sim ___ Não

Disponibilidade: _____

HÁBITOS DE VIDA

Etilismo? ___ Sim ___ Não / Tempo: _____ (anos) / Unidades/semana: _____

Tabagismo? ___ Sim ___ Não / Tempo: _____ (anos) / N° cigarros/dia: _____

Fazia atividade física antes do AVC? ___ Sim ___ Não / Durante quanto tempo? _____

Tipo de atividade: _____ / Frequência: _____

Faz atividade física após o AVC? ___ Sim ___ Não / Tempo? _____

Tipo de atividade: _____ / Frequência: _____

DADOS CLÍNICOS

Quantos AVC: _____ / Tempo do diagnóstico do último AVC: _____

Tipo de AVC: ___ Hemorrágico ___ Isquêmico / Lado afetado: ___ D ___ E

Internação? ___ Sim ___ Não / Tempo de internação: _____

Complicação durante a internação? ___ Sim ___ Não

Qual complicação? _____

Após a alta fez fisioterapia? ___ Sim ___ Não / Tipo: _____

Duração da fisioterapia: _____ / Frequência: _____

Deficiências:

Hemiplegia / Hemiparesia? ___ Sim ___ Não / Dimídio afetado? ___ D ___ E

Distúrbio de linguagem? ___ Sim ___ Não

Tipo de distúrbio? ___ Afasia motora (Broca) ___ Afasia sensitiva (Wernick) ___ Afasia mista

Déficit visual? ___ Sim ___ Não / Lado do comprometimento: ___ D ___ E

Déficit auditivo? ___ Sim ___ Não / Lado do comprometimento: ___ D ___ E

Déficit sensorial? ___ Sim ___ Não / Lado do comprometimento: ___ D ___ E

Usa dispositivos de auxílio? ___ Sim ___ Não

___ órtese para MMSS ___ órtese para MMII ___ bengala ___ andador ___ cadeira de rodas

Outras observações: _____

Outras doenças associadas? ___ Sim ___ Não

___ Diabetes ___ Hipertensão ___ Hipercolesterolemia ___ Cardiopatia ___ Angina instável

Presença de alguma arritmia grave nos últimos 6 meses? ___ Sim ___ Não

Presença de tontura/desmaio nos últimos meses? ___ Sim ___ Não

Já fez alguma cirurgia? ___ Sim ___ Não / Há quanto tempo? _____

Tipo de cirurgia? _____

Doenças psiquiátricas prévias? ___ Não ___ Sim / Qual (s): _____

Possui doença psiquiátrica? ___ Não ___ Sim / Qual (s): _____

Outras: _____

Medicamentos em uso: _____

APÊNDICE III – QUESTIONÁRIO GERAL (GRUPO CONTROLE)

Data da Avaliação: _____ Responsável: _____

ID CONTROLE: _____ Horário da coleta de sangue: _____

DADOS PESSOAIS

Nome: _____ / Gênero: ___ F ___ M

DN: ___/___/___ Idade: _____ Raça: _____ Lado dominante: ___ D ___ E

Nível de Escolaridade: _____ (anos) / Altura: ___ cm / Peso: ___ kg / IMC: _____

Profissão: _____ Renda: _____

Endereço: _____

Telefone: () _____

Interesse em participar do estudo? ___ Sim ___ Não

Disponibilidade: _____

HÁBITOS DE VIDA

Etilismo? ___ Sim ___ Não / Tempo: _____ (anos) / Unidades/semana: _____

Tabagismo? ___ Sim ___ Não / Tempo: _____ (anos) / N° cigarros/dia: _____

Realiza atividade física? ___ Sim ___ Não / Durante quanto tempo? _____

Tipo de atividade: _____ / Frequência: _____

DADOS CLÍNICOS

Déficit visual? ___ Sim ___ Não / Lado do comprometimento: ___ D ___ E

Déficit auditivo? ___ Sim ___ Não / Lado do comprometimento: ___ D ___ E

Outras observações: _____

Outras doenças associadas? ___ Sim ___ Não

___ Diabetes ___ Hipertensão ___ Hipercolesterolemia ___ Cardiopatia ___ Angina instável

Presença de alguma arritmia grave nos últimos 6 meses? ___ Sim ___ Não

Presença de tontura/desmaio nos últimos meses? ___ Sim ___ Não

Já fez alguma cirurgia? ___ Sim ___ Não / Há quanto tempo? _____

Tipo de cirurgia _____

Doenças psiquiátricas prévias? ___ Não ___ Sim / Qual (s): _____

Tem doença psiquiátrica? ___ Não ___ Sim / Qual (s): _____

Outras: _____

Medicamentos em uso: _____

ANEXO II - MINI-EXAME DO ESTADO MENTAL

Orientação

- | | |
|--|--------|
| 1) Dia da Semana (1 ponto) | () |
| 2) Dia do Mês (1 ponto) | () |
| 3) Mês (1 ponto) | () |
| 4) Ano (1 ponto) | () |
| 5) Hora aproximada (1 ponto) | () |
| 6) Local específico (andar ou setor) (1 ponto) | () |
| 7) Instituição (residência, hospital, clínica) (1 ponto) | () |
| 8) Bairro ou rua próxima (1 ponto) | () |
| 9) Cidade (1 ponto) | () |
| 10) Estado (1 ponto) | () |

Memória Imediata

Fale três palavras não relacionadas. Posteriormente pergunte ao paciente pelas 3 palavras. Dê 1 ponto para cada resposta correta. ()

Depois repita as palavras e certifique-se de que o paciente as aprendeu, pois mais adiante você irá perguntá-las novamente.

Atenção e Cálculo

(100-7) sucessivos, 5 vezes sucessivamente (93,86,79,72,65)

(1 ponto para cada cálculo correto) ()

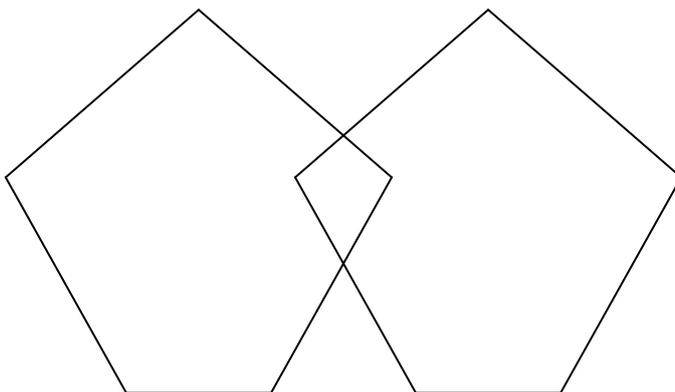
Evocação

Pergunte pelas três palavras ditas anteriormente

(1 ponto por palavra) ()

Linguagem

- | | |
|--|--------|
| 1) Nomear um relógio e uma caneta (2 pontos) | () |
| 2) Repetir “nem aqui, nem ali, nem lá” (1 ponto) | () |
| 3) Comando:”pegue este papel com a mão direita, dobre ao meio e coloque no chão (3 pontos) | () |
| 4) Ler e obedecer:”feche os olhos” (1 ponto) | () |
| 5) Escrever uma frase (1 ponto) | () |
| 6) Copiar um desenho (1 ponto) | () |



ANEXO III - ESCALA HOSPITALAR DE ANSIEDADE E DEPRESSÃO

Este questionário ajudará o seu médico a saber como você está se sentindo. Leia todas as frases. Marque com um "X" a resposta que melhor corresponder a como você tem se sentido na **ÚLTIMA SEMANA**. Não é preciso ficar pensando muito em cada questão. Neste questionário as respostas espontâneas têm mais valor do que aquelas em que se pensa muito. Marque apenas uma resposta para cada pergunta.

1) Eu ainda sinto gosto pelas mesmas coisas de antes:

- 0 () Sim, do mesmo jeito que antes
- 1 () Não tanto quanto antes
- 2 () Só um pouco
- 3 () Já não sinto mais prazer em nada

2) Dou risada e me divirto quando vejo coisas engraçadas:

- 0 () Do mesmo jeito que antes
- 1 () Atualmente um pouco menos
- 2 () Atualmente bem menos
- 3 () Não consigo mais

3) Eu me sinto alegre:

- 3 () Nunca
- 2 () Poucas vezes
- 1 () Muitas vezes
- 0 () A maior parte do tempo

4) Eu estou lento para pensar e fazer as coisas:

- 3 () Quase sempre
- 2 () Muitas vezes
- 1 () De vez em quando
- 0 () Nunca

5) Eu perdi o interesse em cuidar da minha aparência:

- 3 () Completamente
- 2 () Não estou mais me cuidando como deveria
- 1 () Talvez não tanto quanto antes
- 0 () Me cuido do mesmo jeito que antes

6) Fico esperando animado as coisas boas que estão por vir:

- 0 () Do mesmo jeito que antes
- 1 () Um pouco menos do que antes
- 2 () Bem menos do que antes
- 3 () Quase nunca

7) Consigo sentir prazer quando assisto a um bom programa de televisão, de rádio ou quando leio alguma coisa:

- 0 () Quase sempre
- 1 () Várias vezes
- 2 () Poucas vezes
- 3 () Quase nunca

ANEXO IV - PERFIL DE ATIVIDADE HUMANA

Atividades

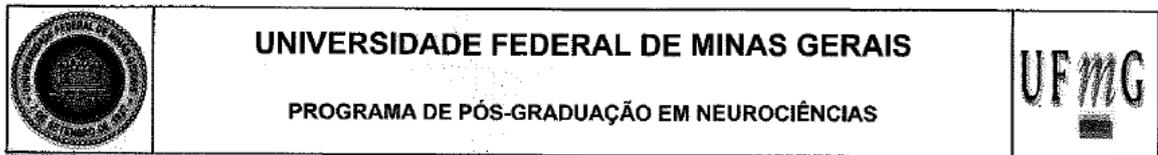
Ainda faço Parei de fazer Nunca fiz

1. Levantar e sentar em cadeiras ou cama (sem ajuda)
2. Ouvir rádio
3. Ler livros, revistas ou jornais
4. Escrever cartas ou bilhetes
5. Trabalhar numa mesa ou escrivaninha
6. Ficar de pé por mais de um minuto
7. Ficar de pé por mais de cinco minutos
8. Vestir e tirar a roupa sem ajuda
9. Tirar roupas de gavetas ou armários
10. Entrar e sair do carro sem ajuda
11. Jantar num restaurante
12. Jogar baralho ou qualquer jogo de mesa
13. Tomar banho de banheira sem ajuda
14. Calçar sapatos e meias sem parar para descansar
15. Ir ao cinema, teatro ou a eventos religiosos ou esportivos
16. Caminhar 27 metros (um minuto)
17. Caminhar 27 metros, sem parar (um minuto)
18. Vestir e tirar a roupa sem parar para descansar
19. Utilizar transporte público ou dirigir por 1 hora e meia (158 quilômetros ou menos)
20. Utilizar transporte público ou dirigir por \pm 2 horas (160 quilômetros ou mais)
21. Cozinhar suas próprias refeições
22. Lavar ou secar vasilhas
23. Guardar mantimentos em armários
24. Passar ou dobrar roupas
25. Tirar poeira, lustrar móveis ou polir o carro
26. Tomar banho de chuveiro
27. Subir seis degraus
28. Subir seis degraus, sem parar
29. Subir nove degraus
30. Subir 12 degraus
31. Caminhar metade de um quarteirão no plano
32. Caminhar metade de um quarteirão no plano, sem parar
33. Arrumar a cama (sem trocar os lençóis)
34. Limpar janelas
35. Ajoelhar ou agachar para fazer trabalhos leves
36. Carregar uma sacola leve de mantimentos
37. Subir nove degraus, sem parar
38. Subir 12 degraus, sem parar
39. Caminhar metade de um quarteirão numa ladeira
40. Caminhar metade de um quarteirão numa ladeira, sem parar
41. Fazer compras sozinho
42. Lavar roupas sem ajuda (pode ser com máquina)
43. Caminhar um quarteirão no plano
44. Caminhar dois quarteirões no plano
45. Caminhar um quarteirão no plano, sem parar
46. Caminhar dois quarteirões no plano, sem parar
47. Esfregar o chão, paredes ou lavar carro

*Atividades**Ainda faço Parei de fazer Nunca fiz*

48. Arrumar a cama trocando os lençóis
49. Varrer o chão
50. Varrer o chão por cinco minutos, sem parar
51. Carregar uma mala pesada ou jogar uma partida de boliche
52. Aspirar o pó de carpetes
53. Aspirar o pó de carpetes por cinco minutos, sem parar
54. Pintar o interior ou o exterior da casa
55. Caminhar seis quarteirões no plano
56. Caminhar seis quarteirões no plano, sem parar
57. Colocar o lixo para fora
58. Carregar uma sacola pesada de mantimentos
59. Subir 24 degraus
60. Subir 36 degraus
61. Subir 24 degraus, sem parar
62. Subir 36 degraus, sem parar
63. Caminhar 1,6 quilômetro (\pm 20 minutos)
64. Caminhar 1,6 quilômetro (\pm 20 minutos), sem parar
65. Correr 100 metros ou jogar peteca, vôlei, beisebol
66. Dançar socialmente
67. Fazer exercícios calistênicos ou dança aeróbia por cinco minutos, sem parar
68. Cortar grama com cortadeira elétrica
69. Caminhar 3,2 quilômetros (\pm 40 minutos)
70. Caminhar 3,2 quilômetros, sem parar (\pm 40 minutos)
71. Subir 50 degraus (dois andares e meio)
72. Usar ou cavar com a pá
73. Usar ou cavar com pá por cinco minutos, sem parar
74. Subir 50 degraus (dois andares e meio), sem parar
75. Caminhar 4,8 quilômetros (\pm 1 hora) ou jogar 18 buracos de golfe
76. Caminhar 4,8 quilômetros (\pm 1 hora), sem parar
77. Nadar 25 metros
78. Nadar 25 metros, sem parar
79. Pedalar 1,6 quilômetro de bicicleta (dois quarteirões)
80. Pedalar 3,2 quilômetros de bicicleta (quatro quarteirões)
81. Pedalar 1,6 quilômetro, sem parar
82. Pedalar 3,2 quilômetros, sem parar
83. Correr 400 metros (meio quarteirão)
84. Correr 800 metros (um quarteirão)
85. Jogar tênis/frescobol ou peteca
86. Jogar uma partida de basquete ou de futebol
87. Correr 400 metros, sem parar
88. Correr 800 metros, sem parar
89. Correr 1,6 quilômetro (dois quarteirões)
90. Correr 3,2 quilômetros (quatro quarteirões)
91. Correr 4,8 quilômetros (seis quarteirões)
92. Correr 1,6 quilômetro em 12 minutos ou menos
93. Correr 3,2 quilômetros em 20 minutos ou menos
94. Correr 4,8 quilômetros em 30 minutos ou menos

ANEXO V



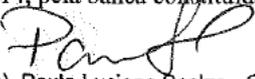
FOLHA DE APROVAÇÃO

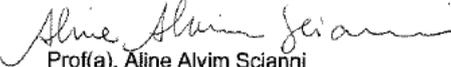
Estudo do efeito do teste de caminhada de seis minutos e de uma sessão aguda de exercício aeróbico nos níveis séricos de fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) e de seu precursor (proBDNF) em indivíduos saudáveis e na fase crônica após acidente vascular cerebral (AVC)

MARIANA LACERDA E SILVA

Dissertação submetida à Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em NEUROCIÊNCIAS, como requisito para obtenção do grau de Mestre em NEUROCIÊNCIAS, área de concentração NEUROCIÊNCIAS CLÍNICAS.

Aprovada em 01 de agosto de 2014, pela banca constituída pelos membros:


Prof(a). Paula Luciana Scalzo - Orientador
UFMG


Prof(a). Aline Alvim Scianni
UFMG


Prof(a). Paulo Pereira Christo
SANTA CASA

Belo Horizonte, 1 de agosto de 2014.