
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA MOTRICIDADE
(ÁREA: ATIVIDADE FÍSICA E SAÚDE)

**EXERCÍCIO FÍSICO, MARCADORES INFLAMATÓRIOS E GENÓTIPO DA
APOE EM IDOSOS COM COMPROMETIMENTO COGNITIVO LEVE E
IDOSOS COGNITIVAMENTE PRESERVADOS.**

CARLA MANUELA CRISPIM NASCIMENTO

Tese apresentada ao Instituto de Biociências do
Campus de Rio Claro, Universidade Estadual
Paulista, como parte dos requisitos para obtenção
do título de Doutor em Ciências da Motricidade.

Rio Claro

2014

**EXERCÍCIO FÍSICO, MARCADORES INFLAMATÓRIOS E
GENÓTIPO DA APOE EM IDOSOS COM COMPROMETIMENTO
COGNITIVO LEVE E IDOSOS COGNITIVAMENTE
PRESERVADOS.**

CARLA MANUELA CRISPIM NASCIMENTO

Orientador: FLORINDO STELLA

Tese apresentada ao Instituto de Biociências do
Campus de Rio Claro, Universidade Estadual
Paulista, como parte dos requisitos para
obtenção do título de Doutor em Ciências da
Motricidade.

RIO CLARO

Estado de São Paulo – Brasil

2014

A minha mãe, Rosa, e minha irmã Anna por serem a minha força maior desde sempre;

Ao meu marido, André, pelo companheirismo e apoio incondicional que me permitiu chegar até aqui;

A UNESP de Rio Claro, que com seus professores incríveis contaminou-me com a sede de sempre querer ir mais adiante e aprender a arte de educar...

AGRADECIMENTOS

Primeiramente à Deus, por me permitir concretizar este sonho e por ter colocado ao meu lado pessoas que me ajudaram ao longo deste caminho.

A toda a minha família pelo apoio incondicional em cada momento. Mãe, obrigada pela ternura com que você conduziu todos os momentos difíceis que passamos juntas, até que nosso sonho pudesse se tornar realidade. Obrigada por me dar asas fortes pra voar longe, mas acima de tudo, obrigada por me ensinar a direção em que eu deveria voar. Anna e vovó Adelina, obrigada por terem preenchido todos os espaços no meu coração e nunca me deixar faltar o principal: Amor, respeito e segurança. Sinto-me privilegiada por poder ter a família que tenho.

Ao meu marido, André, pelo apoio constante, por conhecer melhor que eu mesma as minhas necessidades, por ser sempre o meu maior apoio, meu melhor amigo e meu maior companheiro aqui ou lá do outro lado.

Aos meus sogros, José Carlos e Maria Lúcia e minha cunhada Larissa, por terem tornado-se minha família e me apoiarem sempre.

Ao meu orientador, Florindo Stella, pela confiança depositada ao permitir que eu fosse sua primeira doutoranda. Por todo o tempo dedicado na tentativa de tornar-me uma profissional melhor e por todo o apoio ao longo destes seis anos que culminaram na realização deste trabalho. Obrigada pela paciência e dedicação.

Aos professores Sebastião Gobbi e Lilian Gobbi por nos proporcionarem uma formação acadêmica diferenciada, mas acima de tudo por nos fazer pessoas melhores. Eu espero um dia poder representar para os meus alunos tudo o que vocês representam para nós. Obrigada pelo carinho com que fui acolhida nestes 11 anos. Não existem palavras suficientes pra expressar minha admiração e gratidão por vocês.

Aos amigos e professores da Universidade de Vigo: Chema, Carlos, Nata e Ana. Esta foi uma história cheia de felicidade e aprendizado que me tornou uma pesquisadora melhor, mas acima de tudo, mudou minha maneira de ver o mundo.

Aos meus constantes companheiros: Marcelo, Larissa e Jéssica. Obrigada pela oportunidade de trabalhar e aprender com vocês. Foram 4 anos de intervenção, coletas, viagens, congressos, risadas e choros e sem vocês este trabalho não seria possível.

Aos meus amigos do LAFE, obrigada por me permitirem conviver no melhor laboratório do mundo. Espero conseguir levar tudo isso que aprendi e construir um lugar maravilhoso assim para que eu possa trabalhar. “Trabalhar forte e divertir forte”! Aos companheiros dessa estrada acadêmica e profissional: LEPLO, GHI22, Unifadra e UFSCar, como seria possível concretizar este sonho sem os ‘tijolos’ que vocês colocaram em minha formação? Obrigada pelas intermináveis horas de trabalho, pelo aprendizado constante, pelos momentos de diversão e por fazerem desse longo percurso, uma maravilhosa caminhada, cheia de flores e de aprendizado.

A todos aqueles que foram meus alunos, obrigada por despertarem em mim a paixão por educar. Obrigada por confirmarem a cada fim de aula que eu havia escolhido o caminho mais recompensador. Obrigada por me darem a oportunidade de aprender a cada dia, com cada história, com cada situação.

Aos nossos participantes dos projetos de extensão, que tornam possível a realização destas pesquisas e fazem com que nos apaixonemos e nos empenhemos em continuar trabalhando com pesquisa clínica. As dificuldades nunca irão superar a satisfação de trabalhar com vocês e para vocês!

Enfim, este é um trabalho “escrito à muitas mãos” e seria injusto dedicar esta conquista apenas à mim. Só foi possível chegar até aqui porque inúmeras pessoas estiveram presentes.

Educar-se é impregnar de sentido cada momento da vida, cada ato cotidiano”

(Paulo Freire)

RESUMO

A inflamação crônica de baixo-grau vem demonstrando interferir significativamente no processo degenerativo principalmente em idosos com comprometimento cognitivo leve (CCL). A prática regular de exercícios físicos já demonstrou ser eficaz para reduzir a liberação de algumas citocinas, inclusive em indivíduos idosos. Desta maneira, o exercício físico converte-se em uma abordagem não-farmacológica complementar importante para auxiliar no curso do envelhecimento saudável. Os objetivos do presente estudo foram: a) analisar os efeitos de 16 semanas de um programa multimodal de exercícios físicos nas concentrações periféricas de marcadores inflamatórios em idosos com comprometimento cognitivo leve (CCL) e em idosos cognitivamente preservados; b) analisar se o genótipo da APOE influenciaria o padrão destas respostas a este programa e ainda, c) Identificar se as concentrações de citocinas pró-inflamatória, o genótipo da APOE e a prática regular de exercícios físicos contribuiriam para a predição de CCL nos sujeitos. Para tanto, foram selecionados 67, distribuídos em subgrupos de acordo com a presença de CCL e participação em um protocolo multimodal de exercícios físicos por 16 semanas (grupo treinamento com CCL: n=20; grupo treinamento cognitivamente preservado: n=15; grupo controle com CCL: n=17; grupo controle cognitivamente preservado: n=15). Todos os participantes foram avaliados por meio da Clinical Dementia Rating; Questionário de Atividades Instrumentais de Pfeffer; Escala Geriátrica de Depressão; Questionário de Baecke Modificado Para Idosos; Montreal Cognitive Assessment; Bateria de testes motores da American Alliance for Health, Physical, Education, Recreation and Dance; além de análises laboratoriais para determinação do polimorfismo da APOE, análises de glicemia, triglicérides, HDL e LDL e concentrações séricas das citocinas pró-inflamatórias: Fator de Necrose Tumoral- α (TNF- α) e Interleucina-6 (IL-6) Os principais achados do presente estudo indicaram que: a) os sujeitos que participaram do programa multimodal de exercícios físicos apresentaram reduções significativas dos níveis de IL-6 e TNF- α , independente da condição cognitiva; b) Estas reduções nos níveis periféricos de IL-6 e TNF- α foram independentes da genotipagem da APOE e; c) níveis periféricos de IL-6 e TNF- e prática regular de exercícios físicos são potenciais preditores de CCL.

Palavras Chave: Citocinas, Comprometimento Cognitivo Leve; Exercícios Físicos; Idosos; Inflamação.

ABSTRACT

Low-grade chronic inflammation has been recognized as a significant pathway on neurodegenerative process, mainly on elderly with mild cognitive impairment (MCI). Regular practice of physical exercises has been demonstrated as a feasible alternative to reduce blood concentrations of some cytokines, including in elderly. Thus, physical exercises are a non-pharmacological strategy important to help on the healthy ageing. The main goals of this study were: a) to analyze the effects of 16-weeks of a multimodal physical exercises program on peripheral concentrations of inflammatory markers in elderly with MCI and on cognitive healthy elderly; b) to analyze if the APOE genotype could influence on the effects of this program and; c) to identify if the peripheral concentrations of pro-inflammatory cytokines, APOE genotype and practice of physical exercises could contribute as predictors of MCI on the subjects. Participated on the research 67 elderly, distributed on four subgroups according to the presence of MCI and the participation on the proposed program of multimodal physical exercises during 16-weeks (trained group with MCI: n=20; trained group cognitive healthy: n=15; control group with MCI: n=17; control group cognitive healthy: n=15). All participants were assessed by the Clinical Dementia Rating scale; Instrumental Activities Pfeffer Questionnaire; Geriatric Depression Scale-short form; Montreal Cognitive Assessment; Physical Function Battery of American Alliance for Health, Physical, Education, Recreation and Dance; beyond laboratorial analysis to determine APOE genotype, glucoses levels, triglycerides, HDL and LDL cholesterol and serum concentrations of pro-inflammatory cytokines: Tumor Necrosis Factor- α (TNF- α) and Interleukin-6 (IL-6). The main findings of this research indicated that: a) subjects who took part in a multimodal physical exercises program presented significant reductions on TNF- α and IL-6 peripheral concentrations, independent of the cognitive condition; b) these reductions on peripheral levels of inflammatory cytokines were independent of the APOE genotype and; c) peripheral levels of TNF- α and IL-6 and regular practice of physical exercises were potential predictors of MCI in elderly.

Key-words: Cytokine; Elderly; Inflammation; Mild Cognitive Impairment; Physical Exercises;

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA	1
2. REVISÃO DA LITERATURA	4
Envelhecimento e Neurodegeneração	4
Marcadores de Inflamação e Doença de Alzheimer	6
Interleucina-6 (IL-6)	8
Fator de Necrose Tumoral (TNF- α)	10
Polimorfismo da Apolipoproteína-E (APOE) como Fator de Risco para DA	11
Interação entre Exercício Físico, Genótipo da APOE, Resposta Inflamatória e risco de CCL	16
3. OBJETIVOS	18
4. HIPÓTESES	19
5. MÉTODOS	20
Delineamento da Pesquisa	20
SUJEITOS	20
Recrutamento e Caracterização da Amostra	20
Protocolo de Avaliação da Condição Cognitiva	23
Comprometimento Cognitivo Leve	24
Protocolo de Avaliação Física:	26
Protocolo de Avaliação Laboratorial:	27
Protocolo de Intervenção Motora:	28
6. ANÁLISE E PROCESSAMENTO DOS DADOS	31
7. RESULTADOS	33
Comparar e verificar os efeitos de um programa multimodal de exercícios físicos em idosos com CCL e cognitivamente preservados.	33
Características da amostra	33
Componentes da Capacidade Funcional	36

Exercício Físico, marcadores inflamatórios e cognição.	38
Coeficientes de predição do comprometimento cognitivo em idosos... ..	42
Comparar e verificar os efeitos de um programa multimodal de exercícios físicos em idosos carreadores e não carreadores do alelo ϵ4 da APOE.....	45
8. DISCUSSÃO	50
11. CONCLUSÃO.....	60
12. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	61
ANEXOS.....	72
 Anexo 1 – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	72
 Anexo 2 – Parecer do Comitê de Ética.....	74

LISTA DE TABELAS

TABELA 1. Modelo de distribuição e estrutura das sessões de treinamento de exercícios físicos multimodal.....	30
TABELA 2. Características clínicas e sociodemográficas dos participantes do estudo no momento pré-treinamento	34
TABELA 3. Resultados dos dados nos momentos pré e pós-treinamento: médias e desvios-padrão das variáveis motoras (componentes da capacidade funcional).....	37
TABELA 4. Percentual e Classificação dos resultados do Índice de Aptidão Funcional Geral de idosos praticantes e não praticantes de um programa multimodal de exercícios físicos I por um período de 16 semanas	38
TABELA 5. Efeitos de 16 semanas de um programa multimodal de exercícios físicos sobre as variáveis dependentes nos grupos treinamento (GT e GT _{CCL}) e controle (GC e GC _{CCL}).....	40
TABELA 6. Efeitos de 16 semanas de um programa multimodal de exercícios físicos nas funções cognitivas e subdomínios do MoCA.....	41
TABELA 7. Correlações entre as variáveis cognitivas, metabólicas, glicêmicas e marcadores inflamatórios	43
TABELA 8. Modelo de predição de comprometimento cognitivo leve por meio de preditores em regressão logística	44
TABELA 9. Efeitos de 16 semanas de um programa multimodal de exercícios físicos nas variáveis dislipidêmicas, glicêmicas e aptidão física funcional geral com relação à presença do alelo $\epsilon 4$ da APOE	47

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. (A) Ativação das células da glia e *cleareance* da proteína β -amilóide no tecido cerebral e; (B) Processo degenerativo desencadeado com a ativação da micróglia e consequente produção de fatores pró-inflamatórios, promovendo a redução da placa senil e emaranhado neurofibrilar..... 8

FIGURA 2. Implicações das interações entre o processo patogênico característico da DA prodrômica. A ativação das células da glia e liberação de citocinas pró-inflamatórias no SNC associadas a fatores periféricos que intensificam a inflamação sistêmica 14

FIGURA 3. Diagrama de fluxo mostrando ocorrência de abandono entre os períodos pré-treinamento e ao final das avaliações 22

FIGURA 4. Alterações histopatológicas decorrentes do processo neurodegenerativo estimulando a superativação da cascata inflamatória que aumenta as concentrações periféricas de citocinas com papel pró-inflamatório a partir da ação das células da glia. Estas citocinas estimulam a ação de macrófagos que frequentemente geram neurotoxicidade intensificando o processo degenerativo previamente estabelecido. A ação do exercício físico promove a sinalização para uma resposta antiinflamatória, modulada por alterações no sistema imunológico que auxilia na redução da ação pró-inflamatória das citocinas presentes na circulação periférica..... 54

LISTA DE GRÁFICOS

- GRÁFICO 1.** Comportamento da frequência cardíaca durante uma sessão de treinamento 29
- GRÁFICO 2.** Distribuição da combinação de alelos do genótipo da APOE na amostra total de idosos avaliados (n=67)..... 35
- GRÁFICO 3.** Distribuição da combinação de alelos do genótipo da APOE nos grupos de (a) idosos cognitivamente preservados (n=30) e (b) idosos com comprometimento cognitivo leve (n=37)..... 35
- GRÁFICO 4.** Concentrações séricas de Fator de Necrose Tumoral- α (a) e Interleucina-6 (b) em indivíduos que realizaram e que não realizaram um programa multimodal de exercícios físicos por um período de 16 semanas em indivíduos carreadores e não-carreadores do alelo ϵ 4 da APOE 48
- GRÁFICO 5.** Pontuação média pré e pós-treinamento para funções cognitivas (MoCA) de indivíduos que realizaram e que não realizaram 16 semanas de um programa multimodal de exercícios físicos com relação à presença do alelo ϵ 4 da APOE 49

1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

O comprometimento cognitivo leve (CCL) é considerado um estágio de pré-demência, onde são observadas alterações cognitivas que não impedem ou atrapalham a realização das atividades da vida diárias destes indivíduos. Apesar de esta condição clínica não poder ser considerada um fator determinante para o aparecimento de demência, idosos com CCL estão mais suscetíveis ao aparecimento deste tipo de patologia quando comparados a idosos cognitivamente preservados. Inúmeros processos histopatológicos buscam elucidar as diferentes vias que culminam no processo neurodegenerativo. A interação entre fatores genéticos e ambientais vêm se apresentando como uma importante explicação para o desenvolvimento de doenças relacionadas à idade.

A doença de Alzheimer (DA) é o tipo de demência mais prevalente e seu risco de incidência já foi previamente associado ao aumento da idade cronológica. Embora já tenham sido relatados diversos marcadores genéticos para a DA de início tardio, até o momento, o alelo $\epsilon 4$ do gene da Apolipoproteína E (APOE) foi o marcador genético que mostrou a associação mais consistente com esta doença. Inúmeros ensaios clínicos já indicaram um possível papel deste polimorfismo na fisiopatologia da DA, indicando que este alelo favorece a agregação da proteína β -amilóide, aumentando os depósitos de placas senis – um dos principais sinais histopatológicos da DA.

Outra via que já foi previamente considerada como uma das principais envolvidas no processo neurodegenerativo está relacionada com a ativação das células da glia e a produção de citocinas pró-inflamatórias. A inflamação é uma resposta de defesa que ocorre após o dano celular. Normalmente esta resposta é benéfica ao organismo, entretanto uma resposta inflamatória prolongada está associada a danos teciduais. Assim, quando identificados por meio do sistema imunológico os sinais histopatológicos do processo neurodegenerativo, há a ativação das células da glia, visando promover o *clearance* e buscando auxiliar na manutenção da homeostase. Contudo, este processo não é capaz de cessar a deposição de proteína β -amilóide e a

hiperfosforilação da proteína-tau, provocando assim um estado de superativação crônica das células da glia, envolvendo a ação de macrófagos. Esta ação é mediada por citocinas pró-inflamatórias que estimulam a fagocitose de células neurais, induzindo ao aumento do processo neurodegenerativo. Neste sentido, acredita-se que indivíduos que apresentam CCL e, portanto, já estejam com um processo degenerativo instaurado, estejam mais expostos à ação das citocinas pró-inflamatórias e, conseqüentemente, sofram maiores danos neurais pela ação de macrófagos. Esta hipótese pode ajudar a justificar as altas taxas de conversão de indivíduos com CCL para quadros demenciais. Além disso, o polimorfismo da APOE parece ser uma condição que, por favorecer o desenvolvimento da DA, pode estar diretamente associado à inflamação crônica sistêmica.

Intervenções farmacológicas para reduzir a inflamação crônica sistêmica são limitadas, pois agem de maneira aguda. Contudo, alterações relacionadas ao estilo de vida vêm demonstrando uma boa resposta na redução do risco de doenças crônico-degenerativas e demência. O exercício físico já foi previamente estabelecido como uma ferramenta eficiente para promover a redução do risco de doenças neurodegenerativas, melhora das funções cognitivas, mesmo em condições patológicas. A ação neurotrófica do exercício físico já foi extensivamente discutida por promover melhoras significativas na neuroplasticidade, perfusão sanguínea cerebral, sinaptogênese, entre outros benefícios. Todavia, o papel antiinflamatório do exercício físico frente a doenças neurodegenerativas ainda permanece com importantes lacunas. Ainda não foi possível afirmar qual via é responsável pela liberação de fatores antiinflamatórios, mas já foi possível observar que o exercício físico de intensidade moderada é capaz de neutralizar a produção de citocinas pró-inflamatórias. Neste sentido, além do papel neurotrófico, o exercício pode ser um fator que promove a mediação de uma das principais vias de danos neuronais.

Nosso estudo buscou investigar o papel do exercício físico sobre os níveis periféricos de citocinas pró-inflamatórias (Interleucina-6 e Fator de Necrose Tumoral- α) e sobre as funções cognitivas de indivíduos idosos. Este é um estudo prospectivo e controlado que consistiu na execução de um programa

multimodal de exercícios físicos por um período de 16 semanas em um grupo de idosos com comprometimento cognitivo leve e outro grupo de idosos cognitivamente preservados. Com isto, pretendeu-se avaliar se o exercício físico poderia modular níveis periféricos de citocinas pró-inflamatórias (IL-6 e TNF- α), bem como, variáveis funcionais e cognitivas. Além disso, nosso estudo também buscou verificar se os efeitos do exercício físico seriam modulados com relação à presença ou não do alelo $\epsilon 4$ da APOE.

O crescimento da prevalência da DA somente poderá ser revertido se forem encontradas práticas terapêuticas capazes de prevenir ou modificar o curso do desenvolvimento desta doença. Deste modo, a identificação de estratégias de tratamento e prevenção envolvendo medidas fidedignas, como biomarcadores são, atualmente um meio pouco invasivo, que permite identificar mudanças biológicas características dos processos neurodegenerativos no curso do envelhecimento. Assim, análises prospectivas com intervenções não-farmacológicas de cunho preventivo, envolvendo os benefícios da prática regular de exercícios físicos em indivíduos com maior risco para o desenvolvimento de demências, bem como se estes benefícios podem ser modulados por genótipos conhecidamente intervenientes no desempenho cognitivo e desenvolvimento da DA são escassos na literatura. Desta forma, nosso estudo buscou preencher algumas lacunas, no sentido de elucidar com uma análise prospectiva, a associação existente entre funções cognitivas e a possibilidade de modular marcadores neuroquímicos por meio da prática regular de exercícios físicos.

2. REVISÃO DA LITERATURA

Envelhecimento e Neurodegeneração

O processo de envelhecimento, *per se*, está associado a declínios graduais das aptidões físicas, funcionais e cognitivas (BRAYNE *et al.*, 1995). Assim, indivíduos idosos comumente apresentam alterações cognitivas que reduzem e/ou lentificam o processamento da informação, resultando em redução de habilidades cognitivas. Tais comprometimentos apresentam uma relação direta com a perda da velocidade e acurácia para a realização de tarefas e da tomadas de decisões (HEDDEN *et al.*, 2004). No curso deste processo é possível observar uma redução no desempenho normal das atividades da vida diária. Por este motivo, um importante aspecto a ser definido está relacionado à perda de autonomia e independência associadas às alterações funcionais decorrentes do envelhecimento e a instauração de processos neurodegenerativos, como a Doença de Alzheimer (DA), que apresentam um impacto negativo e comprometem a qualidade de vida destes indivíduos.

Com relação às doenças crônicas e neurodegenerativas, atualmente uma grande preocupação vem emergindo uma vez que contemporaneamente confrontamos os fenômenos de transições demográfica e epidemiológica simultaneamente. O aumento da expectativa de vida também vem acompanhado do desenvolvimento de alterações para as quais a idade cronológica é um fator de risco, dentre as quais, uma grande parte, acaba convertendo-se em doenças degenerativas (VERAS, 2009). A doença de Alzheimer é a patologia neurodegenerativa mais frequente associada à idade cronológica. Estima-se que a prevalência de algum tipo de demência na população brasileira seja em torno de 7% (HERRERA *et al.*, 2002). Dentre as demências, a DA é atualmente o tipo comum (NITRINI, 1999). Segundo a *Alzheimer's Disease International World Alzheimer Report (2009)*, atualmente a DA afeta aproximadamente 35 milhões de indivíduos e as projeções deste

órgão indicam que em 2050, este número poderá chegar a 115 milhões se novas terapias efetivas para prevenção não forem desenvolvidas.

O processo de transição do envelhecimento normal até as primeiras manifestações de perturbações cognitivas, que podem indicar a presença de quadros demenciais, principalmente a DA, tem sido amplamente investigado recentemente. Comprometimentos de memória associados ao envelhecimento são frequentemente observados durante o curso do envelhecimento, entretanto algumas alterações específicas podem marcar um quadro diagnóstico de comprometimento cognitivo leve (CCL). Assim o CCL foi estabelecido como uma fase prodrômica da doença em que os sintomas estão evoluindo, mas o indivíduo ainda não cumpre os critérios para demência. Os critérios estabelecidos para a detecção de CCL levam em conta, predominantemente, as alterações nos domínios de memória (PETERSEN, 2004). Entretanto alterações em outros domínios cognitivos e em concentrações centrais e periféricas de biomarcadores, bem como mudanças estruturais verificadas por meio de exames de neuroimagem em indivíduos com CCL em comparação com idosos cognitivamente preservados, indicam a necessidade de uma análise mais profunda para o estabelecimento do diagnóstico (ALBERT *et al.*, 2006). Por isso, estudos que melhorem nossa compreensão com relação a fatores intrinsecamente relacionados às alterações cognitivas decorrentes do processo degenerativo, configuram-se em uma importante ferramenta para auxiliar na compreensão destes processos e na elaboração de estratégias para evitar a progressão do CCL. Idosos com CCL apresentam uma taxa de conversão para demência de 10-40%, em comparação com 1-2% em idosos cognitivamente saudáveis (PETERSEN *et al.*, 2008; FORLENZA *et al.*, 2013). Contudo, o simples fato de um indivíduo apresentar estes comprometimentos, não suporta a ideia de que haverá futuramente a manifestação de um quadro demencial (FORLENZA *et al.*, 2010).

As interações entre fatores genéticos e interferências ambientais parecem ser determinantes para evidenciar estas variabilidades nos declínios cognitivos (FOSTER, 2006) e auxiliarem nos diagnósticos. Fatores ligados ao estilo de vida, incluindo a carga de estimulação intelectual, relações sociais, alimentação e prática regular de exercícios físicos vêm estabelecendo-se como

importantes moduladores do risco de doenças associadas à idade independente de fatores intrínsecos (PODEWILS *et al.*, 2005; LARSON *et al.*, 2006). Assim, ainda que indivíduos apresentem predisposição genética a desenvolverem patologias degenerativas, as interações dos genótipos com o ambiente é que demonstraram ser determinantes.

Sabendo que a interação entre todos estes fatores é determinante para delinear o curso do processo degenerativo, tem havido uma ampliação no foco de estratégias de prevenção destas doenças, como a DA. Além disso, os processos fisiopatológicos e neurodegenerativos presentes na DA são progressivos e irreversíveis (ZHAO *et al.*, 2002) e, não existem tratamentos capazes de conter o avanço deste processo. Portanto, alternativas que trabalhem em uma perspectiva preventiva, configuram-se na melhor opção para reduzir o risco de conversão de CCL para demência.

Marcadores de Inflamação e Doença de Alzheimer

Marcadores biológicos são definidos como substâncias que podem ser objetivamente mensuradas e avaliadas. Além disso, são utilizadas como indicadores de processos biológicos naturais, patogênicos ou respostas às intervenções terapêuticas (2001). Quando mensurados em ensaios clínicos, podem ser definidos como uma medida laboratorial que reflete a atividade de processos patogênicos (KATZ, 2004). As análises das concentrações periféricas de biomarcadores configuram-se em uma alternativa pouco invasiva em relação às análises realizadas por meio do líquido cefalorraquidiano (LCR). Apesar de não fornecerem uma medida diretamente realizada no SNC, componentes do plasma podem atravessar a barreira hematoencefálica por difusão ou transporte facilitado e apresentarem interferências importantes no funcionamento cortical (THAMBISETTY *et al.*, 2010).

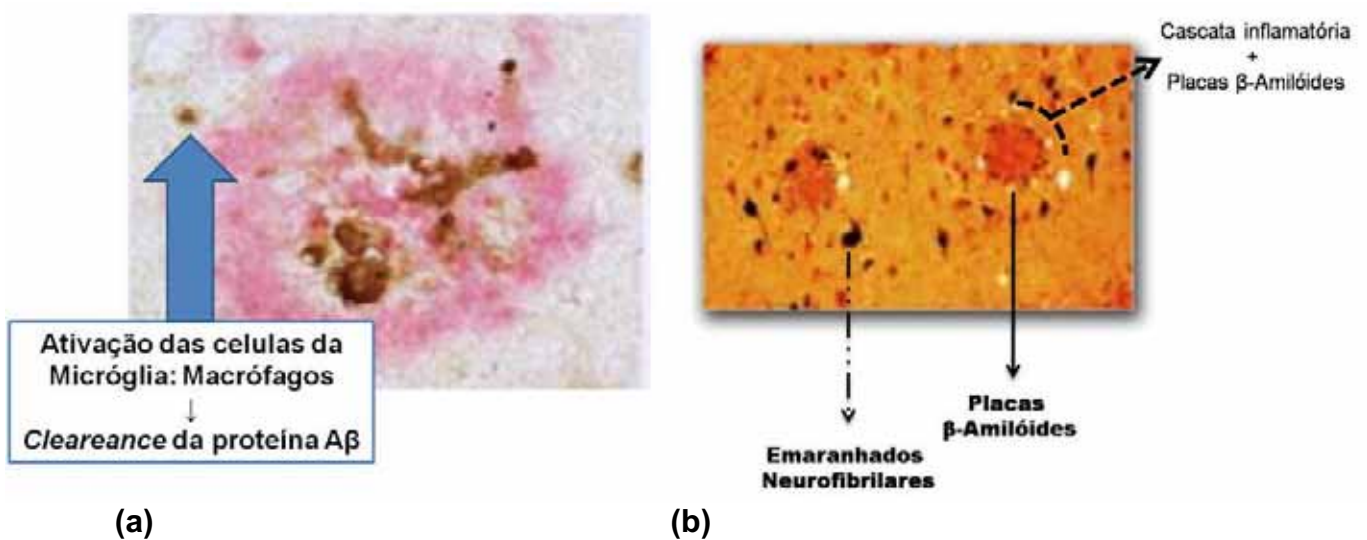
A inflamação é uma resposta de defesa que ocorre após dano celular causado por um agente extrínseco. Esta resposta geralmente é benéfica ao organismo, agindo para limitar a sobrevivência e proliferação dos patógenos invasores, aumentar a sobrevivência tecidual e promover reparos para auxiliar

na manutenção da homeostase do organismo (ABBAS *et al.*, 2000). Entretanto, uma inflamação extensiva, prolongada ou não regulada é altamente prejudicial. O termo *inflammaging* é utilizado para descrever respostas orgânicas decorrentes de um desequilíbrio no sistema imunológico que resulta em uma superativação de estímulos inflamatórios mediados por elevados níveis de citocinas pró-inflamatórias. Este desencadeamento de cascatas inflamatórias é considerado como uma das principais vias de danos neuronais no processo neurodegenerativo (SONG *et al.*, 2009). Os principais eventos associados ao processo neurodegenerativo da DA são a formação de placas senis (acúmulo de peptídeo β -amilóide) e os emaranhados neurofibrilares no córtex cerebral. O processo histopatológico que resulta na DA desencadeia a ativação do sistema imunológico. O sistema imune endógeno do SNC é controlado pelas células da glia (micróglia e astrócitos). O processo neuroinflamatório abrange um conjunto de respostas complexas ligadas à ativação microglial e astrocítica que liberam substâncias pró-inflamatórias e intensificam o processo de morte neuronal (LUCAS *et al.*, 2006). A micróglia passa a atuar como macrófago, na tentativa de realizar o *cleareance* da proteína β -amilóide, fagocitando as placas senis (MCGEER *et al.*, 2010). Entretanto, a ativação das células da glia frequentemente resulta em uma produção aumentada de citocinas pró-inflamatórias (RUBIO-PEREZ *et al.*, 2012). Durante o processo de envelhecimento, especialmente em condições degenerativas, em que há constante agregação de peptídeo β -amilóide para a formação de placas senis, ocorre uma ativação crônica das células da glia na tentativa de promover o *cleareance* da proteína β -amilóide (SCHUITEMAKER *et al.*, 2009). A exposição prolongada das células do SNC às citocinas pró-inflamatórias geram neurotoxicidade e intensifica o processo degenerativo. Estas evidências sugerem que o CCL associado ao processo neurodegenerativo caracterizado pela presença de placas amilóides e emaranhados neurofibrilares, já representaria a existência da DA na fase prodrômica (ALBERT *et al.*, 2006; ALBERT *et al.*, 2011).

A neurodegeneração mediada por inflamação envolve principalmente a ativação dos macrófagos. A ação dos macrófagos provoca a liberação de citocinas inflamatórias e radicais livres, os quais podem provocar lesões

teciduais relacionadas à resposta inflamatória (Jou *et al.*, 2013). Entre os efeitos neurotóxicos desencadeados a partir destas alterações, destacam-se a redução o aumento da ocorrência de apoptose e necrose neuronal, redução da sinaptogênese e maior vulnerabilidade à excitotoxicidade. A figura 1 adaptada de Lemere *et al.* (2004) demonstra o papel das citocinas pró-inflamatórias liberadas após a ativação das células da glia no processo degenerativo que caracteriza a fisiopatologia da DA.

Figura 1. (A) Ativação das células da glia e *cleareance* da proteína β -amilóide no tecido cerebral e; (B) Processo degenerativo desencadeado com a ativação da micróglia e consequente produção de fatores inflamatórios promovendo redução da placa senil e emaranhado neurofibrilar.



FONTE: Lemere *et al.*, 2004

Interleucina-6 (IL-6)

A IL-6 é uma proteína multifuncional produzida por células T, monócitos e macrófagos, fibroblastos, hepatócitos, células endoteliais e por algumas células tumorais (KISHIMOTO, 2005). Esta interleucina é uma citocina pleiotrópica capaz de regular a proliferação, diferenciação e atividade de algumas células (ERSHLER *et al.*, 2000). Ela desempenha um papel importante na remodelação óssea, homeostase neuroendócrina, bem como na regulação

da resposta imunoinflamatória (VGONTZAS *et al.*, 2005). A IL-6 auxilia na estimulação da secreção de anticorpos pelos linfócitos B e estimula a produção de proteínas na fase aguda da inflamação. Níveis séricos aumentados de IL-6, conhecida como “citocina geriátrica”, têm sido propostos como um marcador confiável para fatores de risco cardiovascular (JENNY *et al.*, 2002), diabetes mellitus (KADO *et al.*, 1999), declínio funcional, morbidade e mortalidade na velhice e declínios cognitivos em idosos (LICASTRO *et al.*, 2003; CESARI *et al.*, 2004; JYLHA *et al.*, 2007).

A interleucina-6 (IL-6) está intimamente envolvida na geração de processos neuroinflamatórios principalmente na região hipocampal, com reflexos diretos em comprometimento do processamento das memórias de curto prazo (YASUKAWA *et al.*, 1987), reconhecimento e evocação (ELDERKIN-THOMPSON *et al.*, 2012). Estes níveis alterados parecem resultar de patologias subjacentes ou comprometimento cognitivo pré-clínicos associados à demência incidente. Outra explicação é que o aumento do estado inflamatório poderia contribuir causalmente para intensificar alterações cognitivas que são independentes de uma neuropatologia subjacente (ALLEY *et al.*, 2008). Di Bona *et al.* (2008) em uma metanálise verificaram que há uma associação significativa entre polimorfismos que estimulam o aumento da produção de IL-6 e a predisposição ao desenvolvimento da DA.

As análises de expressão gênica em estudos *in vitro*, demonstraram que em indivíduos com DA ocorre um aumento dos níveis de ILs no tecido cerebral (COLANGELO *et al.*, 2002). Modelos experimentais também demonstraram uma relação direta entre o aumento das concentrações destas citocinas e maiores danos neurodegenerativos e perdas neurais (ROTHWELL *et al.*, 2000).

Apesar de não terem sido estabelecidos os mecanismos pelos quais o processo degenerativo ligado à inflamação sistêmica ocorre, pesquisas clínicas de relevante poder estatístico demonstraram que a presença de níveis aumentados de IL-6 tem uma associação positiva com o risco de DA (ERTA *et al.*, 2012).

Fator de Necrose Tumoral (TNF- α)

O gene do Fator de Necrose Tumoral (TNF)- α , localizado na região de classe III dos antígenos leucocitários humanos (*HLA*), é um mediador importante das respostas inflamatórias com múltiplas atividades biológicas. Várias áreas polimórficas são documentadas dentro do cluster gene TNF (CANDORE *et al.*, 2002). O TNF- α é composto por uma cadeia de 157 aminoácidos, produzidos por neutrófilos, Linfócitos T e B ativos, células *natural killers*, células endoteliais e células musculares que se ligam aos receptores da superfície celular. A atuação deste fator está intimamente relacionada com a resistência do hospedeiro à infecção. O TNF- α é uma das principais citocinas liberadas para mediar respostas pró-inflamatórias, no combate de antígenos (DINARELLO, 1991; BRUUNSGAARD *et al.*, 2003).

A superativação da atividade inflamatória marcada pela liberação de citocinas na região cortical parece ser um importante marcador da presença de sinais patológicos da DA (VASTO *et al.*, 2008). Também foi previamente observado que pacientes com DA apresentavam níveis significativamente mais elevados de TNF- α (TARKOWSKI *et al.*, 2000). Este marcador vem sendo descrito como um importante mediador de respostas inflamatórias com múltiplas atividades biológicas, estando diretamente relacionado ao processo histopatológico da DA (CANDORE *et al.*, 2004). Análises de estudos *in vitro* demonstraram que o TNF- α acelera a produção de peptídeo β -amilóide neurotóxico e formação de emaranhados neurofibrilares (MONTGOMERY *et al.*, 2013).

Alguns polimorfismos do gene TNF modulam a atividade de transcrição e, conseqüentemente, modulam a produção desta citocina. Uma metanálise verificou que indivíduos com expressão aumentada deste fator pró-inflamatório são mais suscetíveis a doenças auto-imunes e degenerativas, como por exemplo a DA (DI BONA *et al.*, 2009). A relação entre estas duas variáveis também já demonstrou que indivíduos carreadores do alelo ϵ 4 da APOE, por estarem mais suscetíveis ao processo histopatológico da DA, ocorre o favorecimento da expressão do TNF- α (DI BONA *et al.*, 2009). Portanto, há

evidências que o genótipo da APOE possa modular a atividade de transcrição de citocinas pró-inflamatórias, envolvidas na ativação das células da glia.

Polimorfismo da Apolipoproteína-E (APOE) como Fator de Risco para DA.

A APOE é uma glicoproteína de 317 aminoácidos presente em abundância no plasma humano, que dá origem a algumas proteínas de muito baixa densidade (VLDL). A APOE desempenha um papel importante no catabolismo lipídico, promovendo a redistribuição de partículas lipoproteicas até os receptores hepáticos, onde os lisossomos realizarão a degradação destas partículas. Contudo indivíduos carreadores do alelo $\epsilon 4$ da APOE apresentam alterações no mecanismo de transporte destes lipídeos, o que promove um déficit nos receptores lipoproteicos, dificultando o catabolismo das frações de baixa densidade do colesterol (LEDUC *et al.*, 2010). De maneira geral, o alelo $\epsilon 2$ está associado com menores níveis de colesterol plasmático, enquanto que a isoforma $\epsilon 4$ está associada com concentrações plasmáticas elevadas do colesterol total e de LDL (MURAKAMI *et al.*, 1993).

O gene da APOE está localizado no cromossomo 19 (19q13.2). A região transcrita de APOE possui uma grande quantidade de citosinas e guaninas (respectivamente 31,84% e 37,37% do mRNA transcrito). Em humanos, existem três alelos principais para o genótipo desta apolipoproteína, decorrentes de apenas duas alterações no DNA, chamados de $\epsilon 2$, $\epsilon 3$ e $\epsilon 4$. As isoformas proteicas produzidas por esses alelos diferem na composição de aminoácidos nas posições 112 e/ou 158 (WEISGRABER *et al.*, 1981; RALL *et al.*, 1982; WEISGRABER *et al.*, 1982): o alelo $\epsilon 2$ possui o aminoácido cisteína nas duas posições da proteína (aminoácidos 112 e 158), o $\epsilon 3$ tem a cisteína na 112 e uma arginina na 158 (sendo este o alelo mais comum da apoE), enquanto que o alelo $\epsilon 4$ possui argininas nestas duas posições.

As distribuições alélicas da APOE na população brasileira foram descritas por Fuzikawa *et al.* (2007): O alelo mais frequente foi $\epsilon 3$ (Cys112, Arg158) (80%), seguido pelo $\epsilon 4$ (Arg112, Arg158) (13,5%) e $\epsilon 2$ (Cys112,

Cys158) (6,5%). Com relação à combinação genotípica da população brasileira, os pesquisadores encontraram que o genótipo $\epsilon 3/\epsilon 3$ é o mais comum (63,4 %), seguido das combinações $\epsilon 3/\epsilon 4$ (21,9%), $\epsilon 2/\epsilon 3$ (11,5%), $\epsilon 4/\epsilon 4$ (1,8 %), $\epsilon 2/\epsilon 4$ (1,4%) e $\epsilon 2/\epsilon 2$ (0,1%).

A APOE também demonstrou estar diretamente envolvida na formação de placas amilóides no cérebro humano. A síntese desta glicoproteína predominantemente no fígado, mas em humanos o cérebro é o segundo local onde ocorre a maior síntese de APOE, sendo produzida principalmente por astrócitos e micróglia (BOYLES *et al.*, 1985; LIN *et al.*, 1986). Resultados obtidos a partir de estudos de associação demonstraram que carreadores de um alelo $\epsilon 4$ da APOE podem ter um risco aumentado em até 4 vezes para o desenvolvimento da DA e este risco sobe para até 12 vezes em indivíduos homocigóticos para este alelo (FARRER *et al.*, 1997). A identificação da variante $\epsilon 4$ do gene APOE, como o fator genético de risco mais comum para a DA de início tardio, sugere que o colesterol pode ter um papel direto na patogênese da doença.

Embora já tenham sido relatados, na literatura, outros marcadores genéticos para a DA de início tardio, o alelo $\epsilon 4$ do gene da APOE vem sendo o mais estudado por sua associação consistente com o aparecimento desta doença. Corder *et al.* (1998) verificaram que a presença do alelo $\epsilon 4$ da APOE aumentou o risco de DA de maneira dose-dependente de 20 a 90%, podendo levar à diminuição da idade de início da doença de 84 para 68 anos dependendo do número de alelos $\epsilon 4$. A presença deste alelo constitui-se como um significativo fator de risco para a DA (CORDER *et al.*, 1993; SAUNDERS *et al.*, 1993). Esta isoforma da APOE parece ser capaz de aumentar a fibrilogênese do peptídeo β -amilóide com um papel específico na formação das placas amilóides e emaranhados neurofibrilares (CORDER *et al.*, 1998; CZYZEWSKI *et al.*, 1998).

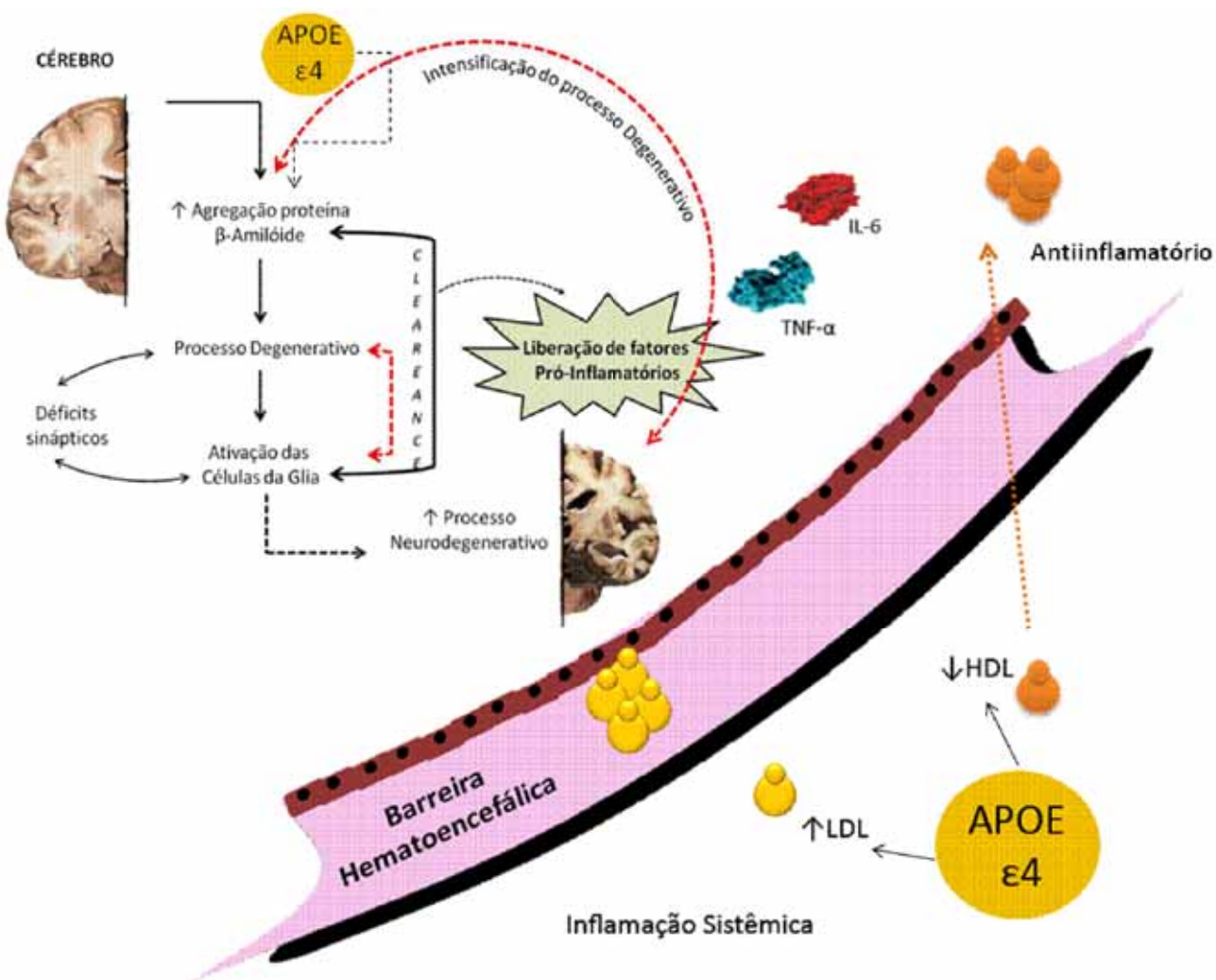
Mesmo configurando-se como o mais consolidado fator de risco para o desenvolvimento da DA, a presença do alelo $\epsilon 4$ da APOE, *per se*, não é suficiente para determinar o aparecimento da demência. Apesar de a presença do alelo $\epsilon 4$ aumentar o risco em até 50% dos diagnósticos de DA de início

tardio, em comparação com uma frequência de apenas 15% para a população geral (CORDER *et al.*, 1993; SAUNDERS *et al.*, 1993), este fator genético não determina a instauração de um processo demencial. A interação entre os fatores genéticos com fatores relacionados ao estilo de vida vem sendo indicada como a principal determinante para desencadear processos degenerativos.

Tendo em vista o estabelecimento de uma associação entre risco de DA e genótipo da APOE, existe atualmente um grande interesse no papel do alelo $\epsilon 4$ como um fator de risco para o desempenho cognitivo em indivíduos cognitivamente preservados (LAUTENSCHLAGER *et al.*, 2005). A identificação destes fatores auxilia na elaboração de estratégias preventivas. Um estudo epidemiológico conduzido no Brasil indicou que há uma forte associação entre a presença do alelo $\epsilon 4$ da APOE e prejuízos nas funções cognitivas de idosos (QUINTINO-SANTOS *et al.*, 2012). Esta associação foi encontrada somente em indivíduos homocigotos ($\epsilon 4/\epsilon 4$), indicando a dependência da dose gênica no risco de comprometimento cognitivo

Alterações no estado de homeostase do organismo sinalizam para um aumento da ativação do sistema imunológico e estresse oxidativo. Estas reações podem resultar em um quadro de inflamação sistêmica crônica. A presença do alelo $\epsilon 4$ da APOE configura-se em um fator de risco para desencadear processos histopatológicos que favorecem a cascata amiloidogênica. Estes processos provocam a ativação da atividade imunológica do SNC, fazendo com que as células da glia sinalizem para a necessidade de liberação de citocinas pró-inflamatórias. Estas citocinas estimulam a atividade de macrófagos, resultando no aumento do estresse oxidativo e produção de excitotoxicidade. Portanto, há evidências de uma interação entre fatores genotípicos e favorecimento do processo degenerativo por meio da resposta inflamatória. A figura 2 ilustra o ciclo desta interação entre inflamação sistêmica, fatores genéticos e processos neurodegenerativos.

Figura 2. Implicações das interações entre o processo patológico característico da DA prodrômica. A ativação das células da glia e liberação de citocinas pró-inflamatórias no SNC associadas a fatores periféricos que intensificam a inflamação sistêmica.



FONTE: Elaborado pelo autor

Legenda: APOE: Apolipoproteína E; IL-6: Interleucina-6; TNF-α: Fator de necrose tumoral-α; LDL: Colesterol de baixa densidade; HDL: Colesterol de alta densidade.

O cérebro contém cerca de 30% do colesterol total em indivíduos eutróficos e é, portanto, o órgão mais rico em colesterol no organismo. Este colesterol é necessário para a saúde neuronal, bem como para estimular o crescimento axonal e neuroplasticidade, além de preservar a sinaptogênese (PFRIEGER, 2003). Estudos experimentais evidenciaram que deficiências na

APOE ou em receptores de HDL resultaram em comprometimento do processo de aprendizagem e de funções relacionadas à memória, indicando um papel significativo da APOE na plasticidade sináptica. O alelo $\epsilon 4$ é a isoforma da APOE que indicou maior inibição da plasticidade sináptica no hipocampo e córtex entorrinal (MULDER *et al.*, 2004).

Os astrócitos sintetizam essencialmente todo o colesterol que é necessário para o SNC e a barreira hematoencefálica funciona como um filtro, que impede que quantidades significativas destas lipoproteínas atravessem para a circulação periférica (TURLEY *et al.*, 1996). Esta atividade requer a ligação das moléculas de colesterol com as apolipoproteínas. A APOE é a principal apolipoproteína que realiza a remoção do colesterol do meio extracelular e limita o transporte deste lipídeo para o SNC (POIRIER, 2003). Indivíduos carreadores do alelo $\epsilon 4$ demonstraram um comprometimento no transporte de lipídeos, favorecendo as trocas entre os lipídeos periféricos e do SNC (STEFANI *et al.*, 2009). Portanto, em indivíduos com a isoforma $\epsilon 4$, a hipercolesterolemia pode tornar-se um fator de risco para o desenvolvimento de processos neurodegenerativos, uma vez que o acúmulo de lipídeos provoca lesões em tecidos. Esta via promove a ativação do sistema imunológico, expondo o organismo ao ciclo de inflamação crônica que intensifica os processos degenerativos tanto em nível central como periférico.

Diante disto, o genótipo da APOE parece ter um papel fundamental nas alterações no metabolismo do colesterol e no sistema nervoso central, podendo representar um potencial risco de desenvolvimento da DA (MENSENKAMP *et al.*, 1999; EICHNER *et al.*, 2002). Além disso, indivíduos com alterações no metabolismo lipídico estão mais suscetíveis à exposição prolongada do SNC às citocinas pró-inflamatórias. A identificação de perfis de risco e marcadores fidedignos do processo degenerativo pode auxiliar na elaboração de estratégias efetivas na redução da conversão de quadros de CCL para demência (ALBERT *et al.*, 2006).

Interação entre Exercício Físico, Genótipo da APOE, Resposta Inflamatória e risco de CCL.

Indivíduos que apresentam fatores de risco genéticos, como a presença da isoforma $\epsilon 4$ da APOE, parecem beneficiar-se dos efeitos protetores do exercício físico. Podewils *et al.* (2005) em um estudo prospectivo verificaram que os benefícios do exercício físico regular nos declínios cognitivos foram mais pronunciados em indivíduos não portadores do alelo $\epsilon 4$. Entretanto, outros estudos concluíram que efeitos benéficos do exercício físico possuem maior impacto em indivíduos carreadores do alelo $\epsilon 4$ da APOE, em comparação com seus pares portadores das demais isoformas (ROVIO *et al.*, 2005; ETNIER *et al.*, 2007; DEENY *et al.*, 2008).

Carreadores do alelo $\epsilon 4$ apresentam mais acentuada agregação de proteína β -amilóide. O acúmulo deste peptídeo no tecido neural diminui a produção de fatores neurotróficos, principalmente do Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro (BDNF), compromete a integridade axonal e provavelmente estes mecanismos resultem no déficit sináptico observado na DA (POON *et al.*, 2011).

Análises imunohistoquímicas em modelos experimentais indicaram uma redução significativa no acúmulo de proteína β -amilóide por meio de exercício físico, e estas respostas foram mais efetivas do que o controle da ingestão alimentar (MAESAKO *et al.*, 2012).

Estudos *in vitro* demonstraram que a ativação da micróglia promove redução do acúmulo de proteína β -amilóide, entretanto para a realização deste processo, há uma exposição prolongada do SNC às citocinas pró-inflamatórias envolvidas nesta cascata, que resulta em neurotoxicidade e acelera o processo degenerativo (LEE *et al.*, 2013). Todavia, o mecanismo de ativação da resposta inflamatória não é suficiente para conter a agregação do peptídeo β -amilóide e a hiperfosforilação da proteína *tau* em situações de patologias neurodegenerativas, e pode intensificar o agravamento da doença em decorrência do desencadeamento da cascata inflamatória (AGOSTINHO *et al.*, 2010). Por isso o papel neurotrófico do exercício, que promove a redução do

acúmulo de peptídeo β -amilóide e a hiperfosforilação da proteína *tau*, configura-se em uma importante via alternativa para a redução do processo degenerativo (MAESAKO *et al.*, 2012), que não resulta na liberação dos fatores pró-inflamatórios.

Altas concentrações de citocinas pró-inflamatórias estão relacionadas com o processo de envelhecimento e são preditoras do aparecimento de doenças crônicas (PENNINX *et al.*, 2004). Neste caso, intervenções farmacológicas possuem um efeito limitado e uma resposta aguda na redução da inflamação crônica, indicando a necessidade de um tratamento não farmacológico. A prática regular de exercícios físicos é associada com uma redução do risco de incidência de enfermidades crônico degenerativas em idosos, mesmo em indivíduos que iniciam a prática de maneira tardia (PETRELLA *et al.*, 2005). Teixeira *et al.* (TEIXEIRA *et al.*, 2012) em um estudo de revisão verificaram que a prática regular de atividades físicas é uma terapia não farmacológica eficiente para melhorar as funções executivas e a memória em idosos com CCL. Esta resposta está diretamente relacionada com a redução da conversão de CCL para DA e conseqüentemente com a menor prevalência desta doença.

Portanto, a prática de exercícios físicos pode ser uma alternativa não farmacológica eficiente para promover a neuroplasticidade e reduzir o quadro de inflamação sistêmica mesmo em pessoas com maior risco genético para o desenvolvimento da DA. Assim, dado o caráter protetor do exercício físico contra o processo degenerativo, um programa de exercícios físicos configura-se em um aliado importante na elaboração de políticas públicas que visam reduzir a incidência da DA.

3. OBJETIVOS

- 1) Analisar os efeitos de 16 semanas de um programa multimodal de exercícios físicos nas concentrações periféricas de marcadores inflamatórios em idosos com comprometimento cognitivo leve e em idosos cognitivamente preservados.
- 2) Analisar se o genótipo da APOE influenciaria o padrão destas respostas a este programa.
- 3) Identificar se as concentrações de citocinas pró-inflamatória, o genótipo da APOE e a prática regular de exercícios físicos contribuiriam para a predição de CCL nos sujeitos.

4. HIPÓTESES

- 1) Um programa multimodal de exercícios físicos, realizado durante 16 semanas, contribuiria para a redução das concentrações plasmáticas de IL-6 e TNF- α .

- 2) A presença do alelo $\epsilon 4$ da APOE, altas concentrações de IL-6 e TNF- α e a prática regular de exercícios físicos poderiam ser caracterizados como preditores de CCL nos sujeitos.

5. MÉTODOS

Delineamento da Pesquisa

O delineamento utilizado foi de um ensaio clínico controlado e prospectivo com duração de 16 semanas. Todas as avaliações foram conduzidas por avaliadores experientes que desconheciam a distribuição dos participantes em cada grupo. Os avaliadores não participaram do protocolo de intervenção (*single-blinded*).

SUJEITOS

Recrutamento e Caracterização da Amostra

Os participantes foram recrutados a partir de uma coorte de idosos voluntários, residentes no município de Rio Claro, SP. Foram admitidos idosos de ambos os sexos, com deambulação independente e que não apresentassem diagnóstico clínico de demência e/ou condições neuropsiquiátricas. O recrutamento dos participantes foi realizado por meio de convites realizados em mídias (jornais, rádio, televisão) para divulgação do projeto.

Foram excluídos da amostra os participantes que apresentavam restrições à realização dos testes motores (comorbidades osteomioarticulares, labirintopatias, cardiopatias e doenças respiratórias), uso contínuo de medicamentos antiinflamatórios (esteroidais e não-esteroidais) e de β -bloqueadores.

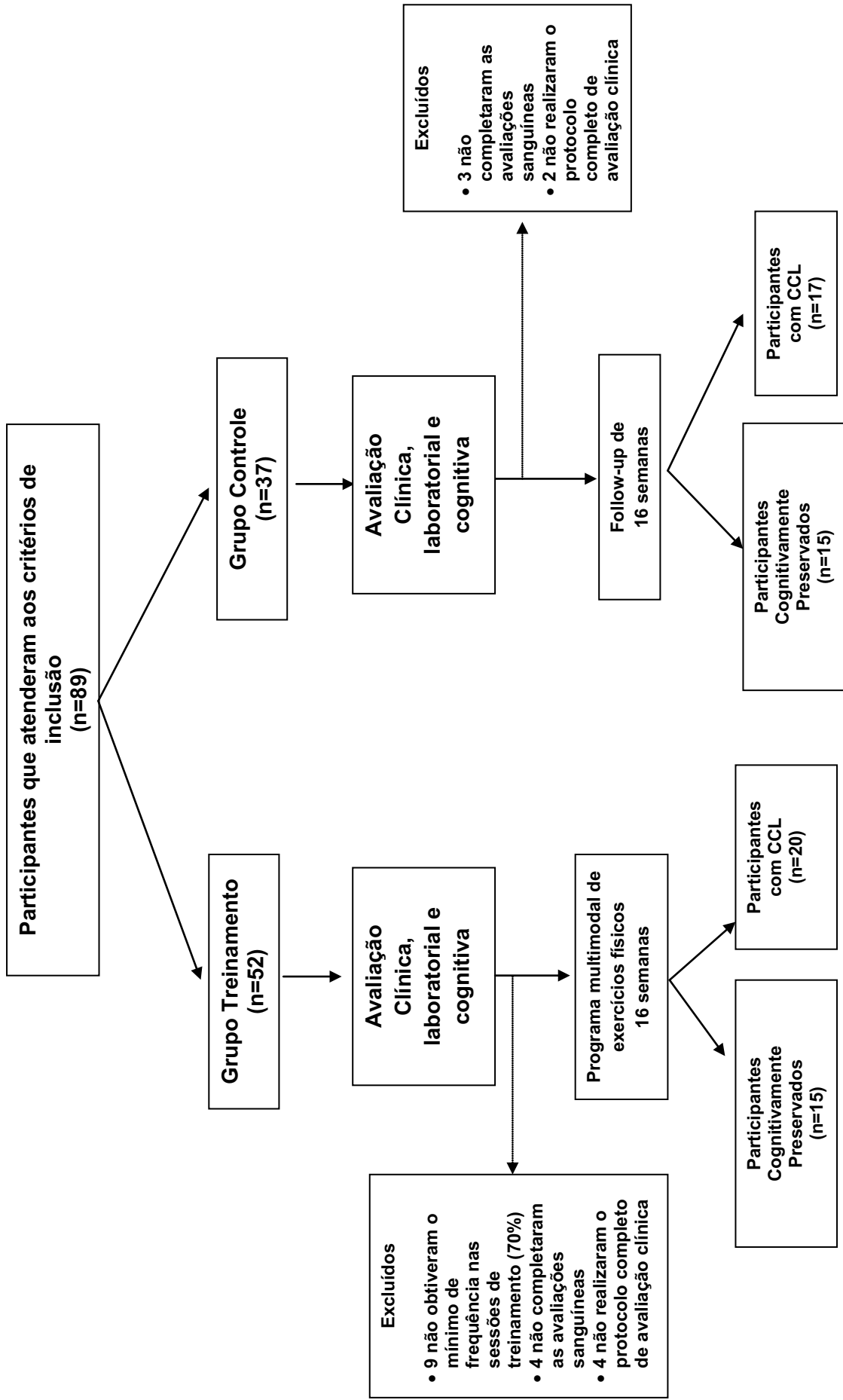
A partir da primeira triagem, 89 idosos de ambos os sexos realizaram o protocolo de avaliação clínica e a análise do perfil de marcadores inflamatórios. Esta amostra foi distribuída em diferentes grupos, de acordo a condição cognitiva e a participação no programa multimodal de exercícios físicos.

Para a análise dos dados, apenas foram inseridos na amostra de indivíduos de ambos os grupos de treinamento, aqueles sujeitos que frequentaram pelo menos 70% do total de 48 sessões que compuseram o

programa multimodal de exercícios físicos. Estudos preliminares demonstraram que frequências em torno de 70% asseguram os benefícios de um programa de exercícios físicos para indivíduos idosos (VAN UFFELEN *et al.*, 2008; VAN UFFELEN *et al.*, 2009). Ao final do período de intervenção, o número de participantes que completaram todas as avaliações e compuseram a amostra do estudo foi de 67 participantes.

A figura 3 ilustra o diagrama de fluxo com as intercorrências que resultaram em abandono por alguns sujeitos entre os períodos pré-treinamento e após as 16 semanas do período de intervenção.

Figura 3. Diagrama de fluxo mostrando ocorrência de abandono entre os períodos pré-treinamento e ao final das avaliações.



Todos os sujeitos do estudo assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (ANEXO 1). O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa do Instituto de Biociências, UNESP, Campus de Rio Claro (CEP-IB-UNESP), protocolo #7143/2011 (ANEXO 2).

Protocolo de Avaliação da Condição Cognitiva

A avaliação da condição cognitiva foi realizada por avaliadores experientes que desconheciam a alocação dos sujeitos em relação aos grupos. Nenhum dos avaliadores participou do protocolo de intervenção (*'single-blinded'*). Todos os avaliadores foram treinados especificamente para a aplicação dos referidos testes.

O escore clínico de demência (CDR) (HUGHES *et al.*, 1982; MORRIS, 1993) foi utilizado para evitar que participantes com sintomas de demência fossem incluídos na amostra. Só foram admitidos para a análise dos dados, indivíduos que apresentassem escores entre 0 e 0,5 pontos na CDR. Este instrumento tem por objetivo avaliar e classificar a gravidade da demência. O teste avalia a influência das perdas cognitivas na capacidade de se realizarem adequadamente as atividades da vida diária. Este instrumento está dividido em seis categorias cognitivo-comportamentais: memória, orientação, julgamento ou solução de problemas, relações comunitárias, atividades no lar ou de lazer e cuidados pessoais. Cada uma dessas seis categorias é classificada em: 0 (nenhuma alteração); 0,5 (questionável); 1 (demência leve); 2 (demência moderada); e 3 (demência grave).

Como instrumento de rastreio cognitivo, foi utilizado o Montreal Cognitive Assessment (MoCA) (NASREDDINE *et al.*, 2005). O MoCA é um teste de rastreio cognitivo estruturado sob forma de entrevista capaz de detectar os graus de comprometimento cognitivo. Este instrumento é constituído por um protocolo breve, cujo tempo de aplicação é de aproximadamente 10 minutos em indivíduos sem demência. O MoCA permite a avaliação de diferentes domínios cognitivos: atenção e concentração, funções executivas, memória, linguagem, capacidades visuo-construtivas, capacidade de abstração, cálculo e orientação. A pontuação a ser atingida pode variar de 0 a 30 pontos. Os

estudos originalmente realizados (NASREDDINE *et al.*, 2005) indicam que o MoCA possui boa consistência interna (α Cronbach = 0,83) e elevada confiabilidade teste-reteste ($r = 0,92$, $p < .001$). Este teste vem sendo aplicado principalmente visando avaliar o comportamento das funções cognitivas e com boa sensibilidade para rastreamento de alterações cognitivas em idosos.

A funcionalidade foi considerada como o conjunto de habilidades que permitem o desempenho das atividades da vida cotidiana e foi avaliada por meio do Questionário de Atividades Instrumentais de Pfeffer (PFEFFER *et al.*, 1982). Este instrumento é composto por 10 questões com respostas que podem ser pontuadas entre um e três de acordo com o grau de desempenho do paciente. Ele avalia a capacidade para o desempenho das atividades instrumentais da vida diária, como por exemplo, atender a um telefonema, lidar com dinheiro e lembrar-se de compromissos. O escore máximo equivale a 30 pontos. Sujeitos que alcançarem escores superiores a cinco pontos são considerados como tendo comprometimento funcional. Além disso, os participantes e seus acompanhantes (no caso do grupo com CCL) foram questionados com relação à funcionalidade, tanto no ambiente doméstico, como no contexto social mais complexo.

Os sintomas depressivos foram avaliados por meio da Escala de Depressão em Geriatria-versão, versão breve (GDS-15) (YESAVAGE *et al.*, 1982; SHEIKH *et al.*, 1986). A GDS com 15 itens (GDS-15) (SHEIKH *et al.*, 1986) é uma versão breve da escala original e foi elaborada a partir dos itens que mais fortemente se correlacionavam com o diagnóstico de depressão. Em nosso estudo, o controle dos sintomas depressivos foi avaliado como uma variável confundidora em decorrência da interferência que estes sintomas apresentam no comportamento das funções cognitivas.

Comprometimento Cognitivo Leve

O termo comprometimento cognitivo leve (CCL) tem sido amplamente utilizado para descrever indivíduos com comprometimentos em um ou mais domínios cognitivos, sem evidência de comprometimento funcional leve e que, portanto, não preenchem os critérios para o diagnóstico clínico de demência

provável. O diagnóstico de CCL têm sido associado com maiores taxas de progressão para DA. Indivíduos com CCL podem ser classificados como amnésicos, se o domínio de memória for predominantemente prejudicado ou não-amnésicos, no caso de os déficits serem observados em outras funções cognitivas. Também podem ocorrer comprometimentos em um único domínio das funções cognitivas, ou em múltiplos domínios. Estima-se que indivíduos com CCL amnésico apresentem uma taxa de conversão de 48,7%, contra 26,8% em indivíduos com CCL não-amnésico (FORLENZA *et al.*, 2013). Uma grande proporção de indivíduos classificados com CCL pode retomar às funções cognitivas normais (*'backconversion'*) ou manter déficits cognitivos estáveis, não evoluindo para demência (VISSER *et al.*, 2006).

A detecção do CCL leva em conta uma série de critérios clínicos, estabelecidos por Petersen (2004). O indivíduo deve relatar como características principais:

- 1) alterações nas funções cognitivas.
- 2) comprometimento em um ou mais dos domínios cognitivos (alterações de memória, afasias, apraxias ou agnosias e alterações nas funções executivas) a partir de baterias de testes neuropsicológicos.
- 3) execução das atividades funcionais, essencialmente provenientes do escore clínico de demência (CDR) e da avaliação das atividades instrumentais (questionário de atividades instrumentais de Pfeffer) e;
- 4) ausência de demência (segundo os critérios do manual diagnóstico e estatístico de transtornos mentais (DSM-IV) (2003).

O Montreal Cognitive Assessment (MoCA) (NASREDDINE, PHILLIPS, BEDIRIAN *et al.*, 2005) já foi traduzido para mais de 30 idiomas e vem demonstrando ser uma ferramenta com boa sensibilidade para a detecção de CCL. O MoCA é mais abrangente e mais exigente com relação à funções de memória e executivas. Esta característica torna o MoCA mais sensível a

déficits cognitivos leves (SIKAROODI *et al.*, 2013). O ponto de corte do MoCA utilizado para detecção de CCL em idosos brasileiros foi de 25 pontos (MEMORIA *et al.*, 2013). O estudo de validação da versão do MoCA para idosos brasileiros demonstrou que este ponto de corte apresentou um bom equilíbrio entre sensibilidade (81%) e especificidade (77%) para detecção de CCL (MEMORIA *et al.*, 2013). Além disso, também foram observados bons valores de consistência interna (α Cronbach=0,75) que confirmam a acurácia deste teste para o rastreio de CCL.

A combinação de testes de rastreio cognitivo é uma estratégia comum para aumentar a precisão do diagnóstico de demência na prática clínica. Em geral, isso gera maior sensibilidade e especificidade e auxilia na distinção entre quadros de CCL e envelhecimento normal (BOTTINO *et al.*, 2009).

Protocolo de Avaliação Física:

O Questionário de Baecke Modificado Para Idosos (QBMI) (VOORRIPS *et al.*, 1991) foi utilizado para estimar o nível de atividade física, abrangendo três áreas básicas: atividades domésticas, atividades esportivas e atividades de lazer. Este instrumento foi aplicado para assegurar maior homogeneidade possível com relação ao nível de atividade física dos participantes da pesquisa no período pré-treinamento.

A bateria de testes motores da AAHPERD (CLARK, 1989; OSNESS *et al.*, 1990) (ANEXO 3) foi utilizada para medir a aptidão por meio da avaliação dos componentes de capacidade funcional. Esta bateria é constituída por testes que verificam: a) flexibilidade – teste de alcançar sentado; b) resistência de força – envolve a resistência de força de membros superiores, mas também representa uma boa predição da força total; c) coordenação motora – eficiência neuromuscular dos braços e mãos; d) agilidade e equilíbrio dinâmico – envolve atividade total do corpo com movimentos para frente, mudanças de direção e posição do corpo; e) resistência aeróbia geral – reflete a capacidade aeróbia e a habilidade de andar. Para os testes de flexibilidade e força, considera-se que, quanto maior o resultado obtido, melhor o desempenho do participante. A

bateria da AAHPERD apresenta bons critérios de validade e confiabilidade para idosos brasileiros (ZAGO *et al.*, 2003).

O Índice de Aptidão Física Geral (IAFG) foi calculado a partir das tabelas de valores normativos baseados nos escores percentis dos 5 testes desenvolvidos (ZAGO *et al.*, 2003). A bateria da AAHPERD é compreendida de testes de fácil aplicação e baixo custo. Os resultados obtidos permitem inferir o desempenho funcional nas atividades diárias dos idosos.

Protocolo de Avaliação Laboratorial:

As análises laboratoriais foram realizadas no Laboratório de Neurociências (LIM-27) do Departamento e Instituto de Psiquiatria da Faculdade de Medicina da USP (São Paulo/SP).

Para a análise das concentrações plasmáticas dos marcadores inflamatórios – Interleucina-6 e TNF- α , foram coletadas amostras de sangue (25 mL) em tubos com EDTA (ácido etilenodiamino tetracético) (Vacuette®), no período da manhã, após um período de oito horas de jejum. O sangue coletado foi imediatamente centrifugado a 5000 rpm durante 5 minutos para a obtenção do plasma. O sobrenatante foi congelado a uma temperatura de -20°C. Os níveis plasmáticos de marcadores inflamatórios foram mensurados de acordo com os procedimentos fornecidos pelos fabricantes. Foram utilizados reagentes de kits específicos para ensaio imunoenzimático (ELISA) com os anticorpos para Interleucina-6 e Fator de Necrose Tumoral- α (Quantikine, R&D Systems, Minneapolis, MN, USA). Todas as amostras foram realizadas em duplicata e as concentrações expressas em pg /ml. Os limites de detecção foram de 0,1 pg / ml e os valores abaixo dos limites de detecção foram assumidos como sendo zero.

Para se identificar os polimorfismos da APOE, foram realizadas a análise da expressão gênica por meio de PCR (*polymerase chain reaction*) e a análise do polimorfismo de tamanho dos fragmentos de restrição (*RFLP, restriction fragment length polymorphism*) por reação enzimática. O DNA genômico foi isolado a partir do sangue total de cada indivíduo. A genotipagem da APOE foi determinada por meio de um ensaio de discriminação alélica TaqMan 5'-

exonuclease obtida a partir de Applied Biosystems® (Foster City, CA, USA) com *primers*. Esta metodologia utiliza dois ensaios por PCR para triagem de polimorfismos de nucleotídeo único (rs429358, rs7412) dentro do exon 4 do gene APOE. Os resultados dos ensaios individuais foram usados para determinar o genótipo da APOE e a frequência de ocorrência do alelo $\epsilon 4$ (APOE $\epsilon 4$).

Para se determinar as concentrações de colesterol total, HDL, LDL, triglicéridos e glicose foi utilizado o método de Ensaio Imunoenzimático (ELISA) com kits de reagentes específicos para cada uma das concentrações correspondentes (Laborlab®, Guarulhos, São Paulo / Brasil).

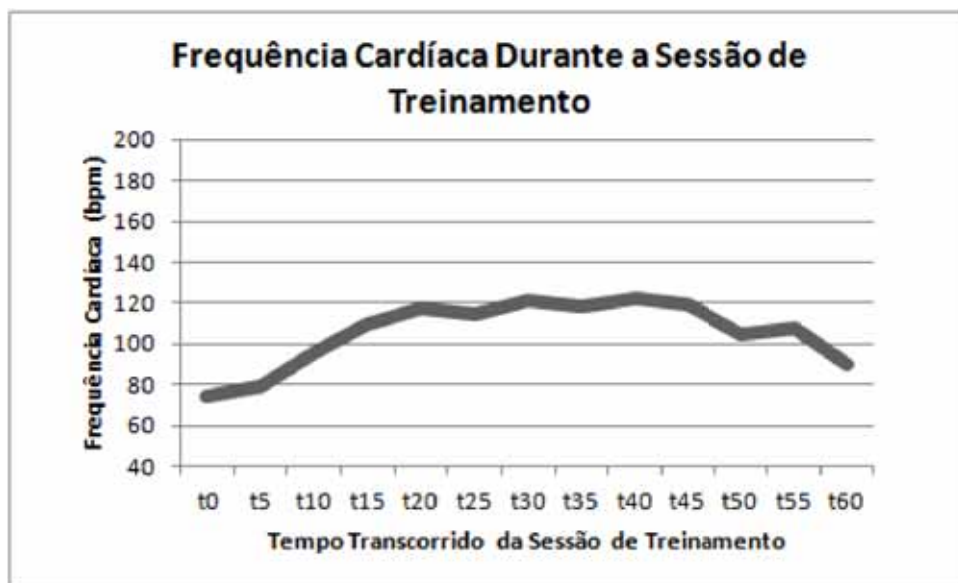
Protocolo de Intervenção Motora:

Em atendimento às recomendações do colégio americano de medicina esportiva (2009) o programa foi estruturado para manter-se em intensidades moderadas e promovendo o recrutamento dos principais componentes da capacidade funcional, visto que declínios seletivos significativos são observados a partir do processo de envelhecimento e apresentam um importante impacto na funcionalidade do indivíduo idoso. Além disso, exercícios físicos intensos e extenuantes podem aumentar a produção de citocinas inflamatórias, comprometendo o sistema imunológico desta amostra, podendo representar um potencial viés de acordo com o objetivo do estudo.

Os participantes foram instruídos a exercitarem-se entre 60%-80% de sua frequência cardíaca máxima (FCM) seguindo a recomendação do colégio americano (2009). A equação de predição para a FCM utilizada foi a de Tanaka *et al* (2001) para homens e mulheres sedentários. Monitores Cardíacos (frequencímetro) foram utilizados para controlar a intensidade das sessões de treinamento, entretanto não foi possível obter as taxas de FC de cada um dos participantes em todas as sessões por não haver uma quantidade suficiente de monitores cardíacos disponíveis, sendo necessário um rodízio aleatório entre os idosos que estavam realizando as sessões de exercício para o controle desta variável. Assim, tal procedimento pode ser considerado uma potencial limitação para determinação fidedigna da intensidade do programa realizado. O

gráfico 1 mostra os dados de frequência cardíaca média observada durante uma sessão de treinamento para exemplificar o controle da intensidade de esforço realizado durante o treinamento.

Gráfico 1. Comportamento da frequência cardíaca durante uma sessão de treinamento



O treinamento foi composto por 3 sessões semanais (dias não consecutivos) com duração de 60 minutos, cada sessão. Cada sessão do treinamento foi estruturada de forma a conter atividades que priorizassem o equilíbrio, agilidade, capacidade aeróbia/ aptidão cardiorrespiratória e resistência de força.

Os participantes do grupo de intervenção motora realizaram um treinamento dividido em seis fases, sendo que cada fase teve duração de quatro semanas (12 sessões). A tabela 1 ilustra a organização do treinamento durante uma fase, bem como o tipo de atividade realizada durante as sessões. Ao final de cada fase era realizado o reajuste da carga de trabalho, visando atender ao princípio de sobrecarga progressiva, para que as intensidades de esforço se mantivessem entre 60 e 80% da FCM.

O programa multimodal de exercícios físicos era composto de atividades que buscavam mobilizar predominantemente o metabolismo aeróbio. Em todas

as sessões eram realizados diferentes tipos de atividades para estimular, todos os componentes da capacidade funcional. O protocolo de treinamento já foi previamente publicado (NASCIMENTO *et al.*, 2013).

O comprometimento funcional progressivo decorrente do envelhecimento normal pode ser atenuado com estratégias que estimulem os componentes funcionais. Tais estratégias reduzem os efeitos do empobrecimento de estímulos decorrentes da redução da mobilidade e da execução das atividades da vida diária.

Tabela 1. Modelo de distribuição e estrutura das sessões de treinamento do programa multimodal de exercícios físicos.

Aquecimento 10 min.			
Sequencia 1	Sequencia 2	Sequencia 3	Sequencia 4
Resistência de Força	Resistência Aeróbia	Resistência de Força	Equilíbrio
Coordenação	Resistência de Força	Equilíbrio	Resistência Aeróbia
Resistência Aeróbia	Coordenação	Resistência Aeróbia	Coordenação
Relaxamento e Volta à Calma 5 min.			

6. ANÁLISE E PROCESSAMENTO DOS DADOS

O poder estatístico da amostra e o *Effect Size* foram calculados com o software G*Power 3, versão 3.1.4. O poder estatístico estimado para nossa amostra foi de 89% ($1-\beta=0.89$) (FAUL *et al.*, 2007)

A análise dos dados foi realizada comparativamente, visando-se analisar os resultados com relação a duas condições diferentes: 1) Prática regular de exercícios físicos; 2) Genótipo da APOE (presença do alelo $\epsilon 4$).

As variáveis para caracterização da amostra, que satisfaziam os pressupostos de normalidade foram apresentadas por meio de médias e desvios-padrão, e suas comparações realizadas por meio de Análise de Variância. No caso das variáveis que não atendiam aos pressupostos para estatística paramétrica ou que eram categóricas, os dados foram apresentados por meio de medianas e amplitude interquartil. Para as comparações entre grupos para estas variáveis, foi realizado o teste Kruskal-Wallis. Para as análises que compreendiam a comparação de frequência de ocorrência (%) foi realizado o teste *qui-quadrado* (χ^2). Quando necessário, realizou-se o *post-hoc* de Bonferroni.

1) Para se verificar os efeitos do programa multimodal de exercícios físicos com relação à condição cognitiva (CCL x cognitivamente preservados) foi realizada uma Análise Múltipla de Variância (ANOVA 4X2), considerando-se como variáveis de entrada os 4 “grupos” e os “momentos” (pré e pós-treinamento).

2) Para se verificar os efeitos do programa multimodal de exercícios físicos com relação ao genótipo da APOE (carreadores do alelo $\epsilon 4$) foram realizadas comparações nos momentos pré e pós-programa multimodal de exercícios físicos por meio do teste de *Wilcoxon*. Devido às diferenças no número de participantes carreadores e não-carreadores do alelo $\epsilon 4$ da APOE em decorrência da baixa incidência deste polimorfismo, foi utilizada estatística não-paramétrica para amostras pareadas.

3) Os coeficientes de correlação de Pearson foram calculados para se verificar o grau de associação entre as variáveis pesquisadas. Também foi realizado um modelo de regressão logística para avaliar a associação de marcadores inflamatórios, prática de exercícios físicos e perfil dislipidêmico com CCL. Foi relatada a probabilidade de ocorrência (*odds ratio* (OR)) e intervalos de confiança (IC 95%). Foram examinados os efeitos dos biomarcadores como uma variável contínua. Para todas as análises foi admitido um nível de significância de 5% ($p < 0,05$). Foram considerados como tendências os resultados cujo nível de significância variou entre 5% e 10% ($0,05 < p < 0,10$).

7. RESULTADOS

Comparar e verificar os efeitos de um programa multimodal de exercícios físicos em idosos com CCL e cognitivamente preservados.

Características da amostra

O estudo envolveu 67 idosos, distribuídos em quatro grupos. A alocação dos participantes foi realizada a partir da distribuição:

- 1) 15 sujeitos cognitivamente preservados que realizaram um programa multimodal de exercícios físicos (**GT_{preservado}**);
- 2) 20 sujeito com CCL que realizaram um programa multimodal de exercícios (**GT_{CCL}**);
- 3) 15 sujeitos cognitivamente preservados que não participaram de nenhum tipo de intervenção motora regular e sistematizada durante um período de no mínimo 12 meses que antecedeu a coleta de dados, bem como durante o período em que a pesquisa foi realizada (**GC_{preservado}**);
- 4) 17 sujeitos com CCL que não participaram de nenhum tipo de intervenção motora regular e sistematizada durante um período de no mínimo 12 meses que antecedeu a coleta de dados, bem como durante o período em que a pesquisa foi realizada (**GC_{CCL}**).

As principais características clínicas e sociodemográficas encontram-se na tabela 2.

Tabela 2. Características clínicas e sociodemográficas no momento pré-treinamento

		GRUPOS TREINAMENTO		GRUPOS CONTROLE		p
		Cognitivamente Preservados	CCL	Cognitivamente Preservados	CCL	
		N=15	N=20	N=15	N=17	
Idade (anos)^a	Média±DP	66,6±7,9	67,3±5,3	68,1±5,7	68,5±5,9	p=0,43
Escolaridade (anos)^a	Média±DP	5,6±3,4	6,6±4,2	7,8±6,2	7,3±4,3	p=0,10
Índice de Massa Corporal^a	Média±DP	25,4±5,8	26,5±4,6	27,2±4,4	27,7±4,9	p=0,38
Nível de Atividade Física (pontos)^b	Mediana (AIQ)	7,2 (3)	7,5 (4)	6,5 (3)	6,5 (4)	p=0,22
IAFG^c		259,3±66,9	262,3±59,9	244,8±72,1	251,7±74,3	p=0,10
%Muito Fraco/Fraco	Frequências	28%	54%	19%	19%	p=0,12
%Regular		36%	27%	44%	45%	
%Bom/Muito Bom		36%	19%	37%	36%	
Gênero^c	Frequências	6/9	7/13	5/10	5/12	p=0,38
Homens/Mulheres						
Diabetes^c	Frequências	2/13	3/17	1/14	2/15	p=0,87
HAS^c	Frequências	4/11	6/14	3/12	6/11	p=0,89
APOE-ε4^c	Frequências	4/11	5/15	3/12	4/13	p=0,21
HDL (mg/dl)^a	Média±DP	47,8±16,8	45,1±15,5	43,7±15,3	44,6±13,7	p=0,63
LDL (mg/dl)^a	Média±DP	105,3±22,6	113,5±32,9	115,8±22,6	118,4±22,0	p=0,47
Triglicerídeos (mg/dl)^a	Média±DP	125,7±30,7	127±28,8	135,9±34,8	130,1±29,2	p=0,27
Glicose (mg/dl)^a	Média±DP	86,5±7,8	90,4±9,8	90,2±11,5	92,7±13,2	p=0,43
MoCA (pontos)^b	Mediana (AIQ)	27 (2)	20 (6)*	27 (3)	21 (6)*	p<0,001
GDS (pontos)^b	Mediana (AIQ)	0,5 (2)	1,5 (2)	1,0 (2)	1,5 (3)	p=0,32
QAI Pfeffer^b	Mediana (AIQ)	0,0 (0)	0,0 (0)	0,0 (0)	0,0 (0)	p=0,96

Legenda: CCL: Comprometimento Cognitivo Leve; IAFG: Índice de Aptidão Funcional Geral; HAS: Hipertensão Arterial Sistólica; HDL: Colesterol de Alta Densidade; LDL: Colesterol de Baixa Densidade; MoCA :Montreal Cognitive Assessment; GDS: Escala de Depressão em Geriatria; QAI: Questionário de Atividades Instrumentais de Pfeffer.

^A=Comparações por meio de ANOVA one-way seguido de *post hoc* de Bonferroni (p<0,05)

^B=Comparações por meio de teste de *Kruskal-Wallis* (estatística não-paramétrica) seguido de *post hoc* de Bonferroni (p<0,05)

^C=Comparações por meio de teste Qui-Quadrado (p<0,05)

O gráfico 2 ilustra a distribuição dos alelos da APOE na amostra total. O gráfico 3 mostra detalhadamente esta distribuição nos grupos de idosos cognitivamente preservados (a) e com comprometimento cognitivo leve (b). Nenhum participante da pesquisa foi identificado como homozigótico para o alelo ϵ 4 da APOE.

Gráfico 2. Distribuição da combinação de alelos do genótipo da APOE na amostra total de idosos avaliados (n=67).

Distribuição Alelica do Genótipo da APOE

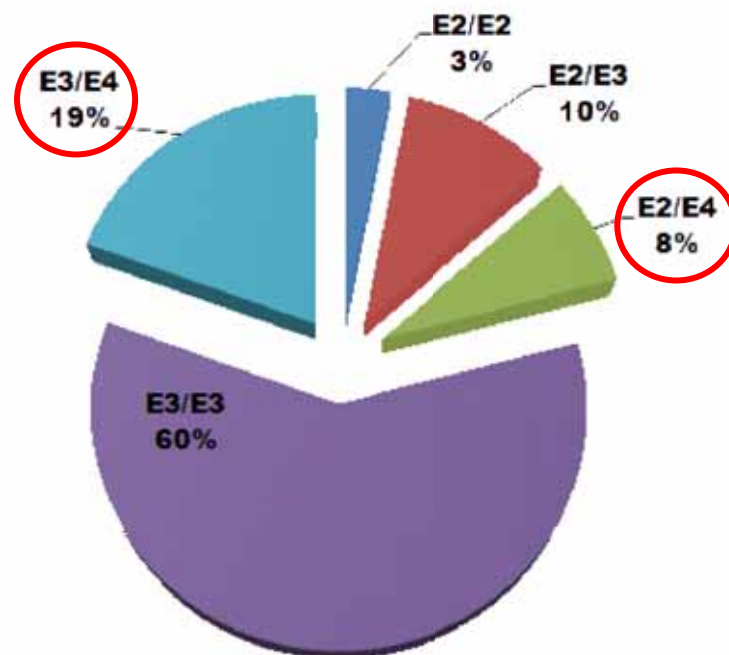
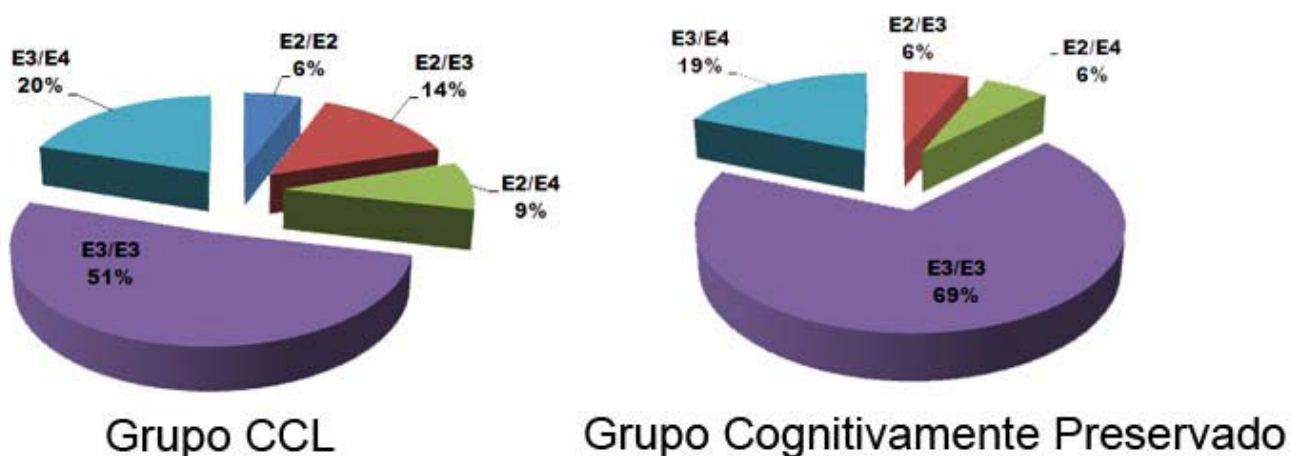


Gráfico 3. Distribuição da combinação de alelos do genótipo da APOE nos grupos de (a) idosos cognitivamente preservados (n=30) e (b) idosos com comprometimento cognitivo leve (n=37):

Genótipo da APOE por grupos



Componentes da Capacidade Funcional

Com relação aos componentes da capacidade funcional, a ANOVA *one-way*, seguida de *post-hoc* de Bonferroni, indicou que os grupos não apresentavam diferenças significativas no momento pré-treinamento ($p > 0.05$). A tabela 3 apresenta os resultados (médias, desvios padrão e significância) da análise estatística pré e pós-treinamento (padronizar: treinamento, exercício, programa, intervenção?), bem como os efeitos de interação entre os momentos (pré e pós-treinamento) e os grupos para a análise multivariada. Observou-se um efeito principal de interação, demonstrando uma melhora dos grupos que realizaram o programa multimodal de exercícios físicos no componente da capacidade funcional resistência aeróbia ($p=0,05$). Os grupos-controle não apresentaram alterações significativas para este componente da capacidade funcional.

Além disso, o Índice de Aptidão Física Geral também apresentou uma melhora significativa para os grupos que realizaram o protocolo multimodal de exercícios físicos proposto ($GT_{\text{preservado}}$ e GT_{CCL}) enquanto houve manutenção deste índice de capacidade funcional geral para os GC (Tabela 3).

A tabela 4 exhibe as classificações de todos os grupos de Treinamento e Controle em relação à sua Aptidão Física Geral baseada nas tabelas de valores normativos de Zago e Gobbi (2003). O teste *qui-quadrado* demonstrou que os idosos que realizaram o protocolo multimodal de exercícios físicos, com e sem CCL, melhoraram seus índices de aptidão funcional geral significativamente quando comparados aos seus pares alocados no Grupo Controle ($\chi^2=10,01$; $p=0,04$). Estes resultados indicam que o protocolo proposto promoveu melhoras significativas nos componentes da capacidade funcional de idosos (Tabela 4).

Tabela 3. Resultados dos dados nos momentos pré e pós-treinamento: médias e desvios-padrão das variáveis motoras (componentes da capacidade funcional).

Medidas			Pré-Treinamento	Pós-Treinamento	Momento	Momento x Grupo
Flexibilidade (centímetros)	GT _{preservado}	Média±DP	52,2±19,7	54,7±15,2	F _{3,55} =0,53; p=0,82	F _{3,55} =0,63; p=0,60
	GT _{CCL}	Média±DP	56,2±12,3	57,2±13,6		
	GC _{preservado}	Média±DP	53,8±11,31	54,0±11,9		
	GC _{CCL}	Média±DP	52,2±17,06	52,9±17,4		
Coordenação (segundos)	GT _{preservado}	Média±DP	12,6±4,0	13,0±3,5	F _{3,55} =0,15; p=0,70	F _{3,55} =0,81; p=0,49
	GT _{CCL}	Média±DP	12,0±2,2	11,7±2,6		
	GC _{preservado}	Média±DP	13,4±3,5	13,2±3,7		
	GC _{CCL}	Média±DP	14,8±3,3	13,5±4,4		
Agilidade (segundos)	GT _{preservado}	Média±DP	24,7±3,2	23,2±2,2	F _{3,55} =0,12; p=0,73	F _{3,55} =0,59; p=0,62
	GT _{CCL}	Média±DP	24,1±2,4	22,8±2,3		
	GC _{preservado}	Média±DP	26,1±6,3	25,9±5,6		
	GC _{CCL}	Média±DP	27,2±3,3	27,13±26,7		
Resistência de Força (nº de repetições)	GT _{preservado}	Mediana (AIQ)	26 (10)	26 (6)	F _{3,55} =0,35; p=0,85	F _{3,55} =1,43; p=0,24
	GT _{CCL}	Mediana (AIQ)	28 (7)	26 (6)		
	GC _{preservado}	Mediana (AIQ)	22 (5)	23 (6)		
	GC _{CCL}	Mediana (AIQ)	23 (9)	22 (8)		
Aptidão Cardiorrespiratória (minutos)	GT _{preservado}	Média±DP	8,37±1,1	7,9±0,99†	F _{3,55} =0,45; p=0,50	F_{3,55}=2,81; p=0,05
	GT _{CCL}	Média±DP	8,14±1,27	7,3±1,4†		
	GC _{preservado}	Média±DP	8,6±2,0	8,8±1,5		
	GC _{CCL}	Média±DP	9,15±1,5	9,7±2,3		
Índice de aptidão Funcional Geral (pontos)	GT _{preservado}	Mediana (AIQ)	280 (149)	311 (148) †	F _{3,55} =0,10; p=0,76	F_{3,55}=3,99; p=0,01
	GT _{CCL}	Mediana (AIQ)	167 (156)	228 (177) †		
	GC _{preservado}	Mediana (AIQ)	281 (98)	288 (167)		
	GC _{CCL}	Mediana (AIQ)	264 (107)	259 (99)		

Legenda: AIQ= Amplitude Interquarti; GT=Grupo treinamento; GT_{CCL}= Grupo treinamento com comprometimento cognitivo leve; GC=Grupo controle; GC_{CCL}= Grupo controle com comprometimento cognitivo leve.

† Valores significativamente menores em comparação com os grupos controle (GC e GC_{CCL}).

Tabela 4. Percentual e Classificação dos resultados do Índice de Aptidão Funcional Geral (IAFG) de idosos praticantes e não praticantes de um programa multimodal de exercícios físicos por um período de 16 semanas.

Classificação segundo IAFG (GOBBI E ZAGO, 2003)	GT _{preservado}		GT _{CCL}		GC _{preservado}		GC _{CCL}	
	Pré	Pós	Pré	Pós	Pré	Pós	Pré	Pós
%Muito Fraco/Fraco	28%	18%	54%	36%	19%	31%	19%	18%
%Regular	36%	27%	27%	36%	44%	19%	45%	64%
%Bom/Muito Bom	36%	55%	19%	28%	37%	50%	36%	18%

Legenda: IAFG: Índice de Aptidão Funcional Geral; GT_{preservado}: Grupo Treinamento cognitivamente preservado; GT_{CCL}: Grupo Treinamento com Comprometimento Cognitivo Leve; GC_{preservado}: Grupo Controle cognitivamente preservado; GC_{CCL}: Grupo Controle com Comprometimento Cognitivo Leve.

Exercício Físico, marcadores inflamatórios e cognição.

Os resultados dos grupos participantes estão apresentados na tabela 5. Uma ANOVA *two-way* e foi realizada para se verificar os efeitos multivariados. Para se identificar especificamente quais grupos apresentaram as alterações observadas nos efeitos de interação, foram realizadas análises univariadas.

Os grupos de indivíduos com comprometimento cognitivo leve apresentaram maiores concentrações periféricas de TNF- α ($F=4,83$; $p=0,02$) e de IL-6 ($F=2,88$; $p=0,04$) quando comparados com os idosos cognitivamente preservados no momento pré-treinamento. Após o período de 16 semanas, ambos os grupos que realizaram o protocolo multimodal de exercícios físicos apresentaram redução significativa nas concentrações periféricas de TNF- α ($F_{3,62}= 4,06$; $p=0,01$) e de IL-6 ($F_{3,62}= 3,31$; $p=0,02$). Os dados referentes às concentrações periféricas das citocinas pró-inflamatórias TNF- α e IL-6 nos períodos pré e pós-treinamento estão apresentados na tabela 5.

Adicionalmente, os sujeitos que realizaram o protocolo multimodal de exercícios físicos também se beneficiaram com reduções significativas nos parâmetros dislipidêmicos. Houve uma redução significativa nas concentrações

de colesterol LDL ($F_{3,62} = 3,41$; $p=0,02$) tanto para o $GT_{\text{preservado}}$ ($115,3 \pm 22,2$ mg/dL para $102,5 \pm 24,6$ mg/dL), quanto para o GT_{CCL} ($113,5 \pm 32,9$ mg/dL para $101,9 \pm 26,9$). Os níveis periféricos de triglicérides totais também apresentaram uma redução significativa ($F_{3,62} = 3,59$; $p=0,02$) para o $GT_{\text{preservado}}$ ($115,7 \pm 30,7$ mg/dL para $107,5 \pm 18,6$ mg/dL) e para o GT_{CCL} ($127,4 \pm 28,8$ mg/dL para $110,2 \pm 24,9$).

Com relação aos parâmetros cognitivos, a melhora estatisticamente significativa foi observada apenas para grupo que apresentava comprometimento cognitivo leve (GT_{CCL}) nos escores do Montreal Cognitive Assessment ($F_{3,62} = 5,21$; $p=0,03$) (tabela 6) . A proporção de pessoas que pontuaram <25 no MoCA (ponto de corte para CCL em idosos brasileiros) diminuiu 20% ($n_{\text{total}}=4$ casos) . O tamanho do efeito encontrado para esta variável foi entre moderado ($ES=0,42$), provavelmente em decorrência do tamanho dos grupos.

Tabela 5. Efeitos de 16 semanas de um programa multimodal de exercícios físicos nas concentrações periféricas das citocinas pró-inflamatórias: Fator de Necrose Tumoral- α e Interleucina-6.

		Pré Treinamento	Pós Treinamento	P
Interleucina-6 (IL-6) ^a † (pg/ml)	GT _{preservado}	1,13±0,2*	1,05±0,2 [‡]	0,01
	GT _{CCL}	1,55±0,3	1,37±0,3 [‡]	
	GC _{preservado}	1,18±0,3*	1,23±0,4	
	GC _{CCL}	1,61±0,4	1,60±0,4	
Fator de Necrose Tumoral (TNF- α) ^a † (pg/ml)	GT _{preservado}	1,37±0,3*	1,29±0,3 [‡]	0,02
	GT _{CCL}	1,74±0,5	1,55±0,5 [‡]	
	GC _{preservado}	1,25±0,2*	1,24±0,2	
	GC _{CCL}	1,81±0,4	1,80±0,5	

Legenda: ^a= valores apresentados por meio de média±desvio-padrão; GT_{preservado}: Grupo Treinamento cognitivamente preservado; GT_{CCL}: Grupo Treinamento com Comprometimento Cognitivo Leve; GC_{preservado}: Grupo Controle cognitivamente preservado; GC_{CCL}: Grupo Controle com Comprometimento Cognitivo Leve.

† Interação estatisticamente significativa ($p < 0,05$) entre os grupos e os momentos pré e pós-intervenção.

* Diferença estatisticamente significativa entre os grupos no momento pré-treinamento;

[‡] Diferença estatisticamente significativa entre os momentos pré e pós-treinamento.

Tabela 6. Efeitos de 16 semanas de um programa multimodal de exercícios físicos nas funções cognitivas e subdomínios do MoCA.

	GRUPO TREINAMENTO				GRUPO CONTROLE			
	CCL		Cognitivamente Preservado		CCL		Cognitivamente Preservado	
	Pré	Pós	Pré	Pós	Pré	Pós	Pré	Pós
Montreal Cognitive Assessment (ponts) ^b †	19 (4)	23 (3)*	26 (3)	26 (5)	21 (6)	20 (8)	27 (5)	26 (6)
Funções Executivas † (máx. 5 pontos)	3 (1)	4 (1)*	5 (1)	5 (1)	4 (1)	3 (1)	5 (1)	5 (1)
Atenção/Concentração † (máx. 6 pontos)	4 (1)	5 (1)*	5 (1)	5 (1)	4 (1)	4 (1)	5 (1)	5 (1)
Nomeação (máx. 3 pontos)	3 (1)	3 (1)	3 (1)	3 (1)	3 (1)	3 (1)	3 (2)	3 (1)
Linguagem (máx. 3 pontos)	2 (1)	2 (1)	3 (1)	3 (1)	2 (1)	2 (1)	3 (1)	3 (1)
Abstração (máx. 2 pontos)	1,5 (0,5)	1,5 (0,5)	2 (1)	2 (1)	1,5 (0,5)	1,5 (0,5)	2 (1)	2 (1)
Memória (máx. 5 pontos)	3 (1)	3 (1)	4 (0,5)	4 (1)	3 (0,5)	3(1)	5 (1)	5 (1)
Orientação (máx. 6 pontos)	5 (1)	5 (1)	5 (1)	5 (1)	5 (1)	5 (1)	5 (1)	5 (1)

Legenda: ^b=valores apresentados por meio de mediana (amplitude interquartil). † Interação estatisticamente significativa ($p < 0,05$) entre os grupos e os momentos pré e pós-intervenção. * Melhora significativa após 16 semanas de intervenção nos domínios de funções executivas ($F_{3,62} = 3,47$; $p = 0,05$) e de atenção/concentração ($F_{3,62} = 5,65$; $p = 0,02$)

Coefficientes de predição do comprometimento cognitivo em idosos.

A tabela 7 mostra os coeficientes de correlação de *Pearson* (valores padronizados por z-score) e seus valores de significância. Para o cálculo do grau de correlação entre as variáveis foi utilizado o valor de Δ (valor pós – valor pré) para se considerar os momentos pré e pós-intervenção. Foram encontradas associações significativas e consistentes entre as variáveis metabólicas e glicêmicas como já era esperado.

Correlações significativas confirmaram a associação de parâmetros metabólicos e glicêmicos nas concentrações de citocinas inflamatórias (TNF- α e IL-6). O grau de dislipidemia foi significativamente associado com estes marcadores de inflamação. De maneira inversa, o colesterol HDL apresentou uma relação negativa, indicando que altos índices desta variável estão associados com menores níveis de inflamação sistêmica.

Com relação ao perfil cognitivo, maiores escores do MoCA demonstraram uma associação significativa, porém fraca ($r=0,262$; $p=0,41$) com os índices de colesterol HDL. Por outro lado, indivíduos com melhor desempenho nas funções cognitivas foram significativamente associados a menores concentrações de marcadores inflamatórios, levando-se em conta tanto os níveis periféricos de TNF- α ($r=0,456$; $p<0.01$), quanto os níveis de IL-6 ($r=0.416$; $p<0.01$).

Tabela 7. Correlações entre as variáveis cognitivas, metabólicas, glicêmicas e marcadores inflamatórios.

	MoCA	HDL Colesterol	LDL Colesterol	Glicemia de Jejum	Triglicérides	TNF- α	IL-6	IAFG Geral
MoCA	1	,262*	,054	-,032	,088	-,456**	-,416**	,003
	Coefficiente de Correlação							
	Valor de significância	,041	,683	,812	,510	,000	,001	,981
HDL Colesterol	1	1	-,785**	-,695**	-,649**	-,623**	,547**	-,048
	Coefficiente de Correlação							
	Valor de significância	,000	,000	,000	,000	,000	,000	,717
LDL Colesterol	1	1	1	,762**	,823**	-,562*	-,439**	,093
	Coefficiente de Correlação							
	Valor de significância	,000	,000	,000	,000	0,03	,000	,484
Glicemia de Jejum	1	1	1	1	,778**	-,639**	,411**	,113
	Coefficiente de Correlação							
	Valor de significância	,000	,000	,000	,000	,000	,000	,395
Triglicérides	1	1	1	1	1	-,570*	,620*	,235
	Coefficiente de Correlação							
	Valor de significância	,023	,042	,074				
TNF- α	1	1	1	1	1	1	,752*	-,011
	Coefficiente de Correlação							
	Valor de significância	,044	,932					
IL-6	1	1	1	1	1	1	1	,065
	Coefficiente de Correlação							
	Valor de significância	,625						

Legenda: TNF- α : Fator de Necrose Tumoral- α ; IL-6: Interleucina-6. *Correlação significativa para $p < 0,05$; **Correlação significativa para $p < 0,01$.

Para a elaboração de um modelo de predição para o comprometimento cognitivo leve, foi desenvolvido um modelo de regressão logística. As variáveis foram selecionadas após a análise grau de associação entre elas. Participaram do processo de seleção de covariáveis para o ajuste do modelo multivariado as seguintes características categóricas: Presença de dislipidemia, genótipo de APOE e participação no programa multimodal de exercícios físicos. Quanto às características quantitativas, foram incluídas no modelo as concentrações periféricas de citocinas inflamatórias (interação dos níveis de TNF- α e IL-6). O modelo de regressão multivariado está apresentado na tabela 8. O grupo de referência é o grupo controle (sem comprometimento cognitivo leve). De acordo com esta tabela 8, verifica-se que a chance de indivíduos com níveis aumentados de IL-6 e TNF- α serem do grupo com CCL é 8 vezes maior que a chance daqueles sem essa característica (IC 95%: 1,98 a 32,5; $p=0.004$). Ainda, nota-se que indivíduos sedentários apresentam aproximadamente 5 vezes mais chances de pertencerem ao grupo com comprometimento cognitivo leve (IC 95%: 1,24 a 24,9; $p=0,02$).

Tabela 8. Modelo de predição de comprometimento cognitivo leve e preditores.

	(B) Estimado	Odds Ratio	p	95% IC
Constante	-2,08	0,124	0,014	1,62 – 20,9
Inflamação	2,08	8,029	0,004	1,97 – 32,5
Prática de atividade física	1,71	5,564	0,025	1,24 – 24,9

Comparar e verificar os efeitos de um programa multimodal de exercícios físicos em idosos carreadores e não carreadores do alelo ϵ 4 da APOE.

A análise de genotipagem dos participantes indicou 10 (28,5%) indivíduos como carreadores do alelo ϵ 4, de um total de 35 que realizaram 16 semanas de um programa multimodal de exercícios físicos. No grupo controle, 8 indivíduos (25%) de um total de 32 foram identificados como carreadores do alelo ϵ 4 da APOE.

A tabela 9 apresenta os resultados para os momentos pré e pós-16 semanas de um programa multimodal de exercícios físicos comparando os grupos com relação a presença do alelo ϵ 4 da APOE. Com relação ao índice de aptidão funcional geral, foram encontradas melhoras estatisticamente significativas para os participantes do grupo que realizaram a intervenção proposta independente da presença do alelo ϵ 4 (IAFG; $p=0,02$). Com relação às alterações no perfil metabólico e glicêmico não foram encontradas melhoras significativas em nenhum dos índices para indivíduos carreadores do alelo ϵ 4 da APOE. Idosos que realizaram as 16 semanas de um protocolo multimodal de exercícios físicos e que não possuíam nenhum alelo ϵ 4 da APOE melhoraram em todos os índices metabólicos (tabela 9).

As análises das concentrações periféricas de marcadores inflamatórios não demonstraram diferenças significativas entre indivíduos carreadores do alelo ϵ 4 da APOE no momento pré-treinamento quando comparados com indivíduos não carreadores deste polimorfismo. As análises multivariadas indicaram que houve uma redução estatisticamente significativa para os marcadores TNF- α ($F_{3,62}=4,06$; $p=0,01$) e IL-6 ($F_{3,62}=3,31$; $p=0,03$) nos grupos que realizaram 16 semanas de um protocolo multimodal de exercícios físicos, enquanto que indivíduos que mantiveram suas atividades sem a prática regular de exercícios físicos não apresentaram nenhuma alteração significativa. Os gráficos 4a e 4b ilustram o comportamento desta variável para cada um dos grupos analisados durante os momentos pré e pós-16 semanas de um programa multimodal de exercícios físicos.

Com relação às funções cognitivas houve melhora estatisticamente significativa apenas na pontuação do MoCA de indivíduos não-carreadores do alelo $\epsilon 4$ da APOE ($p=0,004$). Tais modificações foram pronunciadas nos subdomínios de funções executivas ($p=0,03$) e memória ($0,03$). No subdomínio de atenção/concentração foi observada uma melhora marginalmente significativa ($p=0,06$). Para os demais indivíduos que participaram da pesquisa nenhuma alteração significativa no *screening* cognitivo global e nos subdomínios foram observadas. A pontuação das funções cognitivas dos grupos participantes estão apresentadas no gráfico 5.

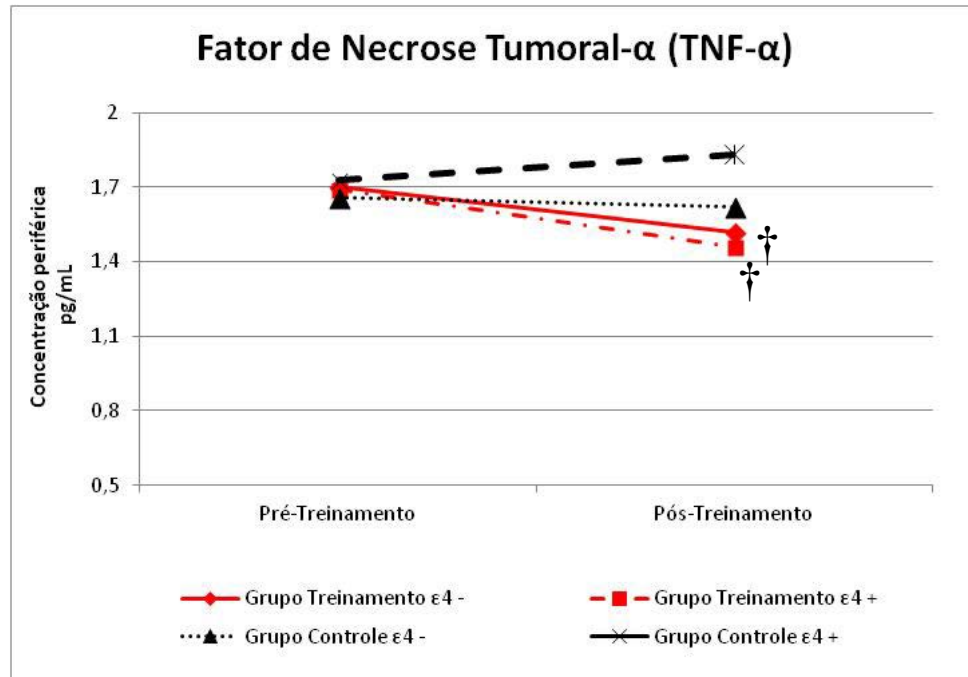
Tabela 9. Efeitos de 16 semanas de um programa multimodal de exercícios físicos nas variáveis dislipidêmicas, glicêmicas e aptidão física funcional geral com relação à presença do alelo $\epsilon 4$ da APOE.

		Pré Treinamento	Pós Treinamento	<i>p</i>
HDL colesterol (mg/dL)	GT $\epsilon 4$ -	50,7 (30,7)	54,5 (25,5)	0,01†
	GT $\epsilon 4$ +	42,4 (20,5)	44,7 (21,3)	0,17
	GC $\epsilon 4$ -	41,7 (19)	44,808	0,28
	GC $\epsilon 4$ +	43,1 (19)	42,7 (22)	0,41
LDL colesterol (mg/dL)	GT$\epsilon 4$ -	98,7 (29)	100,4 (30)	0,07†
	GT $\epsilon 4$ +	110,5 (26)	113,8 (26)	0,54
	GC $\epsilon 4$ -	122 (30)	125,5 (32)	0,08
	GC $\epsilon 4$ +	112,9 (30)	115,7 (32)	0,10
Triglicerídeos (mg/dL)	GT$\epsilon 4$ -	110 (37)	101,15 (10)	0,01†
	GT $\epsilon 4$ +	119,8 (26)	112,5 (30,6)	0,44
	GC $\epsilon 4$ -	138 (50)	135 (75,1)	0,92
	GC $\epsilon 4$ +	127 (54)	132 (53)	0,32
Glicemia de Jejum (mg/dL)	GT$\epsilon 4$ -	86 (11)	81,1 (14)	0,01†
	GT $\epsilon 4$ +	88,8 (14)	89 (10)	0,44
	GC $\epsilon 4$ -	90,7 (13)	90,4 (17)	0,25
	GC $\epsilon 4$ +	88,7 (16)	90,3 (14)	0,67
IAFG (pontos)	GT$\epsilon 4$ -	275,5 (190)	311 (187)	0,02†
	GT $\epsilon 4$ +	222,3 (120)	293,80	0,03†
	GC $\epsilon 4$ -	279 (96)	264 (134)	0,09
	GC $\epsilon 4$ +	268 (157)	289 (185)	0,67

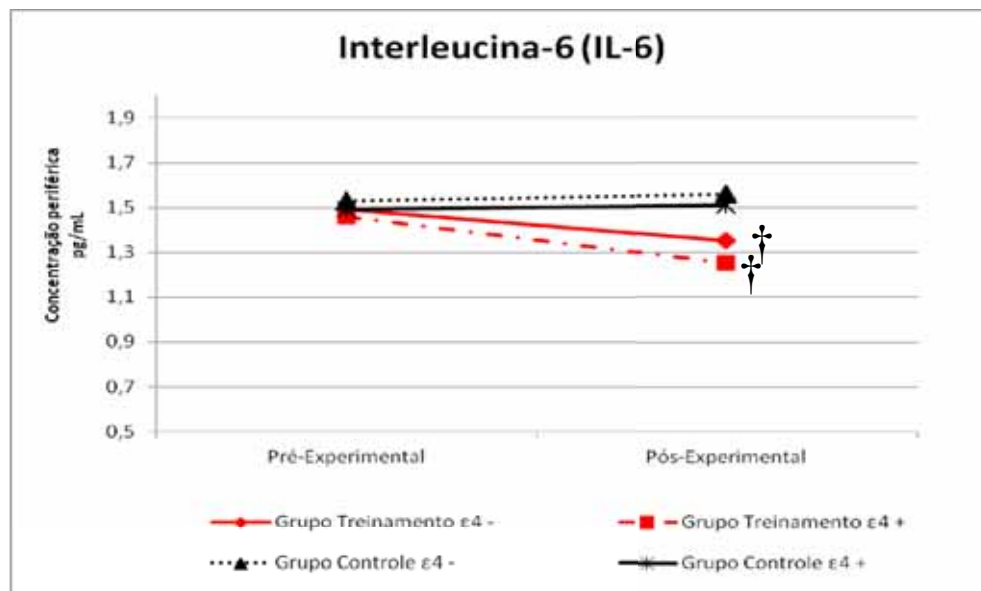
Valores apresentados por meio de mediana (amplitude interquartil). † Diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) entre os momentos pré e pós-treinamento para o teste de *Wilcoxon*.

Gráfico 4. Concentrações séricas de Fator de Necrose Tumoral- α (a) e Interleucina-6 (b) pré e pós 16 semanas de um programa multimodal de exercícios físicos em indivíduos carreadores e não-carreadores do alelo $\epsilon 4$ da APOE.

(a)



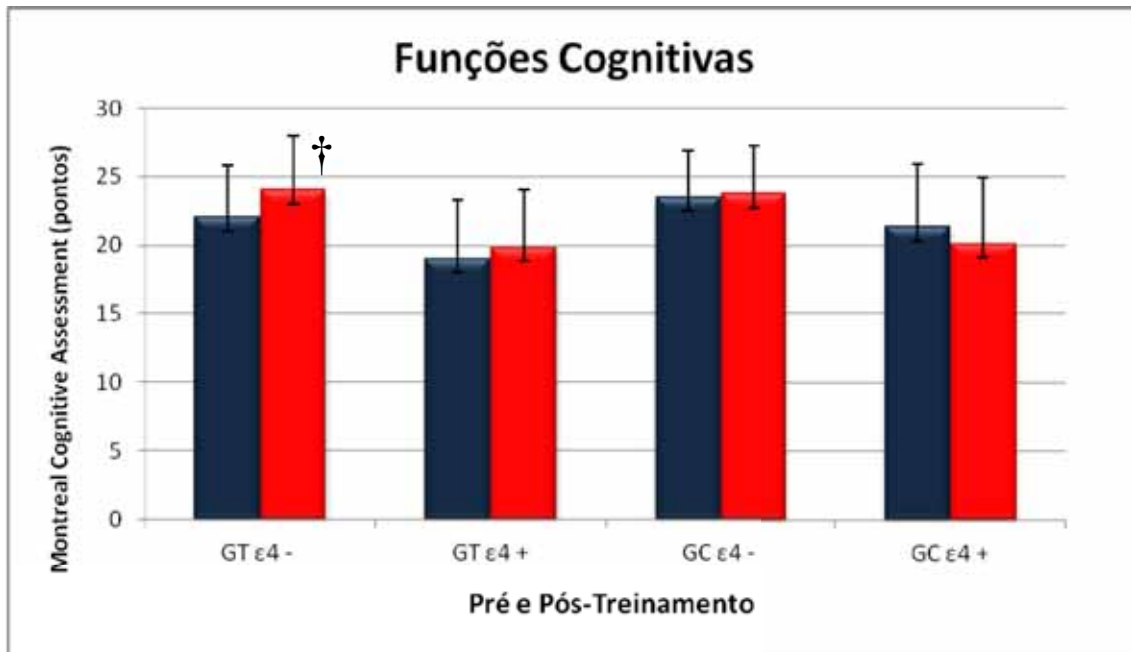
(b)



Legenda: $\epsilon 4^+$: carreadores do alelo $\epsilon 4$; $\epsilon 4^-$: não carreadores do alelo $\epsilon 4$

†Redução estatisticamente significativa entre os momentos pré e pós-treinamento para as concentrações de (a) Fator de Necrose Tumoral- α ($F_{3,62}=4,06$; $p=0,01$) e (b) Interleucina-6 ($F_{3,62}=3,31$; $p=0,03$) para os grupos treinamento.

Gráfico 5. Pontuação média pré e pós-treinamento para funções cognitivas (MoCA) de indivíduos que realizaram e que não realizaram 16 semanas de um programa multimodal de exercícios físicos com relação à presença do alelo $\epsilon 4$ da APOE



Nota: †Melhora estatisticamente significativa entre os momentos pré e pós-intervenção ($Z = -2,854$; $p = 0,004$) na pontuação do Montreal Cognitive Assessment para o grupo treinamento carreador do alelo $\epsilon 4$ da APOE.

8. DISCUSSÃO

Constatou-se um efeito benéfico propiciado por um programa multimodal de exercícios físicos na redução das concentrações periféricas de marcadores inflamatórios de indivíduos com CCL. Indivíduos carreadores e não-carreadores de apenas um alelo $\epsilon 4$ da APOE foram beneficiados com reduções significativas nos níveis periféricos de TNF- α e IL-6.. Adicionalmente, indivíduos com CCL apresentaram melhora significativa nas funções cognitivas após 16 semanas de treinamento. Além disso, também foram observadas reduções significativas no perfil dislipidêmico de indivíduos que realizaram o protocolo multimodal de exercícios físicos.

Um importante ganho foi a realização de um estudo prospectivo com intervenção de 16 semanas que atendia às recomendações (treinamento multimodal, 180 minutos semanais distribuídos em 3 sessões, realizadas em dias não consecutivos) em nossa amostra. O treinamento proposto buscou atender aos padrões recomendados nas diretrizes para indivíduos idosos (CHODZKO-ZAJKO *et al.*, 2009). Grande parte dos estudos que buscaram investigar os efeitos do exercício sobre variáveis bioquímicas e cognitivas basearam-se em exercícios contínuos e aeróbios (LAUTENSCHLAGER *et al.*, 2010; ERICKSON *et al.*, 2012). Um treinamento multimodal não restringe os benefícios apenas a algum componente específico da capacidade funcional. Os resultados demonstram que os benefícios além de mais abrangentes para o desempenho físico, promoveram a redução da inflamação crônica sistêmica de baixo-grau. Além disso, nossos resultados demonstraram reflexos positivos nas esferas cognitiva e metabólica, independentes da condição cognitiva dos indivíduos avaliados.

Interessantemente, foram observadas melhoras significativas específicas no desempenho dos participantes que participaram do protocolo multimodal de exercícios físicos para a aptidão cardiorrespiratória. A planificação do treinamento envolvia o trabalho deste componente em todas as sessões de treinamento com variações de intensidade e volume entre as sessões. A

resistência aeróbia vem sendo demonstrada como um componente essencial em programas de prevenção e tratamento de déficits cognitivos (COLCOMBE *et al.*, 2003; LAUTENSCHLAGER *et al.*, 2010; LAUTENSCHLAGER *et al.*, 2013).

As funções cognitivas representam uma variável com alto grau de complexidade para a análise. Em nossos resultados, não foi possível realizar a separação dos grupos por tipo de CCL (amnésico e não amnésico). Uma maneira de minimizar os fatores extrínsecos e socioculturais que pudessem influenciar os resultados dos testes foi a padronização de notas de corte de acordo com os critérios de validação específicos para o *Montreal Cognitive Assessment* (MEMORIA *et al.*, 2013). Apesar destas limitações, é importante ressaltar que o MoCA é um teste mundialmente reconhecido e largamente utilizado tanto na prática clínica, quanto em ambiente de investigação científica por apresentar adequados valores de sensibilidade, validade e confiabilidade, inclusive para a população de idosos brasileiros (MEMORIA *et al.*, 2013).

Os mecanismos que delineiam as mudanças observadas no desempenho cognitivo em resposta ao exercício físico ainda permanecem inconclusivos. Diversos fatores parecem estar envolvidos neste processo, dentre os quais se destacam os mecanismos resultantes da via inflamatória. As citocinas inflamatórias já vêm sendo consideradas uma das principais vias de degeneração neuronal (SONG *et al.*, 2009). Os mecanismos envolvem uma complexa cascata, na qual interagem marcadores bioquímicos, metabólicos e gênicos. A ativação desta cascata contribui para neuroinflamação e, conseqüentemente acelera o processo degenerativo.

Neste sentido, nosso estudo também buscou investigar as possíveis respostas nos níveis de marcadores dislipidêmicos, glicêmicos e inflamatórios ao exercício. A inflamação crônica sistêmica já foi previamente relacionada a fatores de risco metabólicos (AHLUWALIA *et al.*, 2013), doenças cardiovasculares (SANDOO *et al.*, 2012), obesidade (ELLIS *et al.*, 2013) e resistência à insulina (BENDING *et al.*, 2012). Os mecanismos patogênicos comuns às doenças crônicas ligadas ao metabolismo lipídico e glicêmico e sua associação com o risco de processos neurodegenerativos, tais como o estresse oxidativo e superativação das cascatas inflamatórias, sugerem uma

relação causal entre estes fatores. Neste caso, a identificação de fatores de risco modificáveis para a demência torna-se uma importante ferramenta que pode auxiliar no diagnóstico precoce.

Por outro lado, os mecanismos que envolvem a inibição da produção de citocinas pró-inflamatórias e a consequente redução dos danos degenerativos causados pela superativação das células da glia por meio do exercício ainda permanecem inconclusivos (FOSTER *et al.*, 2011; KOHMAN, 2012). Uma possível explicação para esta via está relacionada aos efeitos sistêmicos da contração muscular. A contração muscular promove a liberação de quantidades significativas de citocinas e quimiocinas (FEBBRAIO *et al.*, 2005). Estas substâncias promovem a superativação do sistema imunológico. Uma das citocinas liberadas durante esse processo é a IL-6. Estudos *in vitro* prévios demonstraram que a IL-6 exerce efeitos inibitórios na produção tanto de TNF- α , quanto de outros fatores pró-inflamatórios (PEDERSEN *et al.*, 2005). A citocina IL-6 inibe a produção de TNF- α em monócitos humanos, indicando que IL-6 circulante pode estar envolvida na regulação da inflamação crônica sistêmica de baixo-grau. A inflamação crônica de baixo-grau ocorre frequentemente em indivíduos idosos por meio da superativação do sistema imunológico inato e o subsequente estabelecimento de um estado inflamatório crônico com um aumento da expressão de citocinas pró-inflamatórias (NAVARRETE-REYES *et al.*, 2009). Ainda, a IL-6 estimula a liberação de receptores solúveis de TNF- α e parece ser indutor primário de diversas proteínas com propriedades anti-inflamatórias (PEDERSEN *et al.*, 2003). Além disso, níveis elevados de adrenalina e cortisol também foram associados a uma inibição da produção de TNF- α (HANDSCHIN *et al.*, 2008). Porém, ainda não foi esclarecido o mecanismo pelo qual isso ocorre. Isso sugere que outra possível via de neutralização de citocinas pró-inflamatórias pode estar envolvida nas respostas ao exercício físico por ter efeitos imunomoduladores (BARRIENTOS *et al.*, 2011).

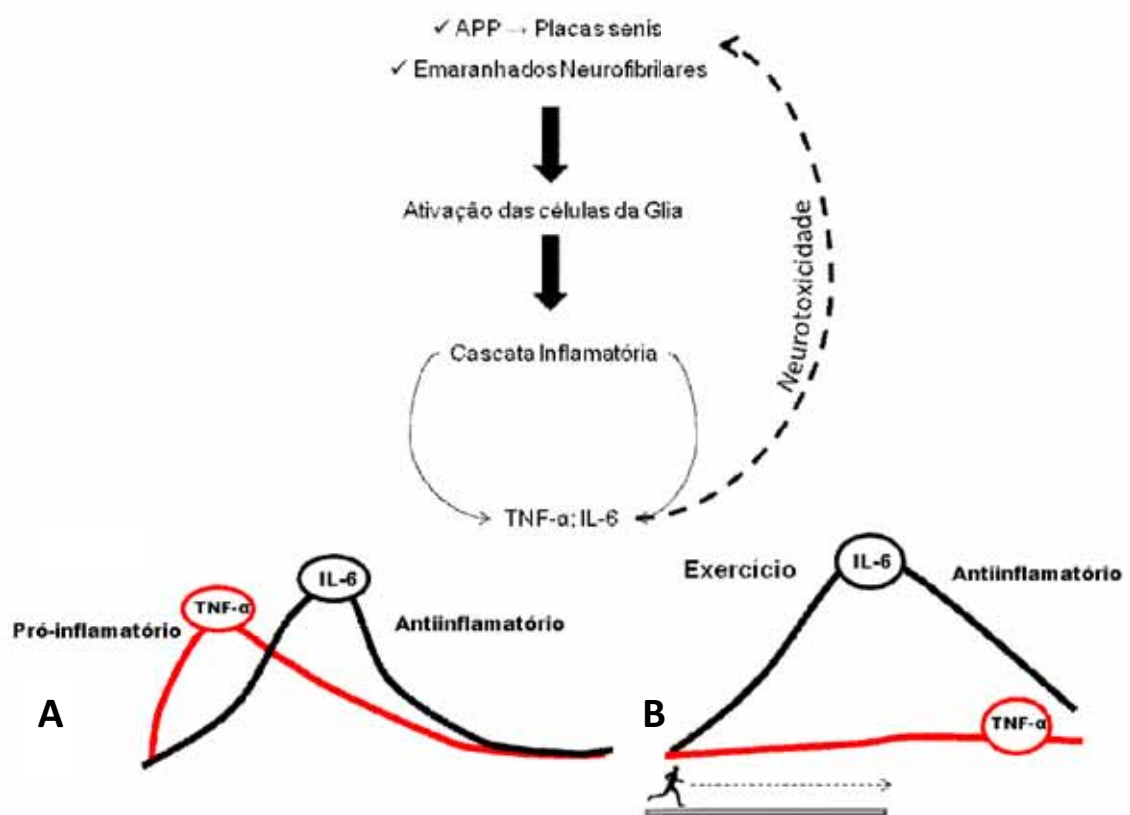
Nosso estudo observou uma redução significativa nas concentrações periféricas tanto de TNF- α , quanto de IL-6 após 16 semanas de prática regular de exercícios físicos. Estes achados corroboram com outros resultados que suportam que a prática regular de exercícios físicos pode auxiliar na redução

do estado de inflamação crônica sistêmica em indivíduos idosos. Esta redução é marcada pela diminuição significativa nas concentrações periféricas de marcadores inflamatórios, como o TNF- α e IL-6 (PEDERSEN *et al.*, 2003; PETERSEN *et al.*, 2005; NICKLAS *et al.*, 2009; PEDERSEN, 2011; GOMES DA SILVA *et al.*, 2013). Isto ocorre, provavelmente, porque a IL-6 é uma citocina com ação tanto pré, quanto pró-inflamatória (TILG *et al.*, 1997). Neste caso, os níveis plasmáticos de IL-6 aumentam de maneira exponencial durante a prática de exercícios físicos e imediatamente após cessar a atividade, os níveis tendem a ser reduzidos aos níveis basais (PEDERSEN *et al.*, 2003). Assim, altas concentrações de IL-6 em repouso, são associadas à situação de sepsis e, portanto, ao papel pró-inflamatório desta citocina. Portanto, altas concentrações desta citocina em repouso, podem representar um desencadeador de neurotoxicidade, semelhante ao processo inflamatório de um processo neurodegenerativo.

O TNF- α e a IL-6 são citocinas com funções biológicas importantes porque participam de reações do sistema imunológico, possuem papel marcado no metabolismo lipídico, podem alterar o funcionamento do sistema endócrino, e refletem o processo neurodegenerativo no SNC (BRUUNSGAARD, 2006). O TNF- α é considerado um fator de risco para diversas doenças crônicas por sua ligação direta com o sistema cardiovascular, vias metabólicas/catabólicas, e efeitos neurotóxicos. Com relação a IL-6, a análise de seu papel biológico deve levar em conta sua ação pró-inflamatória. Por outro lado, também devem ser consideradas suas propriedades anti-inflamatória, que estimula a liberação de outras interleucinas anti-inflamatórias. Esta função auxilia a neutralizar os efeitos de citocinas liberadas pela superativação do sistema imunológico.

A figura 04 demonstra a relação entre o balanço na produção das citocinas TNF- α e IL-6 em duas situações: a) na ativação do sistema imunológico em combate a possíveis antígenos e; b) papel do exercício na modulação dos níveis destas citocinas por meio da liberação de fatores antiinflamatórios.

Figura 4. Alterações do processo neurodegenerativo estimulam a superativação da cascata inflamatória. O gráfico A demonstra o aumento na liberação de citocinas pró-inflamatórias, a partir da ação das células da glia. Estas citocinas estimulam a ação de macrófagos que intensificam o processo degenerativo já estabelecido. O gráfico B demonstra a ação do exercício físico estimulando a sinalização para uma resposta anti-inflamatória, que auxilia na redução da ação pró-inflamatória das citocinas presentes na circulação periférica.



No presente estudo, os coeficientes de correlação demonstraram associações importantes entre as concentrações periféricas de TNF- α e IL-6 e as funções cognitivas medidas por meio do MoCA, bem como destas concentrações com marcadores dos metabolismos dislipidêmico e glicêmico.

O modelo multivariado demonstrou que a interação de algumas variáveis investigadas possui um papel significativo como preditores de CCL. A

razão de risco (*odds ratio*) para indivíduos idosos apresentarem CCL demonstrou ser oito vezes maior naqueles com concentrações mais altas de TNF- α e IL-6. Este modelo indicou que a prática regular de exercícios físicos parece ser um fator importante para a proteção contra declínios cognitivos, uma vez que indivíduos sedentários apresentaram até cinco vezes mais chances de pertencerem ao grupo com CCL.

Com relação à presença do alelo $\epsilon 4$ da APOE, não foram identificadas diferenças significativas entre os grupos no período pré-treinamento. O alelo $\epsilon 4$ é um dos fatores de risco conhecidos para o desenvolvimento da doença de Alzheimer. Existem evidências de que a presença do alelo $\epsilon 4$ *per se* pode ser associada a um pior desempenho cognitivo (VERGHESE *et al.*, 2011). Do ponto de vista histopatológico, a APOE está diretamente envolvida no transporte de lipídeos, inclusive o colesterol (PFRIEGER, 2003). Estes lipídeos são fundamentais na formação de membranas celulares e outros compostos lipoproteicos que podem ser necessários para a manutenção e neuroplasticidade. Além disso, algumas evidências demonstram que indivíduos carreadores do alelo $\epsilon 4$ apresentam um favorecimento à formação de placas senis e emaranhados neurofibrilares (RABER *et al.*, 2004). Entretanto a presença deste polimorfismo da APOE não pode ser considerada condição determinante para o estabelecimento de quadros demenciais, o que suscita discussão acerca da existência de um fenótipo absoluto associado ao alelo (GREENWOOD, 2003) ou da possibilidade de um evento gatilho para os processos patológicos a ele relacionados (LAWS *et al.*, 2003), uma vez que grande parte dos quadros de CCL tende a evoluir para demências ao longo do tempo. Nossa hipótese inicial era de que indivíduos carreadores do alelo $\epsilon 4$ da APOE pudessem apresentar concentrações mais elevadas de IL-6 e TNF- α . Além disso, também se acreditava que a presença deste alelo e de altas concentrações de IL-6 e TNF- α pudessem atuar como preditores do CCL em nossa amostra. Entretanto, nosso estudo não encontrou diferenças significativas no momento pré-treinamento entre indivíduos carreadores de um único alelo $\epsilon 4$ da APOE e não-carreadores deste polimorfismo com relação às concentrações de TNF- α e IL-6.

Analisando-se os efeitos de um programa multimodal de exercícios físicos sobre as funções físicas, foram observadas melhoras significativas, independente da condição gênica. Ambos os grupos que realizaram o protocolo multimodal de exercícios físicos apresentaram melhoras no índice de aptidão funcional geral. Portanto, a intensidade de esforço que o treinamento foi realizado proporcionava adaptações fisiológicas ao treinamento do ponto de vista físico. Quando analisados separadamente cada componente da capacidade funcional, melhoras significativas foram observadas nos índices para a aptidão cardiorrespiratória. Etnier et al. (ETNIER *et al.*, 2007) em um estudo de metanálise, observaram que indivíduos carreadores do alelo $\epsilon 4$ da APOE com melhores desempenhos na aptidão aeróbia apresentam um melhor desempenho cognitivo.

A hipercolesterolemia e a DA compartilham a inflamação como uma característica fisiopatológica comum. Níveis periféricos elevados de colesterol induzem a alterações vasculares que resultam em aumento da circulação de citocinas pró-inflamatórias (XUE *et al.*, 2007). Uma associação entre alterações dislipidêmicas e uma resposta exacerbada neuroinflamatória pode resultar em um maior acúmulo de proteína β -amilóide, acelerando o processo degenerativo da DA. Um estudo experimental recentemente demonstrou que a hipercolesterolemia acelera a formação de placas senis e favorece a hiperfosforilação da proteína tau e a ativação das células da glia, gerando neuroinflamação (PARK *et al.*, 2013). Estas alterações resultaram em maiores comprometimentos de memória. Portanto, intervenções que promovam melhoras nos índices de alterações metabólicas podem ser uma importante alternativa para auxiliar na prevenção da DA.

Com relação às concentrações séricas de citocinas pró-inflamatórias, houve uma redução significativa nas concentrações de TNF- α e IL-6 de indivíduos que realizaram 16 semanas de exercícios físicos. A presença do alelo $\epsilon 4$ não foi suficiente para modular os efeitos do exercício sobre a produção de citocinas pró-inflamatórias. Recentemente, Lima et al (2013) demonstraram que a ativação do sistema imunológico possui uma associação consistente com a redução do risco de CCL, apenas em indivíduos muito

idosos não-carreadores do alelo $\epsilon 4$. Estes resultados demonstram que no envelhecimento cognitivo não-patológico, a ativação do sistema imunológico parece ser benéfica na prevenção do processo neurodegenerativo (SILVERMAN *et al.*, 2012). No entanto, em indivíduos de meia-idade e idosos, carreadores do alelo $\epsilon 4$, os níveis aumentados de citocinas pró-inflamatórias podem predizer o risco de demência.

Altas concentrações de marcadores da atividade inflamatória foram previamente observados em carreadores do alelo $\epsilon 4$ da APOE em comparação com indivíduos não-carreadores. O gene da APOE contém sítios específicos para fatores de transcrição de respostas inflamatórias (LAHIRI *et al.*, 2004) que auxiliam na regulação, tanto da expressão das APOE, quanto de citocinas pró-inflamatórias (FINCH *et al.*, 2007; GAFENCU *et al.*, 2007). Por tanto, sugere-se que o genótipo da APOE possa ter um papel importante na regulação da produção de citocinas pró-inflamatórias. Em modelos experimentais carreadores do alelo $\epsilon 4$ da APOE, foram observados níveis significativamente mais elevados periféricos e centrais das citocinas pró-inflamatórias TNF- α e IL - 6 em comparação com os homólogos não-carreadores (LYNCH *et al.*, 2003). As análises subsequentes confirmaram uma associação dependente da dose do alelo $\epsilon 4$ da APOE com uma resposta imune inata (VITEK *et al.*, 2009) e neurotoxicidade induzida por citocinas (MAEZAWA *et al.*, 2006) . Estes dados sugerem que o alelo $\epsilon 4$ da APOE pode ter um efeito pró-inflamatório ou uma função anti-inflamatória menos eficaz que pode exacerbar uma resposta degenerativa no sistema nervoso central. Assim, o papel do polimorfismo da APOE na inflamação associada com o processo neurodegenerativo requer uma investigação mais aprofundada sobre vias inflamatórias específicas. Em nosso estudo, apenas um alelo $\epsilon 4$ não favoreceu o risco para aumentar as concentrações periféricas citocinas inflamatórias. Além disso, a presença deste polimorfismo não prejudicou os efeitos anti-inflamatórios do exercício físico.

O papel anti-inflamatório do exercício físico já foi previamente estabelecido. De maneira geral, o exercício está envolvido em vias imunossupressoras, principalmente em resposta ao aumento da secreção de glicocorticoides, como o cortisol, que age reduzindo a ação pró-inflamatória

(PETROVSKY *et al.*, 1998). Além disso, a prática regular de atividade física também foi previamente associada a alterações positivas no perfil lipídico, reduzindo danos teciduais que, frequentemente, resultam na ativação de um maior estado inflamatório (STAPLETON *et al.*, 2010). O produto da oxidação do colesterol de baixa densidade gera danos teciduais que aumentam a excitotoxicidade e resultam em neuroinflamação (MA *et al.*, 2010). Adicionalmente, o exercício físico promove benefícios relacionados com a via degenerativa da DA. Desta maneira, pode-se esperar uma redução da ativação das células da glia e, conseqüentemente, os níveis de citocinas pró-inflamatórias poderão ser reduzidos na circulação periférica (PETERSEN *et al.*, 2005). Portanto, o exercício estimularia diversas vias que podem promover a redução do processo neurodegenerativo (BARRIENTOS, 2011).

Tem-se observado que a demência é frequentemente precedida por aumentos nas concentrações periféricas de citocinas pró-inflamatórias (HOLMES *et al.*, 2003). Portanto nossos resultados indicam que a prática regular de exercícios físicos pode ser um possível mecanismo para a proteção. Dependendo da etiologia do declínio cognitivo, o exercício físico pode exercer efeitos benéficos por meio de mecanismos muito diferentes. Mesmo em um período de tempo relativamente curto (16 semanas) e em intensidade moderada, um programa multimodal de exercícios físico demonstrou efeitos positivos sobre as respostas neuroinflamatórias, corroborando investigações experimentais prévias (PEDERSEN *et al.*, 2003; BARRIENTOS, 2011; BARRIENTOS *et al.*, 2011; PEDERSEN, 2011).

Nosso estudo apresentou algumas limitações metodológicas. O recrutamento de idosos ocorreu por conveniência. A baixa adesão a um programa de exercícios por um período de 16 semanas limitou a randomização da amostra. Também não foi possível realizar a distinção dos subtipos de CCL (amnésico e não-amnésico). Também não foram controladas as variáveis relacionadas à composição corporal, bem como o estado nutricional dos participantes. Levando-se em conta a interação presente entre ingestão alimentar e acúmulo de adiposidade com marcadores metabólicos, glicêmicos e inflamatórios, o controle destas variáveis eliminaria potenciais vieses e

fortaleceriam a generalização de nossos achados com relação ao papel do exercício físico.

Conquanto possa haver limitações, alguns aspectos positivos nesta investigação podem ser destacados. O poder estatístico dos dados permite um bom suporte para a inferência e generalização dos resultados. Além disso, todas as avaliações foram realizadas por avaliadores que desconheciam a alocação dos participantes em relação aos grupos. Poucos estudos dedicaram-se a investigar os efeitos de um programa de exercícios físicos nas concentrações periféricas de marcadores inflamatórios.

11. CONCLUSÃO

Com base na interpretação dos resultados e, considerando-se que foram realizadas duas análises distintas para nossa amostra, sendo: I) Efeitos do protocolo multimodal de exercícios físicos em idosos com CCL e cognitivamente preservados e; II) Efeitos de um protocolo multimodal de exercícios físicos em idosos com diferentes genótipos da APOE, pode-se concluir :

- I) Os sujeitos que participaram do programa multimodal de exercícios físicos apresentaram reduções significativas dos níveis de IL-6 e TNF- α , independente da condição cognitiva.
- II) Estas reduções nos níveis periféricos de IL-6 e TNF- α . Foram independentes da genotipagem da APOE.
- III) Níveis periféricos de IL-6 e TNF- e prática regular de exercícios físicos foram caracterizados como preditores de CCL.

12. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

(2009). **Alzheimer's Disease International World Alzheimer Report**. London, United Kingdom: King's College'.

ABBAS, A. K. & JANEWAY, C. A., JR. (2000). "Immunology: improving on nature in the twenty-first century." **Cell** 100(1): 129-138.

AGOSTINHO, P., CUNHA, R. A. & OLIVEIRA, C. (2010). "Neuroinflammation, oxidative stress and the pathogenesis of Alzheimer's disease." **Curr Pharm Des** 16(25): 2766-2778.

AHLUWALIA, N., ANDREEVA, V. A., KESSE-GUYOT, E. & HERCBERG, S. (2013). "Dietary patterns, inflammation and the metabolic syndrome." **Diabetes Metab** 39(2): 99-110.

ALBERT, M. S. & BLACKER, D. (2006). "Mild cognitive impairment and dementia." **Annu Rev Clin Psychol** 2: 379-388.

ALBERT, M. S., DEKOSKY, S. T., DICKSON, D., DUBOIS, B., FELDMAN, H. H., FOX, N. C., GAMST, A., HOLTZMAN, D. M., JAGUST, W. J., PETERSEN, R. C., SNYDER, P. J., CARRILLO, M. C., THIES, B. & PHELPS, C. H. (2011). "The diagnosis of mild cognitive impairment due to Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease." **Alzheimers Dement** 7(3): 270-279.

ALLEY, D. E., CRIMMINS, E. M., KARLAMANGLA, A., HU, P. & SEEMAN, T. E. (2008). "Inflammation and rate of cognitive change in high-functioning older adults." **J Gerontol A Biol Sci Med Sci** 63(1): 50-55.

ASSOCIATION, A. P. (2003). **DSM-IV: referência rápida**, ArtMed.

BARRIENTOS, R. M. (2011). "Voluntary exercise as an anti-neuroinflammatory therapeutic." **Brain Behav Immun** 25(6): 1061-1062.

BARRIENTOS, R. M., FRANK, M. G., CRYSDALE, N. Y., CHAPMAN, T. R., AHRENDSEN, J. T., DAY, H. E., CAMPEAU, S., WATKINS, L. R., PATTERSON, S. L. & MAIER, S. F. (2011). "Little exercise, big effects: reversing aging and infection-induced memory deficits, and underlying processes." **J Neurosci** 31(32): 11578-11586.

BENDING, D., ZACCONE, P. & COOKE, A. (2012). "Inflammation and type one diabetes." **Int Immunol** 24(6): 339-346.

BOTTINO, C. M., ZEVALLOS-BUSTAMANTE, S. E., LOPES, M. A., AZEVEDO, D., HOTOTIAN, S. R., JACOB-FILHO, W. & LITVOC, J. (2009). "Combined instruments for the screening of dementia in older people with low education." **Arq Neuropsiquiatr** 67(2A): 185-190.

BOYLES, J. K., PITAS, R. E., WILSON, E., MAHLEY, R. W. & TAYLOR, J. M. (1985). "Apolipoprotein E associated with astrocytic glia of the central nervous system and with nonmyelinating glia of the peripheral nervous system." **J Clin Invest** 76(4): 1501-1513.

BRAYNE, C., GILL, C., PAYKEL, E. S., HUPPERT, F. & O'CONNOR, D. W. (1995). "Cognitive decline in an elderly population--a two wave study of change." **Psychol Med** 25(4): 673-683.

- BRUUNSGAARD, H. (2006). "The clinical impact of systemic low-level inflammation in elderly populations. With special reference to cardiovascular disease, dementia and mortality." **Dan Med Bull** 53(3): 285-309.
- BRUUNSGAARD, H. & PEDERSEN, B. K. (2003). "Age-related inflammatory cytokines and disease." **Immunol Allergy Clin North Am** 23: 15-39.
- CANDORE, G., BALISTRERI, C. R., COLONNA-ROMANO, G., LIO, D. & CARUSO, C. (2004). "Major histocompatibility complex and sporadic Alzheimer's disease: a critical reappraisal." **Exp Gerontol** 39(4): 645-652.
- CANDORE, G., LIO, D., COLONNA ROMANO, G. & CARUSO, C. (2002). "Pathogenesis of autoimmune diseases associated with 8.1 ancestral haplotype: effect of multiple gene interactions." **Autoimmun Rev** 1(1-2): 29-35.
- CESARI, M., PENNINX, B. W., PAHOR, M., LAURETANI, F., CORSI, A. M., RHYS WILLIAMS, G., GURALNIK, J. M. & FERRUCCI, L. (2004). "Inflammatory markers and physical performance in older persons: the InCHIANTI study." **J Gerontol A Biol Sci Med Sci** 59(3): 242-248.
- CLARK, B. A. (1989). "Tests for fitness in older adults: AAHPERD Fitness Task Force." **Journal of Physical Education Recreation and Dance** 60(3): 66-71.
- COLANGELO, V., SCHURR, J., BALL, M. J., PELAEZ, R. P., BAZAN, N. G. & LUKIW, W. J. (2002). "Gene expression profiling of 12633 genes in Alzheimer hippocampal CA1: transcription and neurotrophic factor down-regulation and up-regulation of apoptotic and pro-inflammatory signaling." **J Neurosci Res** 70(3): 462-473.
- COLCOMBE, S. & KRAMER, A. F. (2003). "Fitness effects on the cognitive function of older adults: a meta-analytic study." **Psychol Sci** 14(2): 125-130.
- CORDER, E. H., LANNFELT, L., BOGDANOVIC, N., FRATIGLIONI, L. & MORI, H. (1998). "The role of APOE polymorphisms in late-onset dementias." **Cell Mol Life Sci** 54(9): 928-934.
- CORDER, E. H., SAUNDERS, A. M., STRITTMATTER, W. J., SCHMECHEL, D. E., GASKELL, P. C., SMALL, G. W., ROSES, A. D., HAINES, J. L. & PERICAK-VANCE, M. A. (1993). "Gene dose of apolipoprotein E type 4 allele and the risk of Alzheimer's disease in late onset families. ." **Science** 261: 921-923.
- CZYZEWSKI, K., PFEFFER, A. & BARCIKOWSKA, M. (1998). "[Apolipoprotein E function in the nervous system." **Neurol Neurochir Pol** 32: 125-132.
- CHODZKO-ZAJKO, W. J., PROCTOR, D. N., FIATARONE SINGH, M. A., MINSON, C. T., NIGG, C. R., SALEM, G. J. & SKINNER, J. S. (2009). "American College of Sports Medicine position stand. Exercise and physical activity for older adults." **Med Sci Sports Exerc** 41(7): 1510-1530.
- DEENY, S. P., POEPEL, D., ZIMMERMAN, J. B., ROTH, S. M., BRANDAUER, J., WITKOWSKI, S., HEARN, J. W., LUDLOW, A. T., CONTRERAS-VIDAL, J. L., BRANDT, J. & HATFIELD, B. D. (2008). "Exercise, APOE, and working memory: MEG and behavioral evidence for benefit of exercise in epsilon4 carriers." **Biol Psychol** 78(2): 179-187.
- DI BONA, D., CANDORE, G., FRANCESCHI, C., LICASTRO, F., COLONNA-ROMANO, G., CAMMA, C., LIO, D. & CARUSO, C. (2009). "Systematic review by meta-analyses on the

possible role of TNF-alpha polymorphisms in association with Alzheimer's disease." **Brain Res Rev** 61(2): 60-68.

DI BONA, D., PLAIA, A., VASTO, S., CAVALLONE, L., LESCAI, F., FRANCESCHI, C., LICASTRO, F., COLONNA-ROMANO, G., LIO, D., CANDORE, G. & CARUSO, C. (2008). "Association between the interleukin-1beta polymorphisms and Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis." **Brain Res Rev** 59(1): 155-163.

DINARELLO, C. A. (1991). "Inflammatory cytokines: interleukin-1 and tumor necrosis factor as effector molecules in autoimmune disease. ." **Curr Opin Immunology** 3: 941-948.

EICHNER, J. E., DUNN, S. T., PERVEEN, G., THOMPSON, D. M., STEWART, K. E. & STROEHLA, B. C. (2002). "Apolipoprotein E polymorphism and cardiovascular disease: a HuGE review." **Am J Epidemiol** 155: 487-495.

ELDERKIN-THOMPSON, V., IRWIN, M. R., HELLEMANN, G. & KUMAR, A. (2012). "Interleukin-6 and memory functions of encoding and recall in healthy and depressed elderly adults." **Am J Geriatr Psychiatry** 20(9): 753-763.

ELLIS, A., CROWE, K. & LAWRENCE, J. (2013). "Obesity-related inflammation: implications for older adults." **J Nutr Gerontol Geriatr** 32(4): 263-290.

ERICKSON, K. I., WEINSTEIN, A. M. & LOPEZ, O. L. (2012). "Physical activity, brain plasticity, and Alzheimer's disease." **Arch Med Res** 43(8): 615-621.

ERSHLER, W. B. & KELLER, E. T. (2000). "Age-associated increased interleukin-6 gene expression, late-life diseases, and frailty." **Annu Rev Med** 51: 245-270.

ERTA, M., QUINTANA, A. & HIDALGO, J. (2012). "Interleukin-6, a major cytokine in the central nervous system." **Int J Biol Sci** 8(9): 1254-1266.

ETNIER, J. L., CASELLI, R. J., REIMAN, E. M., ALEXANDER, G. E., SIBLEY, B. A., TESSIER, D. & MCLEMORE, E. C. (2007). "Cognitive performance in older women relative to ApoE-epsilon4 genotype and aerobic fitness." **Med Sci Sports Exerc** 39(1): 199-207.

FARRER, L. A., CUPPLES, L. A., HAINES, J. L., HYMAN, B., KUKULL, W. A., MAYEUX, R., MYERS, R. H., PERICAK-VANCE, M. A., RISCH, N. & VAN DUIJN, C. M. (1997). "Effects of age, sex, and ethnicity on the association between apolipoprotein E genotype and Alzheimer disease. A meta-analysis. APOE and Alzheimer Disease Meta Analysis Consortium." **JAMA** 278(16): 1349-1356.

FAUL, F., ERDFELDER, E., LANG, A. G. & BUCHNER, A. (2007). "G*Power 3: a flexible statistical power analysis program for the social, behavioral, and biomedical sciences." **Behav Res Methods** 39(2): 175-191.

FEBBRAIO, M. A. & PEDERSEN, B. K. (2005). "Contraction-induced myokine production and release: is skeletal muscle an endocrine organ?" **Exerc Sport Sci Rev** 33(3): 114-119.

FINCH, C. E. & MORGAN, T. E. (2007). "Systemic inflammation, infection, ApoE alleles, and Alzheimer disease: a position paper." **Curr Alzheimer Res** 4(2): 185-189.

FORLENZA, O. V., DINIZ, B. S. & GATTAZ, W. F. (2010). "Diagnosis and biomarkers of predementia in Alzheimer's disease." **BMC Med** 8: 89.

- FORLENZA, O. V., DINIZ, B. S., STELLA, F., TEIXEIRA, A. L. & GATTAZ, W. F. (2013). "Mild cognitive impairment. Part 1: clinical characteristics and predictors of dementia." **Rev Bras Psiquiatr** 35(2): 178-185.
- FOSTER, P. P., ROSENBLATT, K. P. & KULJIS, R. O. (2011). "Exercise-induced cognitive plasticity, implications for mild cognitive impairment and Alzheimer's disease." **Front Neurol** 2: 28.
- FOSTER, T. C. (2006). "Biological markers of age-related memory deficits: treatment of senescent physiology." **CNS Drugs** 20(2): 153-166.
- FUZIKAWA, A. K., PEIXOTO, S. V., TAUFER, M., MORIGUCHI, E. H. & LIMA-COSTA, M. F. (2007). "Apolipoprotein E polymorphism distribution in an elderly Brazilian population: the Bambui Health and Aging Study." **Braz J Med Biol Res** 40(11): 1429-1434.
- GAFENCU, A. V., ROBCIUC, M. R., FUIOR, E., ZANNIS, V. I., KARDASSIS, D. & SIMIONESCU, M. (2007). "Inflammatory signaling pathways regulating ApoE gene expression in macrophages." **J Biol Chem** 282(30): 21776-21785.
- GOMES DA SILVA, S., SIMOES, P. S., MORTARA, R. A., SCORZA, F. A., CAVALHEIRO, E. A., DA GRACA NAFFAH-MAZZACORATTI, M. & ARIDA, R. M. (2013). "Exercise-induced hippocampal anti-inflammatory response in aged rats." **J Neuroinflammation** 10: 61.
- GREENWOOD, C. E. (2003). "Dietary carbohydrate, glucose regulation, and cognitive performance in elderly persons." **Nutr Rev** 61(5 Pt 2): S68-74.
- GROUP., B. D. W. (2001). "Biomarkers and Surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework." **Clin Pharmacol Ther** 69: 89-95.
- HANDSCHIN, C. & SPIEGELMAN, B. M. (2008). "The role of exercise and PGC1alpha in inflammation and chronic disease." **Nature** 454(7203): 463-469.
- HEDDEN, T. & GABRIELI, J. D. (2004). "Insights into the ageing mind: a view from cognitive neuroscience." **Nat Rev Neurosci** 5(2): 87-96.
- HERRERA, E., JR., CARAMELLI, P., SILVEIRA, A. S. & NITRINI, R. (2002). "Epidemiologic survey of dementia in a community-dwelling Brazilian population." **Alzheimer Dis Assoc Disord** 16(2): 103-108.
- HOLMES, C., EL-OKL, M., WILLIAMS, A. L., CUNNINGHAM, C., WILCOCKSON, D. & PERRY, V. H. (2003). "Systemic infection, interleukin 1beta, and cognitive decline in Alzheimer's disease." **J Neurol Neurosurg Psychiatry** 74(6): 788-789.
- HUGHES, C. P., BERG, L., DANZIGER, W. L., COBEN, L. A. & MARTIN, R. L. (1982). "A new clinical scale for the staging of dementia." **Br J Psychiatry** 140: 566-572.
- JENNY, N. A., TRACY, R. P., OGG, M. S., A., L. L., KULLER, L. H. & ARNOLD, A. M. (2002). "In the elderly, interleukin-6 plasma levels and the -174g>c, polymorphism are associated with the development of cardiovascular disease." **Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.** 22(12): 2066 - 2071.
- JOU, I. M., LIN, C. F., TSAI, K. J. & WEI, S. J. (2013). "Macrophage-mediated inflammatory disorders." **Mediators Inflamm** 2013: 316482.
- JYLHA, M., PAAVILAINEN, P., LEHTIMAKI, T., GOEBELER, S., KARHUNEN, P. J., HERVONEN, A. & HURME, M. (2007). "Interleukin-1 receptor antagonist, interleukin-6, and C-reactive

protein as predictors of mortality in nonagenarians: the vitality 90+ study." **J Gerontol A Biol Sci Med Sci** 62(9): 1016-1021.

KADO, S. & NAGATA, N. (1999). "Circulating intercellular adhesion molecule-1, vascular cell adhesion molecule-1, and E-selectin in patients with type 2 diabetes mellitus." **Diabetes Res. Clin. Pract.** 46(2): 143-148.

KATZ, R. (2004). "Biomarkers and surrogate markers: an FDA perspective." **NeuroRx**(1): 189-195.

KISHIMOTO, T. (2005). "IL-6: from laboratory to bedside." **Clin Rev Allergy Immunol** 28: 177-186.

KOHMAN, R. A. (2012). "Aging microglia: relevance to cognition and neural plasticity." **Methods Mol Biol** 934: 193-218.

LAHIRI, D. K., SAMBAMURTI, K. & BENNETT, D. A. (2004). "Apolipoprotein gene and its interaction with the environmentally driven risk factors: molecular, genetic and epidemiological studies of Alzheimer's disease." **Neurobiol Aging** 25(5): 651-660.

LARSON, E. B., WANG, L., BOWEN, J. D., MCCORMICK, W. C., TERI, L., CRANE, P. & KUKULL, W. (2006). "Exercise is associated with reduced risk for incident dementia among persons 65 years of age and older." **Ann Intern Med** 144(2): 73-81.

LAUTENSCHLAGER, N. T., COX, K. & KURZ, A. F. (2010). "Physical activity and mild cognitive impairment and Alzheimer's disease." **Curr Neurol Neurosci Rep** 10(5): 352-358.

LAUTENSCHLAGER, N. T. & COX, K. L. (2013). "Can participation in mental and physical activity protect cognition in old age?: Comment on "The Mental Activity and eXercise (MAX) trial: a randomized controlled trial to enhance cognitive function in older adults"." **JAMA Intern Med** 173(9): 805-806.

LAUTENSCHLAGER, N. T., FLICKER, L., VASIKARAN, S., LEEDMAN, P. & ALMEIDA, O. P. (2005). "Subjective memory complaints with and without objective memory impairment: relationship with risk factors for dementia." **Am J Geriatr Psychiatry** 13(8): 731-734.

LAWS, S. M., HONE, E., GANDY, S. & MARTINS, R. N. (2003). "Expanding the association between the APOE gene and the risk of Alzheimer's disease: possible roles for APOE promoter polymorphisms and alterations in APOE transcription." **J Neurochem** 84(6): 1215-1236.

LEDUC, V., JASMIN-BELANGER, S. & POIRIER, J. (2010). "APOE and cholesterol homeostasis in Alzheimer's disease." **Trends Mol Med** 16(10): 469-477.

LEE, D. C., RIZER, J., HUNT, J. B., SELENICA, M. L., GORDON, M. N. & MORGAN, D. (2013). "Review: experimental manipulations of microglia in mouse models of Alzheimer's pathology: activation reduces amyloid but hastens tau pathology." **Neuropathol Appl Neurobiol** 39(1): 69-85.

LEMERE, C. A., BEIERSCHMITT, A., IGLESIAS, M., SPOONER, E. T., BLOOM, J. K., LEVERONE, J. F., ZHENG, J. B., SEABROOK, T. J., LOUARD, D., LI, D., SELKOE, D. J., PALMOUR, R. M. & ERVIN, F. R. (2004). "Alzheimer's disease abeta vaccine reduces central nervous system abeta levels in a non-human primate, the Caribbean vervet." **Am J Pathol** 165(1): 283-297.

- LICASTRO, F., GRIMALDI, L. M., BONAFE, M., MARTINA, C., OLIVIERI, F. & CAVALLONE, L. (2003). "Interleukin-6 gene alleles affect the risk of Alzheimer's disease and levels of the cytokine in blood and brain." **Neurobiol. Aging**. 24(7): 921-926.
- LIMA, T. A., ADLER, A. L., MINETT, T., MATTHEWS, F. E., BRAYNE, C. & MARIONI, R. E. (2013). "C-reactive protein, APOE genotype and longitudinal cognitive change in an older population." **Age Ageing**.
- LIN, C. T., XU, Y. F. & WU, J. Y. (1986). "Immunoreactive apolipoprotein E is a widely distributed cellular protein. Immunohistochemical localization of apolipoprotein E in baboon tissues. ." **J Clin Invest** 78: 947-958.
- LUCAS, S. M., ROTHWELL, N. J. & GIBSON, R. M. (2006). "The role of inflammation in CNS injury and disease." **British Journal of Pharmacology** 147: S232-S240.
- LYNCH, J. R., TANG, W., WANG, H., VITEK, M. P., BENNETT, E. R., SULLIVAN, P. M., WARNER, D. S. & LASKOWITZ, D. T. (2003). "APOE genotype and an ApoE-mimetic peptide modify the systemic and central nervous system inflammatory response." **J Biol Chem** 278(49): 48529-48533.
- MA, M. T., ZHANG, J., FAROOQUI, A. A., CHEN, P. & ONG, W. Y. (2010). "Effects of cholesterol oxidation products on exocytosis." **Neurosci Lett** 476(1): 36-41.
- MAESAKO, M., UEMURA, K., KUBOTA, M., KUZUYA, A., SASAKI, K., HAYASHIDA, N., ASADA-UTSUGI, M., WATANABE, K., UEMURA, M., KIHARA, T., TAKAHASHI, R., SHIMOHAMA, S. & KINOSHITA, A. (2012). "Exercise is more effective than diet control in preventing high fat diet-induced beta-amyloid deposition and memory deficit in amyloid precursor protein transgenic mice." **J Biol Chem** 287(27): 23024-23033.
- MAEZAWA, I., NIVISON, M., MONTINE, K. S., MAEDA, N. & MONTINE, T. J. (2006). "Neurotoxicity from innate immune response is greatest with targeted replacement of E4 allele of apolipoprotein E gene and is mediated by microglial p38MAPK." **FASEB J** 20(6): 797-799.
- MCGEER, E. G. & MCGEER, P. L. (2010). "Neuroinflammation in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment: a field in its infancy." **J Alzheimers Dis** 19(1): 355-361.
- MEMORIA, C. M., YASSUDA, M. S., NAKANO, E. Y. & FORLENZA, O. V. (2013). "Brief screening for mild cognitive impairment: validation of the Brazilian version of the Montreal cognitive assessment." **Int J Geriatr Psychiatry** 28(1): 34-40.
- MENSENKAMP, A. R., JONG, M. C., VAN GOOR, H., VAN LUYN, M. J., BLOKS, V., HAVINGA, R., VOSHOL, P. J., HOFKER, M. H., VAN DIJK, K. W., HAVEKES, L. M. & KUIPERS, F. (1999). "Apolipoprotein E participates in the regulation of very low density lipoprotein-triglyceride secretion by the liver." **J Biol Chem** 274: 35711-35718.
- MONTGOMERY, S. L., NARROW, W. C., MASTRANGELO, M. A., OLSCHOWKA, J. A., O'BANION, M. K. & BOWERS, W. J. (2013). "Chronic neuron- and age-selective down-regulation of TNF receptor expression in triple-transgenic Alzheimer disease mice leads to significant modulation of amyloid- and Tau-related pathologies." **Am J Pathol** 182(6): 2285-2297.
- MORRIS, J. C. (1993). "The Clinical Dementia Rating (CDR): current version and scoring rules." **Neurology** 43(11): 2412-2414.

MULDER, M., JANSEN, J. P., JANSSEN, B. J., VAN DE BERG, W. D., VAN DER BOOM, H. & HAVEKES, L. M. (2004). "Low density lipoprotein receptor knockout mice display impaired spatial memory associated with a decreased synaptic density in the hippocampus." **Neurobiol Dis** 16: 212–219.

MURAKAMI, K., SHIMIZU, M., YAMADA, N., ISHIBASHI, S., SHIMANO, H., YAZAKI, Y. & AKANUMA, Y. (1993). "Apolipoprotein E polymorphism is associated with plasma cholesterol response in a 7-day hospitalization study for metabolic and dietary control in NIDDM." **Diabetes Care** 16(4): 564-569.

NASCIMENTO, C. M. C., AYAN, C., CANCELA, J. M., PEREIRA, J. R., ANDRADE, L. P. D., GARUFFI, M., GOBBI, S. & STELLA, F. (2013). "Exercícios físicos generalizados capacidade funcional e sintomas depressivos em idosos brasileiros." **Revista Brasileira de Cineantropometria e Desempenho Humano** 15(4): 496-507.

NASREDDINE, Z. S., PHILLIPS, N. A., BEDIRIAN, V., CHARBONNEAU, S., WHITEHEAD, V., COLLIN, I., CUMMINGS, J. L. & CHERTKOW, H. (2005). "The Montreal Cognitive Assessment, MoCA: a brief screening tool for mild cognitive impairment." **J Am Geriatr Soc** 53(4): 695-699.

NAVARRETE-REYES, A. P. & MONTANA-ALVAREZ, M. (2009). "[Inflammaging. Aging inflammatory origin]." **Rev Invest Clin** 61(4): 327-336.

NICKLAS, B. J. & BRINKLEY, T. E. (2009). "Exercise training as a treatment for chronic inflammation in the elderly." **Exerc Sport Sci Rev** 37(4): 165-170.

NITRINI, R. (1999). "Epidemiologia da doença de Alzheimer no Brasil " **Revista de Psiquiatria Clínica** 26(5).

OSNESS, W. H., ADRIAN, M., CLARK, B., HOEGER, W., RAAB, D. & WISNELL, R. (1990). **Functional fitness assessment for adults over 60 years (a field based assessment)**. Reston, VA.

PARK, S. H., KIM, J. H., CHOI, K. H., JANG, Y. J., BAE, S. S., CHOI, B. T. & SHIN, H. K. (2013). "Hypercholesterolemia accelerates amyloid beta-induced cognitive deficits." **Int J Mol Med** 31(3): 577-582.

PEDERSEN, B. K. (2011). "Exercise-induced myokines and their role in chronic diseases." **Brain Behav Immun** 25(5): 811-816.

PEDERSEN, B. K. & BRUUNSGAARD, H. (2003). "Possible beneficial role of exercise in modulating low-grade inflammation in the elderly." **Scand J Med Sci Sports** 13(1): 56-62.

PEDERSEN, B. K. & FEBBRAIO, M. (2005). "Muscle-derived interleukin-6--a possible link between skeletal muscle, adipose tissue, liver, and brain." **Brain Behav Immun** 19(5): 371-376.

PEDERSEN, B. K., STEENSBERG, A., FISCHER, C., KELLER, C., KELLER, P., PLOMGAARD, P., FEBBRAIO, M. & SALTIN, B. (2003). "Searching for the exercise factor: is IL-6 a candidate?" **J Muscle Res Cell Motil** 24(2-3): 113-119.

PENNINX, B. W., KRITCHEVSKY, S. B., NEWMAN, A. B., NICKLAS, B. J., SIMONSICK, E. M., RUBIN, S., NEVITT, M., VISSER, M., HARRIS, T. & PAHOR, M. (2004). "Inflammatory markers and incident mobility limitation in the elderly." **J Am Geriatr Soc** 52(7): 1105-1113.

- PETERSEN, A. M. & PEDERSEN, B. K. (2005). "The anti-inflammatory effect of exercise." **J Appl Physiol** 98(4): 1154-1162.
- PETERSEN, R. C. (2004). "Mild cognitive impairment as a diagnostic entity." **J Intern Med** 256(3): 183-194.
- PETERSEN, R. C. & NEGASH, S. (2008). "Mild cognitive impairment: an overview." **CNS Spectr** 13(1): 45-53.
- PETRELLA, R. J., LATTANZIO, C. N., DEMERAY, A., VARALLO, V. & BLORE, R. (2005). "Can adoption of regular exercise later in life prevent metabolic risk for cardiovascular disease?" **Diabetes Care** 28(3): 694-701.
- PETROVSKY, N., MCNAIR, P. & HARRISON, L. C. (1998). "Diurnal rhythms of pro-inflammatory cytokines: regulation by plasma cortisol and therapeutic implications." **Cytokine** 10(4): 307-312.
- PFEFFER, R. I., KUROSAKI, T. T., HARRAH, C. H., JR., CHANCE, J. M. & FILOS, S. (1982). "Measurement of functional activities in older adults in the community." **J Gerontol** 37(3): 323-329.
- PFRIEGER, F. W. (2003). "Cholesterol homeostasis and function in neurons of the central nervous system." **Cell Mol Life Sci** 60(6): 1158-1171.
- PODEWILS, L. J., GUALLAR, E., KULLER, L. H., FRIED, L. P., LOPEZ, O. L., CARLSON, M. & LYKETSOS, C. G. (2005). "Physical activity, APOE genotype, and dementia risk: findings from the Cardiovascular Health Cognition Study." **Am J Epidemiol** 161(7): 639-651.
- POIRIER, J. (2003). "Apolipoprotein E and cholesterol metabolism in the pathogenesis and treatment of Alzheimer's disease." **Trends Mol Med** 9(3): 94-101.
- POON, W. W., BLURTON-JONES, M., TU, C. H., FEINBERG, L. M., CHABRIER, M. A., HARRIS, J. W., JEON, N. L. & COTMAN, C. W. (2011). "beta-Amyloid impairs axonal BDNF retrograde trafficking." **Neurobiol Aging** 32(5): 821-833.
- QUINTINO-SANTOS, S. R., LIMA-COSTA, M. F., UCHOA, E., FIRMO, J. O., MORIGUCHI, E. H. & CASTRO-COSTA, E. (2012). "Homozygosity for the APOE E4 allele is solely associated with lower cognitive performance in Brazilian community-dwelling older adults: the Bambui Study." **Rev Bras Psiquiatr** 34(4): 440-445.
- RABER, J., HUANG, Y. & ASHFORD, J. W. (2004). "ApoE genotype accounts for the vast majority of AD risk and AD pathology." **Neurobiol Aging** 25(5): 641-650.
- RALL, S. C., JR., WEISGRABER, K. H. & MAHLEY, R. W. (1982). "Human apolipoprotein E. The complete amino acid sequence." **J Biol Chem** 257(8): 4171-4178.
- ROTHWELL, N. J. & LUHESHI, G. N. (2000). "Interleukin 1 in the brain: biology, pathology and therapeutic target." **Trends Neurosci** 23(12): 618-625.
- ROVIO, S., KAREHOLT, I., HELKALA, E. L., VIITANEN, M., WINBLAD, B., TUOMILEHTO, J., SOININEN, H., NISSINEN, A. & KIVIPELTO, M. (2005). "Leisure-time physical activity at midlife and the risk of dementia and Alzheimer's disease." **Lancet Neurol** 4(11): 705-711.
- RUBIO-PEREZ, J. M. & MORILLAS-RUIZ, J. M. (2012). "A review: inflammatory process in Alzheimer's disease, role of cytokines." **ScientificWorldJournal** 2012: 756357.

- SANDOO, A., KITAS, G. D., CARROLL, D. & VELDHIJZEN VAN ZANTEN, J. J. (2012). "The role of inflammation and cardiovascular disease risk on microvascular and macrovascular endothelial function in patients with rheumatoid arthritis: a cross-sectional and longitudinal study." **Arthritis Res Ther** 14(3): R117.
- SAUNDERS, A. M., SCHMADER, K., BREITNER, J. C. S., BENSON, M. D., BROWN, W. T., GOLDFARB, L., GOLDGABER, D., MANWARING, M. G., SZYMANSKI, M. H., MCCOWN, N., DOLE, K. C., SCHMECHEL, D. E., STRITTMATTER, W. J., PERICAKVANCE, M. A. & ROSES, A. D. (1993). "Apolipoprotein E epsilon-4 allele distributions in late-onset Alzheimer's disease and in other amyloid-forming diseases." **Lancet** 342: 710-711.
- SCHUITEMAKER, A., DIK, M. G., VEERHUIS, R., SCHELTENS, P., SCHOONENBOOM, N. S., HACK, C. E., BLANKENSTEIN, M. A. & JONKER, C. (2009). "Inflammatory markers in AD and MCI patients with different biomarker profiles." **Neurobiol Aging** 30(11): 1885-1889.
- SHEIKH, J. I. & YESAVAGE, J. A. (1986). "Geriatric Depression Scale (GDS): recent evidence and development of a shorter version." **Clin Gerontol** 5: 165-173.
- SIKAROODI, H., YADEGARI, S. & MIRI, S. R. (2013). "Cognitive impairments in patients with cerebrovascular risk factors: a comparison of Mini Mental Status Exam and Montreal Cognitive Assessment." **Clin Neurol Neurosurg** 115(8): 1276-1280.
- SILVERMAN, J. M., SCHMEIDLER, J., BEERI, M. S., ROSENDORFF, C., SANO, M., GROSSMAN, H. T., CARRION-BARALT, J. R., BESPALOVA, I. N., WEST, R. & HAROUTUNIAN, V. (2012). "C-reactive protein and familial risk for dementia: a phenotype for successful cognitive aging." **Neurology** 79(11): 1116-1123.
- SONG, F., POLJAK, A., SMYTHE, G. A. & SACHDEV, P. (2009). "Plasma biomarkers for mild cognitive impairment and Alzheimer's disease." **Brain Res Rev** 61(2): 69-80.
- SONG, F., POLJAK, A., SMYTHE, G. A. & SACHDEV, P. (2009). "Plasma biomarkers for mild cognitive impairment and Alzheimer's disease." **Brain Res Rev** 61: 69-80.
- STAPLETON, P. A., GOODWILL, A. G., JAMES, M. E., BROCK, R. W. & FRISBEE, J. C. (2010). "Hypercholesterolemia and microvascular dysfunction: interventional strategies." **J Inflamm (Lond)** 7: 54.
- STEFANI, M. & LIGURI, G. (2009). "Cholesterol in Alzheimer's disease: unresolved questions." **Curr Alzheimer Res** 6(1): 15-29.
- TANAKA, H., MONAHAN, K. D. & SEALS, D. R. (2001). "Age-predicted maximal heart rate revisited." **J Am Coll Cardiol** 37(1): 153-156.
- TARKOWSKI, E., LILJEROTH, A. M., NILSSON, A., RICKSTEN, A., DAVIDSSON, P., MINTHON, L. & BLENNOW, K. (2000). "TNF gene polymorphism and its relation to intracerebral production of TNFalpha and TNFbeta in AD." **Neurology** 54(11): 2077-2081.
- TEIXEIRA, C. V., GOBBI, L. T., CORAZZA, D. I., STELLA, F., COSTA, J. L. & GOBBI, S. (2012). "Non-pharmacological interventions on cognitive functions in older people with mild cognitive impairment (MCI)." **Arch Gerontol Geriatr** 54(1): 175-180.
- THAMBISETTY, M. & LOVESTONE, S. (2010). "Blood-based biomarkers of Alzheimer's disease: challenging but feasible." **Biomark Med** 4(1): 65-79.
- TILG, H., DINARELLO, C. A. & MIER, J. W. (1997). "IL-6 and APPs: anti-inflammatory and immunosuppressive mediators." **Immunol Today** 18(9): 428-432.

- TURLEY, S. D., BURNS, D. K., ROSENFELD, C. R. & DIETSCHY, J. M. (1996). "Brain does not utilize low density lipoprotein-cholesterol during fetal and neonatal development in the sheep." **J Lipid Res** 37(9): 1953-1961.
- VAN UFFELEN, J. G., CHIN, A. P. M. J., HOPMAN-ROCK, M. & VAN MECHELEN, W. (2008). "The effects of exercise on cognition in older adults with and without cognitive decline: a systematic review." **Clin J Sport Med** 18(6): 486-500.
- VAN UFFELEN, J. G., CHINAPAW, M. J., HOPMAN-ROCK, M. & VAN MECHELEN, W. (2009). "Feasibility and effectiveness of a walking program for community-dwelling older adults with mild cognitive impairment." **J Aging Phys Act** 17(4): 398-415.
- VASTO, S., CANDORE, G., LISTI, F., BALISTRERI, C. R., COLONNA-ROMANO, G., MALAVOLTA, M., LIO, D., NUZZO, D., MOCCHEGIANI, E., DI BONA, D. & CARUSO, C. (2008). "Inflammation, genes and zinc in Alzheimer's disease." **Brain Res Rev** 58(1): 96-105.
- VERAS, R. (2009). "Envelhecimento populacional contemporâneo: demandas, desafios e inovações." **Rev de Saúde Pública** 43(3): 548-554.
- VERGHESE, P. B., CASTELLANO, J. M. & HOLTZMAN, D. M. (2011). "Apolipoprotein E in Alzheimer's disease and other neurological disorders." **Lancet Neurol** 10(3): 241-252.
- VGONTZAS, A. N. & BIXLER, E. O. (2005). "IL-6 and its circadian secretion in humans. ." 12: 131-140.
- VISSER, P. J. & BRODATY, H. (2006). "MCI is not a clinically useful concept." **Int Psychogeriatr** 18(3): 402-409; discussion 409-414.
- VITEK, M. P., BROWN, C. M. & COLTON, C. A. (2009). "APOE genotype-specific differences in the innate immune response." **Neurobiol Aging** 30(9): 1350-1360.
- VOORRIPS, L. E., RAVELLI, A. C., DONGELMANS, P. C., DEURENBERG, P. & VAN STAVEREN, W. A. (1991). "A physical activity questionnaire for the elderly." **Med Sci Sports Exerc** 23(8): 974-979.
- WEISGRABER, K. H., INNERARITY, T. L. & MAHLEY, R. W. (1982). "Abnormal lipoprotein receptor-binding activity of the human E apoprotein due to cysteine-arginine interchange at a single site." **J Biol Chem** 257(5): 2518-2521.
- WEISGRABER, K. H., RALL, S. C., JR. & MAHLEY, R. W. (1981). "Human E apoprotein heterogeneity. Cysteine-arginine interchanges in the amino acid sequence of the apo-E isoforms." **J Biol Chem** 256(17): 9077-9083.
- XUE, Q. S., SPARKS, D. L. & STREIT, W. J. (2007). "Microglial activation in the hippocampus of hypercholesterolemic rabbits occurs independent of increased amyloid production." **J Neuroinflammation** 4: 20.
- YASUKAWA, K., HIRANO, T., WATANABE, Y., MURATANI, K., MATSUDA, T., NAKAI, S. & KISHIMOTO, T. (1987). "Structure and expression of human B cell stimulatory factor-2 (BSF-2/IL-6) gene." **EMBO J** 6(10): 2939-2945.
- YESAVAGE, J. A., BRINK, T. L., ROSE, T. L., LUM, O., HUANG, V., ADEY, M. & LEIRER, V. O. (1982). "Development and validation of a geriatric depression screening scale: a preliminary report." **J Psychiatr Res** 17(1): 37-49.

ZAGO, A. S. & GOBBI, S. (2003). "Valores normativos da aptidão funcional de mulheres de 60 a 70 anos." **Revista Brasileira de Ciência e Movimento** 11(2): 77-86.

ZHAO, Q. & TANG, X. C. (2002). "Effects of huperzine A on an acetylcholinesterase isoforms in vitro: comparison with tacrine, donepezil, rivastigmine and physostigmine." **Eur J Pharmacol.** 455((2-3)): 101-107.

ANEXOS

Anexo 1 – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Conselho Nacional de Saúde, Resolução 196/96)

Olá, Meu nome é Carla Manuela Crispim Nascimento, sou aluna de doutorado do Programa de Pós Graduação em Ciências da Motricidade. Gostaria de convidá-lo (a) a participar de uma pesquisa que estou desenvolvendo sob orientação do professor Florindo Stella, que tem como objetivo analisar a influência do exercício nas funções mentais e realização de trabalhos da vida diária, bem como em alguns fatores genéticos, que são importantes para a qualidade de vida e necessitam de mais estudos.

Caso o senhor (a) aceite participar, responderá questionários que avaliam as funções cognitivas e que não lhe oferecem nenhum tipo de constrangimento, caso o senhor (a) se sinta ofendido em qualquer momento da avaliação, a mesma poderá ser interrompida sem que haja dolo. O senhor(a) também realizará testes motores, os quais oferecem riscos mínimos, devido a aplicação feita por profissionais devidamente capacitados. Além disso, serão feitas coletas sanguíneas, em jejum de 12 horas, para verificar níveis de colesterol, glicemia, fatores pró-inflamatórios séricos e a expressão gênica da apolipoproteína E. Todas as avaliações sanguíneas serão realizadas por enfermeiros treinados a fim de minimizar os possíveis fatores adversos. Este procedimento não terá custo nenhum para o senhor (a). Todas as coletas serão realizadas no início e após 4 meses de atividade para todos os participantes do estudo.

Serão formados dois grupos, sendo que um apenas responderá as avaliações (Grupo Controle) e o outro realizará um programa de exercício adaptados para sua idade e condição física, 3 dias por semana, 60 minutos por dia, durante 4 meses.

Os riscos de sua participação são mínimos e semelhantes aos presentes no seu dia a dia, sendo ainda mais reduzidos por supervisão presencial de profissional de Educação Física, com a utilização de equipamentos e instalações adequadas. O senhor(a) será beneficiado com o conhecimento do estado de suas funções cognitivas, capacidade funcional e como contribuirá para o aumento de conhecimento que poderá beneficiar outros profissionais e também outros idosos.

O Sr (a) poderá se recusar ou interromper sua participação no estudo sem qualquer penalização, bem como receber todos os esclarecimentos que julgar necessários em qualquer momento da pesquisa. Os resultados serão utilizados exclusivamente para fins de pesquisa e publicados em revistas e congressos científicos, sendo que sua identidade pessoal será mantida em sigilo.

Título do Projeto: Treinamento Aeróbio na aptidão funcional, cognitiva e biomarcadores da doença de Alzheimer em idosos sem comprometimento cognitivo: Um Estudo Controlado.

Pesquisador Responsável: Carla Manuela Crispim Nascimento e Jessica Rodrigues Pereira

Cargo/Função: Doutoranda / Mestranda

Instituição: Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho – Campus Rio Claro

Dados para Contato: (19) 97584965. E-mail: jpereira@rc.unesp.br; cmcn@rc.unesp.br

Orientador: Florindo Stella

Cargo/Função: Professor livre docente da UNESP

Instituição: Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho – Campus Rio Claro

Dados para Contato: (19) 35264312. E-mail: fstella@rc.unesp.br

Tendo sido esclarecido (a) pelo constante no presente Termo e verbalmente de todos os procedimentos que serão realizados, concordo em participar do estudo, assinando-o em duas vias sendo que uma delas ficará em meu poder e a outra com o pesquisador responsável.

Nome do Participante: _____

Data de Nasc. __/__/____ Sexo: F (___) M (___) Identidade: _____

Residente à: _____

Tefelone: (___) _____

Rio Claro __/__/____

Carla M. C. Nascimento

Pesquisadora Responsável

Prof. Dr. Florindo Stella

Orientador

Participante

Anexo 2 – Parecer do Comitê de Ética

unesp



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"

Campus de Rio Claro

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

CEP- IB-UNESP- RIO CLARO

DECISÃO CEP Nº 107/2011

Instituição: UNESP – IB – CRC	Departamento: Educação Física
Protocolo nº: 7143	Data de Registro CEP: 13.09.2011
Projeto de Pesquisa: "Treinamento aeróbio na aptidão funcional, cognitiva e biomarcadores da Doença de Alzheimer em idosos sem comprometimento cognitivo: Um estudo controlado".	

Pesquisa Individual	Pesquisador Responsável: -.-
	Colaboradores: -.-

Pesquisa Alunos de Graduação	Pesquisador Responsável: -.-
	Orientando(a): -.-

Pesquisa Alunos de Pós-Graduação	Pesquisador Responsável: Jessica Rodrigues Pereira
	Orientador(a): Prof. Dr. Florindo Stella

Objetivo Acadêmico:	<input type="checkbox"/> TCC
	<input checked="" type="checkbox"/> Mestrado
	<input type="checkbox"/> Doutorado
	<input type="checkbox"/> Outros – (especificar)

O Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto de Biociências da UNESP – Campus de Rio Claro, em sua 44ª reunião ordinária, realizada em 22/11/2011

<input checked="" type="checkbox"/>	Aprovou o Projeto de Pesquisa acima citado, ratificando o parecer emitido pelo relator.
<input type="checkbox"/>	Desde que atendidas as pendências apontadas na reunião (vide anexo), aprova o Projeto de Pesquisa acima citado.
<input type="checkbox"/>	Referendou o Projeto de Pesquisa acima citado, ratificando o parecer emitido pelo relator.
<input type="checkbox"/>	Aprovou retornar ao interessado para atendimento das pendências encontradas (prazo máximo de 60 dias):
<input type="checkbox"/>	Não Aprovou.
<input type="checkbox"/>	Retirou , devido à permanência das pendências.
<input type="checkbox"/>	Aprovou o Projeto de Pesquisa acima citado e o encaminha , com o devido parecer, para apreciação da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa- CONEP/MS, por se tratar de um dos casos previstos no capítulo VIII, item 4.c.

"Formulário para Acompanhamento dos Protocolos de Pesquisa Aprovados"
Data de Entrega: Dezembro de 2013

Rio Claro, 25 de novembro de 2011. Profa. Dra. Rosa Maria Feiteiro Cavalari Coordenadora do CEP
