

---

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

---

**EFEITO DO TREINAMENTO AERÓBIO NOS NÍVEIS DO FATOR DE  
CRESCIMENTO SEMELHANTE À INSULINA-1 E FUNÇÕES COGNITIVAS NA  
DOENÇA DE ALZHEIMER**

**ANGELICA MIKI STEIN**

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

**DEZEMBRO - 2017**

**Angelica Miki Stein**

**EFEITO DO TREINAMENTO AERÓBIO NOS NÍVEIS DO  
FATOR DE CRESCIMENTO SEMELHANTE À INSULINA-1 E  
FUNÇÕES COGNITIVAS NA DOENÇA DE ALZHEIMER**

Tese apresentada ao Instituto de  
Biotecnologia do Campus de Rio  
Claro, Universidade Estadual  
Paulista Júlio de Mesquita Filho,  
como parte dos requisitos para  
obtenção do título de Doutora em  
Ciências da Motricidade.  
Orientadora: Profa. Dra. Ruth  
Ferreira Santos-Galduróz

**RIO CLARO  
2017**

617.1027 Stein, Angelica Miki  
S819e Efeito do treinamento aeróbio nos níveis do fator de crescimento semelhante à insulina-1 e funções cognitivas na doença de Alzheimer / Angelica Miki Stein. - Rio Claro, 2017  
160 f. : il., figs., gráfs., tabs.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista,  
Instituto de Biociências de Rio Claro  
Orientadora: Ruth Ferreira Santos-Galduróz

1. Medicina esportiva. 2. Atividade física e saúde. 3.  
Doença de Alzheimer. 4. Exercício agudo. 5. Treinamento  
aeróbio. 6. IGF-1. 7. Cognição. I. Título.

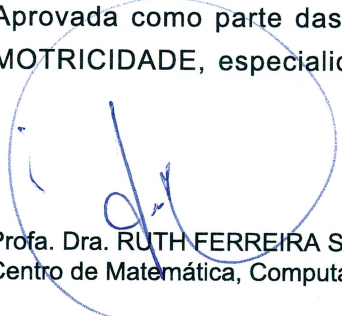
**CERTIFICADO DE APROVAÇÃO**

TÍTULO DA TESE: EFEITO DO TREINAMENTO AERÓBIO NOS NÍVEIS DO FATOR DE CRESCIMENTO SEMELHANTE À INSULINA-1 E FUNÇÕES COGNITIVAS NA DOENÇA DE ALZHEIMER

**AUTORA: ANGELICA MIKI STEIN**

**ORIENTADORA: RUTH FERREIRA SANTOS-GALDUROZ**

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em CIÊNCIAS DA MOTRICIDADE, especialidade: ATIVIDADE FÍSICA E SAÚDE pela Comissão Examinadora:



Profa. Dra. RUTH FERREIRA SANTOS-GALDUROZ  
Centro de Matemática, Computação e Cognição / Universidade Federal do ABC - Santo André/SP

Prof. Dr. ALEXANDRE GABARRA DE OLIVEIRA  
Departamento de Educação Física / UNESP - Instituto de Biociências de Rio Claro - SP



Prof. Dr. SEBASTIÃO GOBBI  
Aposentado - Departamento de Educação Física / UNESP - Instituto de Biociências de Rio Claro - SP



Profa. Dra. MÁRCIA REGINA COMINETTI  
Departamento de Gerontologia / Centro de Ciências Biológicas e da Saúde - Universidade Federal de São Carlos / SP



Profa. Dra. HANNA KAREN MOREIRA ANTUNES  
Departamento de Biociências / Universidade Federal de São Paulo - Campus Baixada Santista - Santos/SP

Rio Claro, 18 de dezembro de 2017

## **DEDICATÓRIA**

- **Dedico este trabalho aos meus pais Marie Uehara Stein e Luiz Carlos Stein que são meus exemplos de força, coragem, amor e altruísmo;**
- **Aos meus avós Alcides Stein (*in memorian*) e Natalina Rossi Stein (*in memorian*) que serão eternamente meus inspiradores;**
- **A todos os idosos com doença de Alzheimer e cuidadores que participaram deste estudo, que disponibilizaram seu tempo, que acreditaram piamente neste trabalho e que a cada dia me ensinavam algo novo, fosse com gestos, sorrisos, aceitação da doença ou com carinho que cuidavam de seus familiares.**

## AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, com a mais profunda gratidão, gostaria de agradecer à Deus e à Meishu-Sama a oportunidade em realizar o curso de doutorado e por todo aprendizado na trilha deste caminho! Acredito que este seja o fechamento de um ciclo bastante importante de minha vida e nesta seção de “Agradecimentos” eu gostaria de carinhosamente manifestar meu sincero sentimento de gratidão a todos que contribuíram para que este trabalho se realizasse!

Gostaria de agradecer a minha família, aos meus pais Luiz Carlos Stein e Mariê Uehara Stein que nunca mediram esforços para me verem feliz e realizada! Esta tese é dedicada à vocês, simbolizando uma parte do meu sentimento de amor e gratidão! Obrigada pelos constantes cuidados e amor à nossa família! Amarei vocês eternamente! Também gostaria de agradecer a minha avó Hatsuko, conhecida também por dona Isabel, a meu irmão Renato, à minha tia Roseli e meus primos Elaine, Luiz e a pequena Suri! Obrigada por sempre estarem próximos, por alegrarem meu dia-a-dia e por serem o meu porto seguro!

Aos que chegaram no meio desta trilha, mas que tem igual importância: Obrigada ao meu namorado Leonardo Steenbock que se arriscou em namorar à distância logo nos primeiros meses da nossa história! Seu amor, apoio e companheirismo foram e são essenciais para mim! “*Um pelo outro, sempre*”! Aproveito para estender meu “Muito obrigada” a toda família que muito carinhosamente me acolheu: Dona Helena, Sr. Paulo (*in memoriam*), Sra. Debora, Gisele, Matheus e Bernardo.

Impossível não agradecer aos queridos lafeanos que sempre trabalham com seriedade e também brincam de forma comprometida... “*Work hard, play hard*”! Vocês foram fundamentais para que eu escolhesse o caminho acadêmico e poder ter convivido e aprendido com cada um foi realmente um privilégio! O Laboratório de Atividade Física e Envelhecimento (LAFE) realmente é o melhor laboratório do mundo!

Em especial, gostaria de agradecer à minha orientadora professora Dra. Ruth Ferreira Santos-Galduróz que desde o primeiro momento me aceitou como sua orientanda, me investindo confiança e dando suporte científico e também pessoal! Fui muito feliz por ter sido orientada por você, por ter seu exemplo como professora, orientadora e também como mulher! O desenvolvimento do doutorado foi muito mais leve e amistoso, mesmo com as exigências e o ritmo de trabalho que nos é requisitado. Espero que nossa amizade siga também fora do *lattes*! Ruth muito obrigada por tudo! Aproveito para estender meus agradecimentos à família da UFABC e ao Grupo de estudos de aspectos neuropsiquiátricos e motricidade – GEANM. As

reuniões e idas à Santo André e São Bernardo sempre foram recheadas de muito estudo e também de muitas risadas!

Da mesma forma gostaria de agradecer ao querido professor Dr. Sebastião Gobbi que abriu as portas do seu laboratório para uma menina que mal sabia o que era ciência. Obrigada pelos seus constantes ensinamentos, puxões de orelha e por toda formação e incentivos ao longo do caminho! Realmente a pesquisa é uma atividade humana e acredito que como neste sentido não poderíamos ter melhor líder! Espero que nunca te faltem os famosos salários psicológicos! Também gostaria de agradecer ao professor Dr. José Luiz Riani Costa que sempre esteve presente desde o meu começo como bolsista do Programa de Cinesioterapia Funcional e Cognitiva para Idosos com doença de Alzheimer (PRO-CDA) até a reta final do doutorado. Riani obrigada pelo carinho, por possibilitar que a intervenção, as coletas e os demais trabalhos desta tese fossem realizados! É sempre bom poder contar com alguém tão altruísta e que sempre nos incentiva a ter um olhar mais profundo sobre as questões relacionadas à saúde, ao envelhecimento, à sociedade! Muito obrigada! É uma alegria tê-los como exemplo!

Ao LAFE gostaria de agradecer sobretudo às minhas queridas amigas-irmãs: Flávia Gomes de Melo Coelho e Thays Martins Vital Silva. Acredito que não fosse por uma estar apoiando a outra, eu não chegaria até aqui. A amizade e o constante apoio de vocês duas foram fundamentais para mim e ainda o são!

Flávia muito obrigada por estar sempre tão presente! Obrigada pela confiança e pelos tantos momentos de trabalho, de intervenção, de escrita, e também os nossos momentos fora da Unesp. Principalmente obrigada pela amizade, pelos incentivos ao longo do caminho, pelas viagens a Congressos, pelas conversas e por ter se tornado uma amiga tão especial e querida! No dia-a-dia aprendo muito com sua determinação e persistência, sua fé, com seu carinho com os idosos, e com o amor à sua família! Sempre torcerei por vocês!

Thays, *Zeza*, a você um muito obrigada também especial! Obrigada por todo o companheirismo, por me ouvir tanto, por sempre ampliar minha visão sobre as coisas. Sobretudo, obrigada pela amizade, pelos momentos de trabalho, de coorientação, e tantos outros mais! Obrigada pela paciência e por deixar eu te perturbar tanto. Agradeço pelas brincadeiras ao longo do caminho que sempre nos fizeram dar boas risadas e até mesmo aliviar os momentos de tanta tensão – Lembra do seu jaleco abotoado todo torto?! Rsr...

Gostaria de agradecer também à amiga e colega de laboratório Jessica Rodrigues Pereira. Já querida nossa amizade começou anos atrás ainda “malhando” lá no Grêmio e só fomos nos aproximar na Pós-graduação, não é mesmo?! Obrigada por ser essa amiga tão doce, organizada e querida! Obrigada por ajudar também nas coletas deste trabalho!

Agradeço demais a amiga e colega de Pós-Graduação, Iane de Paiva Novais por toda atenção, carinho, conversas e momentos juntas! Obrigada pelo incentivo de engatar um doutorado direto, por me acompanhar na minha primeira vez tão longe do Brasil e pela amizade tão especial que construímos ao longo desses anos!

Gostaria também de agradecer à Renata Pedroso pela cuidadosa leitura na redação final da tese, pela torcida e também por dividirmos os momentos e os “choques culturais” no tempo em comum na Espanha. *Gracias hermana!*

Aproveito para agradecer a todos que realizaram as avaliações e auxiliaram nas intervenções na esteira: Franciel Arantes, Larissa Andrade, Carla Andreatto, Marcelo Garuffi, Oscar Gutiérrez, Grazieli Tubero, Gilson Fuzaro Jr, Pollyanna Micali. Obrigada por contribuírem para a realização deste trabalho! Agradeço imensamente a todos os estagiários do PRO-CDA!

De forma imensurável é o meu sentimento de gratidão a todos os idosos e cuidadores que participaram deste estudo! Obrigada por disponibilizarem o tempo dos senhores, de acreditarem em nosso trabalho e buscarem a atividade física como uma alternativa - fosse para melhora do quadro da doença de Alzheimer ou para contribuir às nossas pesquisas! Vocês foram as “figuras-chave” desta investigação e ela é dedicada especialmente a cada um de vocês!!! MUITÍSSIMO obrigada!

Aproveito também para agradecer a todo apoio técnico de: Clarice Sibuya e ao LANUMEX por concederem equipamentos, técnicas e espaço para o tratamento das amostras sanguíneas e ao professor Dr. Eduardo Kokubun e ao NAFES pelo espaço e pela disponibilidade para a realização das intervenções com os idosos.

Agradeço também à professora Dra. Rosana Camarini e ao André Rueda pelo auxílio no tratamento das amostras de IGF-1, pela análise dos dados e por todas as contribuições ao longo destes 5 anos. Igualmente, agradeço a professora Dra. Andrea Camaz Deslandes pelas contribuições na minha banca de qualificação no mestrado e pelas sugestões e parceira em um dos frutos deste trabalho. Além disso, muito obrigada aos professores Dra. Katia Tanaka, Dr. Alexandre Gabarra de Oliveira, Dr. Sebastião Gobbi, Dra. Hanna Karen Antunes e Dra. Márcia Regina Cominetti pelas preciosas contribuições no momento da minha qualificação e da defesa.

Meu muito obrigada ao Laboratório de Neuroendocrinologia, conhecido por B05, do Instituto Cajal - Madri, em especial aos professores Dr. Ignacio Torres-Aléman e Dr. Angel Nuñez. Ignacio, Nacho muito obrigada por ter me aceitado no seu laboratório, pela experiência em trabalhar com modelo animal, pela oportunidade em aprimorar e me aprofundar no mundo da pesquisa. Obrigada pela confiança e pelos ensinamentos! Ao professor Angel obrigada pela



paciência em me ensinar a operar animais tão pequenininhos e pelos registros de eletroencefalograma. Agradeço a todos os colegas e técnicos laboratório e do Instituto, em especial à Ana Fernandez, Andrea Santi, Victor Munive e à Dolores Guinea (Lola). Obrigada pelos almoços no Cajal, pelas conversas, por me acompanharem nas cirurgias, nos sacrifícios, nas análises e principalmente obrigada pela amizade. Foi um prazer trabalhar com vocês!

À profa. Dra. Cynthia Hiraga que nos últimos meses do doutorado cedeu espaço ao LAFE e que carinhosamente nos “abrigou” em seu laboratório. Muito obrigada pelo incentivo neste trabalho!

Sobre a experiência de ter vivido fora do Brasil, agradeço aos amigos do grupo “*Gominolas de Petróleo*”. Como foi bom tê-los conhecido e convivido com vocês! Pessoas únicas e especiais! Agradeço imensamente às minhas *compis* de apartamento: Luz e Maria e aos amigos queridos Ana, Anita e Ivan, *Ivanzito* que se tornaram minha família ali! *Como los echo de menos!* Agradeço também à família Alambert que sempre me apoiou espiritualmente enquanto estive lá!

Agradeço aos meus professores de língua estrangeira: ao Victor Andriolli pelas aulas de espanhol e pelas constantes conversas e ao Carlos Butolo pelas aulas de inglês e por nossas reflexões!

Aos amigos queridos que estiveram presentes ao longo dessa jornada, Sarah, Anderson, Emerson e Filipe obrigada meus amores! Agradeço a toda a família Pereira Ribeiro que também em vários momentos me deram alegria e conforto!

Ao “Pessoal da Unesp”, Aline, Natalia, Léo Lima, Sissy, Anderson, Garuffi, Camila, Leandro, Juliana, Bruna e aos agregados Guilherme, Bruno e Matheus pela amizade e pelos bons momentos!

Agradeço ao apoio financeiro recebido durante este trabalho à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de nível Superior (CAPES PDSE 99999.010743/2014-06) pela realização do doutorado sanduíche no exterior.

À Fundação de Amparo de Pesquisa ao Estado de São Paulo (FAPESP, processo número 2013/19729-0) pelo financiamento do projeto de pesquisa e pelo apoio financeiro.

Por último agradeço aos demais professores da Unesp por despertarem em mim a vontade pela busca ao conhecimento e aos funcionários da universidade, da Pós-Graduação e do ponto de apoio da FAPESP por todo o auxílio a este trabalho.

Nota-se que este trabalho teve a contribuição de diversas pessoas e seria injusto atribuí-lo só a mim! Então espero ter conseguido agradecer a todos que participaram desta jornada!

*“As pessoas grandes adoram os números... Elas jamais se informam do essencial... Se dizemos as pessoas grandes: ‘Vi uma casa de tijolos cor de rosa, gerânios na janela, pombas no telhado...’ elas não conseguem, de modo nenhum fazer ideia da casa. É preciso dizer-lhes: ‘É uma casa de seiscentos contos.’ Então elas exclamam: ‘Que beleza’.”*

*Antoine de Saint-Exupéry*

## RESUMO

Para auxiliar o tratamento da doença de Alzheimer (DA), existem alternativas não farmacológicas, como o exercício físico. Efeitos do exercício físico em supostos mecanismos como o fator de crescimento semelhante a insulina (IGF-1), tem sido associado a melhoras encefálica, relacionadas à melhora de desempenho cognitivo, neurogênese, depuração do peptídeo beta-amilóide e redução da tau fosforilada. Dessa forma, o objetivo geral desta tese foi verificar a relação entre exercício físico, níveis circulantes de IGF-1 e DA. A tese foi estruturada em 6 capítulos, sendo Capítulo 1: descrição dos objetivos, revisão de literatura e delineamento do estudo; Capítulo 2: artigo de revisão sistemática sobre os estudos que investigaram o efeito do exercício físico nas funções cognitivas e IGF-1 circulante em idosos; Capítulo 3: estudo que teve como objetivo comparar a resposta ao exercício aeróbio agudo nos níveis de IGF-1 circulante de idosos cognitivamente preservados e idosos com DA; Capítulo 4: o objetivo deste estudo foi verificar o efeito do treinamento aeróbio nas funções cognitivas e níveis de IGF-1 em idosos com DA; Capítulo 5: estudo que teve como objetivo comparar a resposta ao exercício aeróbio agudo na cognição e atividade encefálica em camundongos selvagens, pré sintomáticos da DA e com deficiência de IGF-1; Capítulo 6: considerações gerais e conclusões da tese. No Capítulo 2 foram encontrados 7 estudos que verificaram o efeito do exercício nos níveis de IGF-1 e na função cognitiva de idosos em diferentes condições, como idosos cognitivamente preservados, idosos com comprometimento cognitivo leve e idosos pré-diabéticos. Os resultados apontaram que não há consenso entre melhor tipo de exercício, intensidade, frequência e duração para provocar melhora das funções cognitivas e regulação de IGF-1 circulante. O capítulo 3 traz um estudo em que participaram 74 idosos: 40 idosos cognitivamente preservados e 34 idosos com doença de Alzheimer. Todos os participantes responderam a uma avaliação cognitiva e foram submetidos a um teste incremental em esteira ergométrica. Sobretudo, foi demonstrado que idosos com DA e idosos cognitivamente preservados responderam ao exercício aeróbio agudo de maneira diferente: idosos com DA tiveram aumento dos níveis de IGF-1 e idosos cognitivamente preservados tiveram manutenção nestes mesmos níveis. No Capítulo 4, 16 idosos com DA compuseram o Grupo Controle (GC) e 18 idosos com DA, o Grupo Treinamento (GT). O GT participou de um protocolo de treinamento aeróbio, realizado a 80% da frequência cardíaca, com duração de 25-40 min/sessão, três vezes semanais, com duração de 12 semanas. Após o período experimental, não foram identificadas diferenças significativas entre grupos e momentos para as funções cognitivas e níveis de IGF-1. Porém, resultados clínicos na cognição e no controle de quadros de insulino-resistência foram observados no GT. No Capítulo 5 foi verificado camundongos selvagens tiveram aumento significativo na banda theta e desempenho cognitivo superior quando comparados aos outros grupos de animais. Por último, o Capítulo 6 traz as considerações gerais e conclusões da tese: não existe um protocolo único capaz de modificar os níveis de IGF-1 e provocar melhora cognitiva; idosos cognitivamente preservados e idosos com DA respondem de maneira diferente ao exercício aeróbio agudo quanto aos níveis de IGF-1; o treinamento aeróbio adotado não foi efetivo para melhora cognitiva, nem para modificações nos níveis de IGF-1; camundongos selvagens, pré-sintomáticos da DA e com deficiência de IGF-1 respondem de maneira diferente ao exercício aeróbio agudo na atividade encefálica, sendo que o exercício agudo se mostrou efetivo no desempenho cognitivo.

**PALAVRAS-CHAVE:** doença de Alzheimer. Exercício agudo. Treinamento aeróbio. IGF-1. Cognição.

## ABSTRACT

To help the treatment of Alzheimer's disease (AD), there are non-pharmacological alternatives, such as physical exercise. Possible effects of physical exercise on putative mechanisms, such as the insulin-like growth factor-1 (IGF-1), have been associated with improvements on brain health, related to cognition, neurogenesis, clearance of the protein beta-amyloid and p-tau. Thus, the objective of this thesis was to verify the relation among physical exercise, circulating IGF-1 and AD. The thesis was structured in 6 chapters - Chapter 1: description of the objectives, literature review and design of the study; Chapter 2: systematic review manuscript about studies that investigated the physical exercise effects on cognitive functions and circulating IGF-1 in elderlies; Chapter 3: the objective was to compare the response to aerobic acute exercise in circulating IGF-1 levels in cognitively preserved elderly and elderly with AD; Chapter 4: the objective was to verify the aerobic training effect on cognitive functions and IGF-1 levels in elderly with AD; Chapter 5: the objective was to compare the response to acute aerobic exercise on cognition and brain activity in wild mice, pre symptomatic AD mice and IGF-1 deficiency mice; Chapter 6: general considerations and conclusions. In the Chapter 2, 7 papers verified the exercise effect on IGF-1 levels and cognitive function in elderlies with different conditions, as cognitively preserved elderly, mild cognitive impairment and pre diabetes was found. The results pointed that there was no consensus about recommendation of best type of exercise, intensity, frequency and duration to induce improvement on cognition and circulating IGF-1 regulation. The Chapter 3 brings a study with transversal profile, with 74 participants: 40 cognitively preserved elderly and 34 elderly with AD. All participants responded to cognitive evaluation and they were submitted to a incremental test in ergometric treadmill. Mainly, elderly with AD and cognitively preserved elderlies responded to acute aerobic exercise in different ways. Elderly with AD had an increase on IGF-1 levels whereas cognitively preserved elderlies had a maintaining in this same levels. In the Chapter 4 in order to verify the training effect on cognitive functions and IGF-1, 16 elderlies with AD participated in Control Group (CG) and 18 elderlies with AD, in Training Group (TG). The TG participated in an aerobic training protocol, 75% of heart rate, 4 km/h, 25-40 min/session, 3 times weekly, during 12 weeks. After the experimental period, significant differences between groups and moments for cognitive functions and IGF-1 levels were not identified. However, interesting clinical results was observed in cognition and insulin-resistance control of TG. In Chapter 5, wild mice had a significant increase on theta rhythm and better cognitive performance when they were compared to another animal groups. Finally, the Chapter 6 brings us general considerations and conclusions of the thesis: there is not only one protocol capable to modify IGF-1 levels and induce cognition improvement; cognitively preserved elderly and elderly with AD responded differently to acute aerobic exercise in IGF-1 levels; the training protocol adopted in this study was not effective neither to improve cognition, nor to modified IGF-1 levels in elderlies with AD; wild mice, AD pre symptomatic mice and IGF-1 deficiency mice responded different to acute aerobic exercise in brain activity, considering acute exercise effective on cognitive performance.

**Keywords:** Alzheimer's disease. Acute exercise. Aerobic training. IGF-1. Cognition.

## SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO 1</b> .....	<b>01</b>
Interesse pelo tema, introdução, objetivos, delineamento do estudo e revisão de literatura.	
1 INTERESSE PELO TEMA.....	<b>02</b>
2 INTRODUÇÃO.....	<b>05</b>
3 OBJETIVOS E DELINEAMENTO DO ESTUDO.....	<b>08</b>
4 HIPÓTESES .....	<b>10</b>
5 REVISÃO DA LITERATURA.....	<b>11</b>
5.1 Doença de Alzheimer.....	<b>11</b>
5.2 Exercício físico, doença de Alzheimer e funções cognitivas .....	<b>14</b>
5.3 Fator de crescimento semelhante à insulina-1 .....	<b>16</b>
5.4 Fator de crescimento semelhante à insulina-1 e doença de Alzheimer .....	<b>19</b>
5.5 Fator de crescimento semelhante à insulina-1, doença de Alzheimer, exercício físico e função cognitiva.....	<b>22</b>
<b>CAPÍTULO 2</b> .....	<b>25</b>
<i>Physical exercise, IGF-1 and cognition: a systematic review of experimental studies in the elderly</i>	
<b>CAPÍTULO 3</b> .....	<b>40</b>
<i>Acute exercise increases circulating IGF-1 in elderly with Alzheimer's disease, not in non-dement elderly</i>	
3.1 INTRODUÇÃO.....	<b>41</b>
3.2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	<b>43</b>
3.3 RESULTADOS.....	<b>49</b>
3.4 DISCUSSÃO.....	<b>58</b>
3.5 CONCLUSÃO.....	<b>62</b>
<b>CAPÍTULO 4</b> .....	<b>63</b>
<i>Aerobic exercise and peripheral neurobiological markers in elderly with Alzheimer's disease: a controlled trial</i>	
4.1 INTRODUÇÃO.....	<b>64</b>
4.2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	<b>66</b>
4.3 RESULTADOS.....	<b>73</b>
4.4 DISCUSSÃO.....	<b>81</b>
4.5 CONCLUSÃO.....	<b>86</b>

<b>CAPÍTULO 5</b> .....	<b>87</b>
<i>Acute exercise does not modify brain activity and memory performance in APP/PS1 mice</i>	
<b>CAPÍTULO 6</b> .....	<b>90</b>
Considerações Gerais e Conclusões	
6.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	<b>91</b>
6.2 CONCLUSÕES.....	<b>93</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>94</b>
<b>ANEXOS</b> .....	<b>108</b>
<b>APÊNDICES</b> .....	<b>133</b>

# Capítulo 1

*Interesse pelo tema, introdução, objetivos, delineamento do estudo e revisão de literatura*

## 1 INTERESSE PELO TEMA

O interesse em trabalhar com exercício físico e doença de Alzheimer surgiu como resultado de diferentes vivências e experiências pessoais até o presente momento de minha trajetória acadêmica e de vida. Portanto, acredito que muito do que descreverei a seguir se entrelaçará com minha história de vida e minhas “descobertas” enquanto aluna de graduação do curso de Educação Física.

Durante parte da minha vida e de minha infância, sempre estive muito ligada com meus avós paternos Alcides Stein e Natalina Rossi Stein, que por muito tempo passavam quase o dia todo cuidando de mim e do meu irmão mais novo Renato. Acredito que a partir daí a experiência positiva e agradável em conviver com dois idosos tão especiais me influenciaram certamente na escolha em estudar e querer me aproximar de idosos logo no início do meu curso de graduação. Em 2007 quando ingressei na Unesp, tive a feliz oportunidade de participar de um “recrutamento” de estagiários para o projeto de extensão “Programa de atividade física para a terceira idade” – PROFIT - e escolhi naquele momento trabalhar em uma das atividades oferecidas pelo PROFIT para idosos com doença de Alzheimer, em que havia também um participante que tinha o diagnóstico de esclerose múltipla. No ano anterior ao ingressar na graduação, minha avó havia falecido devido ao diagnóstico de esclerose lateral amiotrófica e no momento do recrutamento, a palavra esclerose foi a grande motivadora de querer saber mais a fundo sobre aquele tema. Lembro que no penúltimo ano de vida de minha avó Natalina, conhecida também por dona Cida, ela participou de algumas sessões de fisioterapia e aí aparecia o exercício físico para reabilitação e saúde em alguém tão próximo de mim. Creio que o interesse em um primeiro momento foi esse: a curiosidade para saber mais sobre uma área de intervenção do profissional de Educação Física no intuito em oferecer à sociedade melhora da qualidade de vida por meio de uma possível área de atuação.

Antes mesmo deste acontecimento, durante meu ensino médio, por vezes refletia sobre os efeitos do exercício físico na saúde mental, uma vez que em minha transição de sedentária à vida ativa, eu sentia melhoras no meu humor, na minha autoimagem e até mesmo resultados positivos na regulação do ciclo circadiano. Me sentia mais disposta, mais bem-humorada, conseguia dormir bem e melhor e pensava na saúde mental, principalmente na adoção do estilo de vida ativo em detrimento ao uso de medicamentos. Minha mãe Marie Uehara Stein também conversava muito comigo a respeito do curso de Educação Física, e as pesquisas relacionadas ao exercício físico e bem-estar. Ela havia trabalhado no Departamento de Educação Física da Unesp anos antes e quando conversávamos, ela me relatava sobre estes achados. Portanto, a



escolha do curso e a inserção no PROFIT foram o início da minha motivação a seguir nesta área de pesquisa.

Logo nos primeiros anos como estagiária do PROFIT que logo mais desmembrou a modalidade para idosos com doença de Alzheimer como um novo projeto de extensão, o “Programa de Cinesioterapia Funcional e Cognitiva para idosos com doença de Alzheimer” – PRO-CDA, tive a oportunidade de escrever resumos e participar de congressos científicos. A vivência positiva, as amizades e todo o aprendizado dentro do Laboratório de Atividade Física e Envelhecimento - LAFE, também foram fundamentais para que eu permanecesse no projeto de extensão e continuasse na carreira acadêmica. Dentro do PRO-CDA fui bolsista BAAE II por duas vezes seguidas, oportunizando o aprendizado administrativo e logístico de um projeto de extensão, do Departamento de Educação Física e da Unesp. No último ano de graduação fui contemplada com uma bolsa de iniciação científica da Fapesp em que tive a oportunidade de investigar sobre o efeito do treinamento com pesos na qualidade de vida e no sono de idosos com doença de Alzheimer e trabalhar com as mestrandas na época Salma Hernandez e Thays Vital, sob orientação do professor Dr. Florindo Stella.

Em 2011, após concluir a graduação, tive uma vivência profissional que me motivou ainda mais a cursar a de pós-graduação. Trabalhei como professora em escolas da rede municipal e naquele ano em particular eu me apaixonei pela carreira, pelo ensino, pela educação. Assim, ingressar na pós-graduação foi unir os interesses na pesquisa, na extensão, no ensino e principalmente na educação de nível superior. Em 2012, a professora Dra. Ruth Ferreira Santos-Galduróz me admitiu como sua aluna de mestrado e sempre me motivou a fazer uma pesquisa com qualidade e relevância, acompanhando o ritmo do LAFE e seguindo muito também dos conselhos dos professores Dr. Sebastião Gobbi e Dr. José Luiz Riani Costa. Para escolha do tema a ser pesquisado na Pós-Graduação, nos inspiramos nos trabalhos inéditos que eram realizados no LAFE e a doutoranda na época Flávia de Gomes Melo Coelho estava desenvolvendo sua tese investigando um novo protocolo de exercício em idosos com doença de Alzheimer e o fator neurotrófico derivado do encéfalo (BDNF). A partir daí, comecei a ler mais sobre biomarcadores da doença de Alzheimer e exercício físico e me interessei muito pelo fator de crescimento semelhante à insulina-1 (IGF-1). Dessa forma, inicialmente, no mestrado foi proposto investigar a resposta aguda ao exercício aeróbio no IGF-1, comparando idosos cognitivamente preservados e idosos com doença de Alzheimer.

Com a realização das disciplinas da pós-graduação e as discussões com os colegas do laboratório, em 2013, decidi criar um grupo de estudos com os colegas do LAFE em que pudessemos discutir artigos, compartilhássemos nossos conhecimentos sobre “Atividade Física

e Saúde Mental.” A partir dali eu sempre buscava ler sobre diversos assuntos que pudessem ampliar e aprofundar minha visão sobre esta temática. Talvez nesses anos foi que eu me descobri enquanto aspirante à pesquisadora, apaixonada pela ciência e por este caminho de busca pela verdade. Durante estes anos iniciais como aluna de mestrado foi possível a publicação de alguns trabalhos como autora e coautora, sempre incentivada pelos professores e colegas de laboratório. Paralelamente ao curso das disciplinas, aos projetos de pesquisa do laboratório, durante a Pós-Graduação pude participar de vários órgãos colegiados dentro da Unesp, como representante discente na comissão de ensino e posteriormente, no Comitê de ética em pesquisa em Humanos, ambos do Instituto de Biociências.

Posteriormente, na metade de 2013, minha orientadora e eu conversamos sobre ampliar meu projeto de pesquisa e arriscar uma bolsa de doutorado direto pela Fapesp. Felizmente, fui também bastante incentivada por amigas e colegas de pós-graduação na época, as doutorandas Flávia Gomes de Melo Coelho, Thays Martins Vital e Iane de Paiva Novais. Ao final deste mesmo ano, tive minha bolsa aprovada, o que me proporcionou o ingresso no doutorado, a realização de um projeto de pesquisa mais aprofundado e com medidas mais refinadas.

Em 2014 realizei minha qualificação do mestrado para pedir transferência ao curso de doutorado e notei que grande parte das referências que usava na escrita de meus textos era de um grupo de Madri, Espanha, coordenado pelo professor Dr. Ignacio Torres-Aléman. Neste mesmo ano, pleiteei uma bolsa institucional para estágio fora do Brasil a ser realizado no laboratório do professor Ignacio e ao início de 2015 fui realizar o estágio no Instituto Cajal. Neste mesmo ano, assumi a representação discente na Comissão permanente de bolsas institucionais no programa de Pós-Graduação em Ciências da Motricidade.

No ano seguinte, fui à Madrid realizar o estágio no exterior durante 1 ano no Laboratório de Neuroendocrinologia em que tive a experiência em trabalhar com modelo animal e outro biomarcador da doença de Alzheimer: o eletrocorticograma. Além disso, pude assistir a palestras de pesquisadores internacionais, apresentar o meu projeto de pesquisa realizado no Brasil e discutir resultados, bem como acompanhar o trabalho de outros profissionais deste laboratório. Foi também nesta oportunidade que pude aprender mais sobre o mundo da ciência e aprimorei os estudos na língua inglesa e espanhola. Esta experiência também foi fundamental para minha formação enquanto pesquisadora.

Dessa forma, a tese aqui apresentada talvez seja uma parte do conhecimento resultante das oportunidades que tive e dos projetos de pesquisa desenvolvidos no Brasil e na Espanha. Acredito que o interesse pelo tema será presente também em minha vida futura e espero que a tese seja parte desta história!

## 2 INTRODUÇÃO

Dados epidemiológicos indicaram que em 1950 haviam 205 milhões de pessoas com 60 anos ou mais no mundo, sendo que projeções indicam que em 2050 esse número chegará a 2 bilhões (UNITED NATIONS, 2002). Este fenômeno poderá implicar, entre outras necessidades, em aumentos nos custos médicos e na demanda por serviços de saúde, uma vez que os idosos são mais vulneráveis a doenças crônicas (UNITED NATIONS, 2002; ALZHEIMER'S DISEASE INTERNATIONAL, 2013).

Com o aumento da população idosa, outras projeções para o ano de 2050 também indicam um aumento do número de idosos considerados dependentes, que pode representar 277 milhões de pessoas (ALZHEIMER'S DISEASE INTERNATIONAL, 2013). Deste número, metade poderá apresentar demência e/ou transtorno cognitivo (ALZHEIMER'S DISEASE INTERNATIONAL, 2013), ou seja, cerca de 138 milhões de idosos. Entre os tipos de demência/transtorno cognitivo, a doença de Alzheimer (DA) é a forma mais comum e representa 60 à 80% dos casos (ALZHEIMER'S ASSOCIATION, 2012).

A DA é caracterizada por declínio progressivo na memória (LOBO et al., 2000), sendo seus marcadores clássicos o acúmulo de placas senis e a formação dos emaranhados neurofibrilares (ADEAR, 2011). Inicialmente, a memória remota na DA apresenta certo tipo de preservação, já a memória recente apresenta maiores comprometimentos. Isso ocorre porque primeiramente há um comprometimento da estrutura cerebral responsável por essa função: o hipocampo, no entanto, outros danos ocorrem no processo crônico da doença, afetando outras estruturas do encéfalo e gerando uma atrofia cerebral generalizada (ADEAR, 2011). Esses danos afetam a vida social e ocupacional do indivíduo (FORLENZA, 2005; ADEAR, 2011), e podem manifestar também alguns distúrbios neuropsiquiátricos e alterações motoras (ANDERSEN et al., 2004; SHIN et al., 2005; STELLA, 2006; YAARI; BLOOM, 2007).

Em 2012, estimou-se que a DA acometeu cerca de 5,4 milhões de pessoas no continente americano, gerando um gasto de 200 bilhões de dólares para seu tratamento (ALZHEIMER'S ASSOCIATION, 2012). Porém, ainda não há cura ou reversão da doença, mas existe uma série de recursos que auxiliam seu tratamento (ADEAR, 2011), como alternativas farmacológicas e não farmacológicas. Sendo que dentre as alternativas não farmacológicas, têm-se o exercício físico (MACHADO et al., 2009; VITAL et al., 2013).

Existem evidências acerca dos benefícios do exercício físico para idosos com DA (TERI et al., 1998; SANTANA-SOSA et al., 2008), e diferentes protocolos de treinamento já foram implementados para esta população. De forma geral, foi observado que o exercício físico pode

promover uma redução e/ou atenuação dos distúrbios neuropsiquiátricos (NAMAZI et al., 1995; McCURRY et al., 2005; STELLA et al., 2011; STEIN et al., 2013), bem como melhora ou manutenção das funções cognitivas (ROLLAND et al., 2000; CHRISTOFOLETTI et al., 2009; COELHO et al., 2009; HERNANDEZ et al., 2010; HERNANDEZ, 2011; STEIN et al., 2013; PEDROSO et al., 2012; COELHO et al., 2013) e efeitos positivos no âmbito da capacidade funcional (SANTANA-SOSA et al., 2008; CHRISTOFOLETTI et al., 2009; GARUFFI et al., 2012; STEIN et al., 2013).

O exercício físico de intensidade moderada tem sido associado a resultados positivos para a população idosa (COTMAN; BERCHTOLD; CHRISTIE, 2007), sendo que entre os tipos de exercício físico, o aeróbio parece ser o mais eficiente quando comparados aos não aeróbios, para promover maiores efeitos na cognição de idosos (KRAMER; ERICKSON, 2007). Porém para idosos com DA, essa mesma ainda não está totalmente consolidada (COELHO et al., 2009), apesar de demonstrados resultados positivos do exercício para esta população.

Diante desses benefícios, a literatura tem apontado alguns mecanismos fisiológicos que podem promover mudanças induzidas pelo exercício físico. Porém, são poucos os estudos que têm analisado os mecanismos envolvidos durante a prática de exercício físico na fisiopatologia da DA (NATION et al., 2011). Segundo estes autores, estudos que investiguem quais seriam os mediadores dos efeitos causados pelo exercício físico na DA podem revelar novos caminhos bioquímicos capazes de modular a fisiopatologia desta doença, indicando abordagens comportamentais e farmacológicas para seu tratamento e prevenção.

Dentro deste contexto, um dos mecanismos putativos à melhora cognitiva induzida pelo exercício físico são os fatores de crescimento. Dentre estes, o fator de crescimento semelhante à insulina-1 (IGF-1) pode estimular a neuroplasticidade (TREJO et al., 2001; FOSTER; ROSENBLATT, KULJIS, 2011) e a angiogênese (LOPEZ-LOPEZ et al., 2004; DING et al., 2006), bem como favorecer a glicorregulação (BAKER et al., 2010), efeitos estes considerados contribuintes ao bom funcionamento cognitivo. Porém, até o presente momento não foram encontrados na literatura, estudos que verificassem o efeito do exercício físico aeróbio nos níveis de IGF-1 e nas funções cognitivas de idosos com DA. Assim, na tentativa de elucidar os supostos mecanismos induzidos pelo exercício físico na DA, cabe ser investigada essa relação, procurando esclarecer algumas respostas provocadas pelo exercício físico na fisiopatologia da doença. Desta maneira, na tentativa de elucidar um suposto mecanismo na DA, esta tese foi estruturada em 6 capítulos, enfatizando como tema central o efeito do exercício na regulação dos níveis de IGF-1 e o desempenho cognitivo na DA.

O Capítulo 1 traz os objetivos, delineamento da tese e hipóteses, além de uma revisão da literatura sobre o tema, que está dividida em cinco tópicos. O Capítulo 2 é um artigo de revisão sistemática que aborda os efeitos da atividade física nos níveis circulantes de IGF-1 em idosos - incluindo idosos cognitivamente preservados e idosos com comprometimento cognitivo leve. O Capítulo 3 buscou comparar a resposta a uma sessão de exercício aeróbio nos níveis plasmáticos de IGF-1 de idosos cognitivamente preservados e idosos com DA. O Capítulo 4 é um estudo longitudinal em que foi verificado o efeito do treinamento aeróbio nos níveis plasmáticos de IGF-1 e nas funções cognitivas de idosos com doença de Alzheimer. O Capítulo 5 traz o estudo realizado no doutorado sanduíche em que foi comparada a atividade encefálica e o desempenho cognitivo de camundongos selvagens e camundongos pré sintomáticos da doença de Alzheimer após uma sessão de exercício aeróbio. Por último, no Capítulo 6 estão dispostas as considerações gerais e as conclusões desta tese.

### **3 OBJETIVOS E DELINEAMENTO DA TESE**

Os objetivos do presente trabalho foram agrupados de acordo com os dois tipos de estudos, designados como Parte 1, Parte 2 e Parte 3.

#### **a) Parte 1: Estudo Exploratório**

##### **Objetivos:**

1. Verificar e comparar os valores basais dos níveis de IGF-1 e as funções cognitivas em idosos preservados cognitivamente e idosos com doença de Alzheimer.
2. Verificar e comparar o efeito de uma sessão de exercício aeróbio (agudo) nos níveis plasmáticos do IGF-1 em idosos preservados cognitivamente e em idosos com doença de Alzheimer.

#### **b) Parte 2: Ensaio Clínico**

##### **Objetivos:**

1. Analisar níveis plasmáticos do IGF-1 após 12 semanas de um programa de treinamento aeróbio em idosos com a doença de Alzheimer.
2. Analisar as funções cognitivas após 12 semanas de um programa de treinamento aeróbio em idosos com a doença de Alzheimer.
3. Verificar possíveis relações entre níveis plasmáticos do IGF-1, variáveis metabólicas (insulina e glicemia) e funções cognitivas após 12 semanas de um programa de treinamento aeróbio.

#### **c) Parte 3: Estudo exploratório em modelo animal**

##### **Objetivos:**

1. Analisar o efeito do exercício aeróbio no padrão na atividade encefálica em camundongos selvagens, camundongos pré sintomáticos da doença de Alzheimer e camundongos com deficiência de IGF-1.
2. Verificar o efeito do exercício aeróbio no desempenho cognitivo em camundongos selvagens e camundongos pré sintomáticos da doença de Alzheimer.

Com o intuito de responder a esses objetivos foram produzidos 4 artigos, apresentados nos capítulos 2, 3, 4 e 5. Nestes quatro artigos estão descritos os procedimentos realizados com a finalidade de responder aos seguintes objetivos:

**Capítulo 2.** Realizar uma revisão sistemática de artigos científicos que investigaram os efeitos do exercício físico nos níveis de IGF-1 e nas funções cognitivas em idosos.

**Capítulo 3.** Verificar e comparar o efeito de uma sessão de exercício aeróbio (agudo) nos níveis plasmáticos do IGF-1 em idosos preservados cognitivamente e em idosos com doença de Alzheimer.

**Capítulo 4.** Verificar o efeito do treinamento aeróbio nos níveis plasmáticos de IGF-1, funções cognitivas e variáveis metabólicas em idosos com doença de Alzheimer.

**Capítulo 5.** Verificar o efeito de uma sessão de exercício aeróbio (agudo) na atividade encefálica e na memória espacial em camundongos selvagens e camundongos pré sintomáticos da doença de Alzheimer.

No **capítulo 6** serão apresentadas as considerações gerais e conclusões finais baseadas nos resultados encontrados em cada capítulo do estudo.

## **4 HIPÓTESES**

### **Parte 1**

- a) Idosos com doença de Alzheimer teriam níveis mais baixos de IGF-1 quando comparados a idosos preservados cognitivamente;
- b) Idosos preservados cognitivamente e idosos com doença de Alzheimer responderiam de maneira diferente ao efeito agudo do exercício aeróbio nos níveis de IGF-1.

### **Parte 2**

- a) Níveis plasmáticos de IGF-1 seriam regulados em decorrência do treinamento aeróbio;
- b) As funções cognitivas dos idosos com DA, do grupo treinamento seriam melhoradas ou mantidas, enquanto o grupo controle teria pior desempenho nos testes cognitivos;
- c) Haveria associação entre níveis plasmáticos de IGF-1, insulina, glicemia e funções cognitivas em idosos com DA.

### **Parte 3**

- a) Camundongos selvagens, com deficiência de IGF-1 e modelos pré sintomáticos da doença de Alzheimer apresentariam diferentes padrões de atividade encefálica antes e depois da sessão de exercício aeróbio (agudo);
- b) Camundongos selvagens e modelos pré sintomáticos da doença de Alzheimer apresentariam diferenças no desempenho cognitivo, sendo que camundongos selvagens teriam desempenho cognitivo superior quando comparado a outrem.



## 5 REVISÃO DE LITERATURA

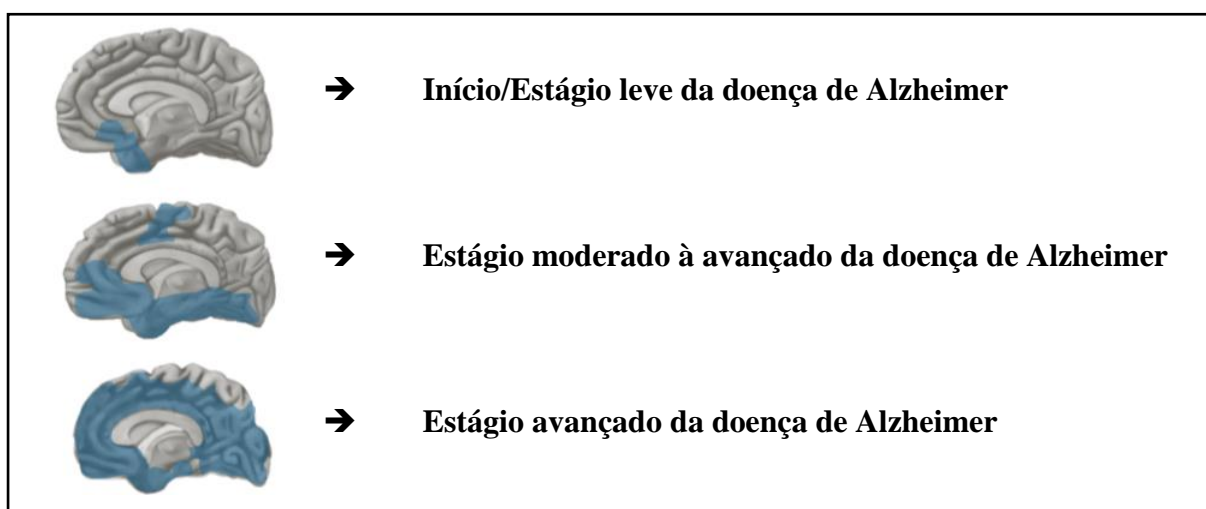
### 5.1 Doença de Alzheimer

A DA é neurodegenerativa, progressiva e irreversível, caracterizada pela deterioração de memória e de outras funções cognitivas, pelo comprometimento progressivo das atividades de vida diária, e pela presença de distúrbios neuropsiquiátricos e de alterações motoras (LOPES et al., 2011; VITAL et al., 2013). Todas estas mudanças diminuem a independência do idoso com DA (VITAL et al., 2013), sendo que esta doença é a principal causa de demência e causa líder de incapacitação entre os idosos (FRATIGLIONI et al., 2000; LOPES et al., 2011).

Os sintomas da doença podem afetar as pessoas de maneiras diferentes, mas o padrão sintomatológico mais comum começa com a piora gradual no armazenamento de novas informações (ALZHEIMER'S ASSOCIATION, 2012). Isso acontece porque logo nos estágios iniciais da doença ocorre uma atrofia do hipocampo – estrutura responsável pelo aprendizado e formação de novas memórias (GAZZANIGA, IVRY, MANGUN, 2006; ALZHEIMER'S ASSOCIATION, 2012), porém o dano neuronal se espalha e os indivíduos começam a apresentar outras dificuldades (ALZHEIMER'S ASSOCIATION, 2012; VITAL et al., 2013).

A seguir uma figura ilustrativa sobre a estrutura acometida no início da doença e as demais regiões cerebrais conforme o avanço da DA:

**Figura 1** – Áreas acometidas na doença de Alzheimer desde o estágio inicial até o avançado. No estágio final, o dano é muito difundido e o tecido cerebral diminuiu significativamente.



Fonte: Adaptado de ADEAR, 2011.

O prejuízo nas funções cognitivas agrava-se de acordo com a progressão da DA. Em cada estágio, em particular, pode ocorrer o aparecimento de prejuízos específicos, sendo que

esses prejuízos se acumulam conforme progressão da doença. No estágio leve da DA, alterações na linguagem, desorientação temporal e espacial, dificuldades para concentrar-se, esquecimentos constantes que interferem na vida diária, comprometimento da aprendizagem e memória recente, entre outros são os mais comuns (ANDERSEN et al., 2004; SHIN et al., 2005; YAARI; BLOOM, 2007; VITAL et al., 2013). Já no estágio moderado, alterações visuoespaciais, piora da linguagem, diminuição da capacidade de julgamento podem ocorrer, sendo que na fase grave da DA, o idoso pode tornar-se incapaz, até mesmo, de reconhecer seus próprios familiares (ANDERSEN et al., 2004; SHIN et al., 2005; YAARI; BLOOM, 2007; VITAL et al., 2013).

Além dos prejuízos cognitivos, a DA implica no aparecimento de distúrbios neuropsiquiátricos, sendo os mais comuns: apatia, depressão e distúrbios do sono (TATSCH et al., 2006). Outros distúrbios neuropsiquiátricos também podem aparecer, entre eles, delírio, alucinação, agitação, agressividade, ansiedade, euforia, apatia, desinibição, irritabilidade, alterações de apetite e vocalizações aberrantes (CUMMINGS et al., 1994)

Juntamente aos sintomas cognitivos e comportamentais, existe uma série de alterações motoras na DA, como: alterações na marcha e no controle postural, diminuição nos componentes da capacidade funcional - força, equilíbrio, coordenação motora, agilidade, flexibilidade, aptidão aeróbia – diminuindo também a mobilidade funcional (ANDRADE et al., 2013). Tais mudanças podem ser observadas nos estágios pré-demenciais, e podem ocorrer ou se agravarem conforme a progressão da doença.

Em relação às características neuropatológicas da DA, existem dois marcadores clássicos identificados há mais de 100 anos:

- 1) Placas amiloides: no meio extracelular, há formação de placas senis ou também conhecidas por placas beta-amiloides ( $A\beta$ ). O aparecimento destas placas é decorrente da clivagem anormal da proteína precursora da amiloide (APP) pelas enzimas gama-secretase e beta-secretase, respectivamente (DAWSON et al., 1999; YAARI; BLOOM, 2007; VITAL et al., 2013). Acredita-se que o acúmulo destes fragmentos de beta-amiloide interfere na comunicação entre os neurônios e, pode contribuir para a morte celular (ALZHEIMER'S ASSOCIATION, 2012).
- 2) Emaranhados neurofibrilares: no meio intracelular, há a hiperfosforilação da proteína *tau*, desestabilizando as paredes dos microtúbulos e gerando a formação dos emaranhados neurofibrilares (VITAL et al., 2013; YAARI; BLOOM, 2007). Tais emaranhados bloqueiam o transporte de nutrientes e de outras moléculas

essenciais para a célula, sendo este processo nocivo também contribuinte à morte celular (ALZHEIMER'S ASSOCIATION, 2012).

Em relação a A $\beta$ , dependendo de onde ela é clivada, pode gerar dois tipos de peptídeos diferentes: A $\beta$ 1-40 ou A $\beta$ 1-42. Ambos são propensos ao acúmulo no meio extracelular, sendo que o peptídeo A $\beta$ 1-40 é mais abundante e o A $\beta$ 1-42 é mais agregante<sup>1</sup> (PERL, 2010). Até agregarem-se em placas, existem vários passos como a formação de monômeros, oligômeros, protofibrilas, fibrilas maduras e finalmente placas A $\beta$ . Ainda não se sabe qual espécie A $\beta$  é a mais tóxica: se são os oligômeros ou as placas ou ainda a combinação de ambos (BENILOVA; KARRAN; STROOPER, 2012).

Para confirmação do diagnóstico de DA, os marcadores fisiopatológicos citados acima – placas A $\beta$  e emaranhados neurofibrilares - podem ser identificados no período *post-mortem* (GROWDON, 1999). Porém, atualmente existem tentativas de incluir no diagnóstico de DA alguns biomarcadores sanguíneos *antemortem*, que podem facilitar a identificação da doença, bem como contribuir para um diagnóstico mais objetivo e precoce em relação ao diagnóstico clínico (CRAIG-SCHAPIRO; FAGAN; HOLTZMAN, 2009).

Por outro lado, apesar da cascata amiloide ser uma marca registrada da DA, a evidência de que ela causa a doença tem se mostrado fraca e corrompível ao longo do tempo. Parece que esta cascata é consequência de mudanças que levam a perdas neuronais e sinápticas. Estudos que utilizaram estratégias para a remoção da A $\beta$  para alterar e/ou barrar o curso da doença, falharam. Uma hipótese seria a de que a diminuição da clivagem de Notch-1 pela presenilina resulta em angiogênese diminuída, diminuição de fluxo sanguíneo e comprometimento da manutenção trófica e função cerebral. O aumento competitivo secundário na clivagem da APP provoca o aumento do peptídeo amiloide (DRACHMAN, 2014).

Ainda não se compreende totalmente o que causa o aparecimento da DA, mas torna-se cada vez mais claro que uma série de fatores genéticos, ambientais e de estilo de vida interage e podem desencadear e/ou se apresentar como fatores de risco para a doença (ADEAR, 2011). Entre os fatores, podem ser citados: histórico familiar, apolipoproteína E- $\epsilon$ 4 (ApoE  $\epsilon$ 4), comprometimento cognitivo leve, doenças cardiovasculares, baixo engajamento social e cognitivo, inatividade física, dieta inadequada, traumatismo craniano e lesão cerebral traumática (ADEAR, 2011; ALZHEIMER'S ASSOCIATION, 2012).

---

<sup>1</sup>Na doença de Alzheimer, quanto mais agregante o peptídeo, maiores as chances da formação de placas.

Entre os fatores modificáveis relacionados ao estilo de vida, Barnes e Yaffe (2011) apontaram que os mais influentes ao aparecimento da DA são, respectivamente: nível de escolaridade, tabagismo e inatividade física. Os autores indicaram que cerca de 13% dos casos de DA no mundo (cerca de 4,3 milhões de pessoas) são atribuídos a inatividade física e ainda concluíram que se ocorresse uma redução de 10% da inatividade física, 1 milhão de novos casos poderiam ser evitados.

## **5.2 Exercício físico, doença de Alzheimer e funções cognitivas**

Segundo Coelho et al. (2009), a prática regular e sistematizada de atividade física contribui para a preservação e/ou melhora temporária de funções cognitivas, sobretudo melhora da atenção, funções executivas e linguagem em idosos com DA. Ainda que estudos tenham demonstrado efeitos positivos na cognição de idosos com DA, a heterogeneidade no desenho experimental não esclarece exatamente o melhor tipo de intervenção, as funções cognitivas afetadas e os mecanismos envolvidos na melhora cognitiva (FARINA; RUSTED; TABET, 2014).

Venturelli, Scarsini e Schena (2011) verificaram que por meio de um programa de caminhada, realizada por pelo menos 30 minutos, cerca de 4 vezes por semana, durante 24 semanas, foi possível manter a função cognitiva global de um grupo de idosos com DA. Neste mesmo estudo, o grupo controle apresentou declínio significativo nas funções cognitivas. Segundo os autores, uma possível explicação para a estabilização temporária das funções cognitivas no grupo treinamento pode ser atribuída a melhorias na circulação sanguínea cerebral e alterações na síntese de neurotransmissores.

Hernandez (2011) verificou que idosos com DA que participaram de um programa de treinamento com pesos realizado 3 vezes por semana, com duração de 60 minutos por sessão em um período total de 16 semanas, foi suficiente para promover benefícios nas funções cognitivas frontais, por meio de manutenção para tais funções. Esta manutenção, ou a não piora, pode ser interpretada como um importante ganho, uma vez que a DA é progressiva e tende a manifestar agravos crônicos (STEIN et al., 2013). Além disso, para reforçar o resultado exposto no estudo de Hernandez (2011), o grupo que não praticou atividade física – Grupo Convívio Social - que frequentou o mesmo local, na mesma frequência e período, apresentou declínio nas funções cognitivas.

Em outros estudos, foi observado que idosos com DA participantes de um programa de exercício físico de caráter multimodal, realizado três vezes por semana, com duração de 60 minutos por sessão em um período total de 16 semanas, tiveram melhora nas funções cognitivas,

sobretudo nas funções executivas, atenção e velocidade do processamento mental (PEDROSO et al., 2012; COELHO et al., 2013).

Em relação ao exercício físico aeróbio individualizado, um estudo realizado por Arcoverde et al. (2014) verificou que idosos no estágio leve da DA submetidos a um programa de exercício, realizado em esteira ergométrica, em intensidade moderada (60% do VO<sub>2</sub> máx), 2 vezes por semana, durante 16 semanas, tiveram melhora da função cognitiva e na capacidade funcional - função cognitiva global, melhora no equilíbrio e diminuição do risco de quedas. Neste mesmo estudo, foi observado o contrário para os idosos com DA do grupo controle, que tiveram declínio na função cognitiva.

Até a presente data, foram aplicados diversos protocolos de treinamento em idosos com DA e também em modelo animal. De maneira geral, foi verificado que o exercício físico pode interferir na produção e acúmulo de A $\beta$  e proteína tau; alterar o número de sinapses e função sináptica; induzir a neurogênese – principalmente no giro denteado do hipocampo; aumentar os níveis de neurotrofinas; alterar positivamente inflamação e função imune; ciclo circadiano e melhorar a função cognitiva (PHILLIPS et al., 2015). Em revisão de literatura, Foster, Rosenblatt e Kuljis (2011), relataram que o exercício físico influencia inúmeros processos cognitivos, sendo o maior impacto nas funções executivas – planejamento, programação, memória de trabalho, processos controlados e multitarefa. Estes autores ainda reforçam que o programa de exercício físico aeróbio seria o mais eficiente (FOSTER, ROSENBLATT, KULJIS, 2011). O treinamento aeróbio induz maior atividade nas regiões frontal e parietal – envolvidas no controle da atenção; bem como parece aumentar o volume da substância cinzenta do cérebro (COLCOMBE et al., 2004; KRAMER, ERICKSON, COLCOMBE; 2006).

Neste mesmo sentido, foi observado que o exercício físico aeróbio é mais eficiente quando comparado ao resistido e flexibilidade para promover maiores efeitos nas funções cognitivas de idosos (KRAMER; ERICKSON, 2007). Os achados de Kramer e Erickson (2007) indicam que programas de exercício aeróbio, em intensidade moderada, praticado 1 hora, 3 vezes por semana, podem ser interessantes para promover efeitos nas funções cognitivas e saúde encefálica. Porém para idosos com DA, ainda não existe um consenso em relação à dose-resposta do exercício (COELHO et al., 2009), apesar de já elucidados os benefícios do exercício físico à esta população.

Na tentativa de elucidar quais seriam os possíveis mecanismos pelos quais o exercício físico induz à melhora/mudanças nas funções cognitivas, existe uma série de hipóteses diferentes e complementares. A literatura tem mostrado mecanismos e mudanças induzidas pelo exercício físico podem ocorrer na DA, entre estes: efeitos de fatores neurotróficos, citocinas

pró-inflamatórias e anti-inflamatórias, alterações na secreção e via de sinalização de insulina, remoção de beta-amiloide, etc (FOSTER; ROSENBLATT, KULJIS, 2011).

Neste mesmo contexto, Deslandes et al. (2009), em um artigo de revisão, sugerem algumas hipóteses neurofisiológicas pelas quais o exercício físico poderia promover melhoras na saúde mental, como: regulação de espécies reativas de oxigênio, liberação de fatores de crescimento, síntese de neurotransmissores, aumento de oxigenação no cérebro e captação de glicose e modificações no fluxo sanguíneo cerebral.

Portanto, um dos possíveis mecanismos putativos à melhora cognitiva induzida pelo exercício físico são os fatores de crescimento. Dentre estes, o fator de crescimento semelhante à insulina - 1 (IGF-1) tem sido apontado como um dos principais mecanismos que produz efeitos funcionais, relacionados à plasticidade, funcionalidade e saúde encefálica (COTMAN; BERCHTOLD; CHRISTIE, 2007; VOSS et al., 2013).

### **5.3 Fator de crescimento semelhante à insulina – 1**

O fator de crescimento semelhante à insulina-1, conhecido pela sigla IGF-1 originada pelo seu termo em inglês *Insulin-like growth factor-I*, recebeu esse nome pelo fato de que sua estrutura é semelhante à da insulina. A insulina e os IGFs são proteínas homólogas, por isso sua semelhança estrutural (CLEMMONS, 2012). Antes de ser descrito, acreditava-se na existência de mediadores endócrinos de crescimento induzidos pelo hormônio de crescimento (GH), denominados somatomedinas ou fatores de crescimento (SALMON; DAUGHADAY, 1957). Anos depois, a estrutura do IGF-1 pode ser observada de forma isolada, mostrando-se muito homóloga a proinsulina e, após sua descoberta os IGFs foram inclusos na superfamília da insulina (RINDERKNECHT; HUMBEL, 1978).

Os fatores de crescimento semelhantes à insulina são polipeptídios constituídos por 70 aminoácidos (FRYSTICK, 2004), cruciais para o desenvolvimento e crescimento de vários tecidos do organismo (WINSTON, NI, AURORA, 2006). Além disso, os fatores de crescimento semelhante à insulina exercem efeitos semelhantes aos da insulina no organismo, como diminuição dos níveis de açúcar no sangue (WINSTON, NI, AURORA, 2006). O IGF-1, portanto, tem sido considerado um dos fatores fundamentais na regulação de várias funções fisiológicas, como regulador de glicose, metabolismo energético e crescimento celular (GASPARINI, XU, 2003).

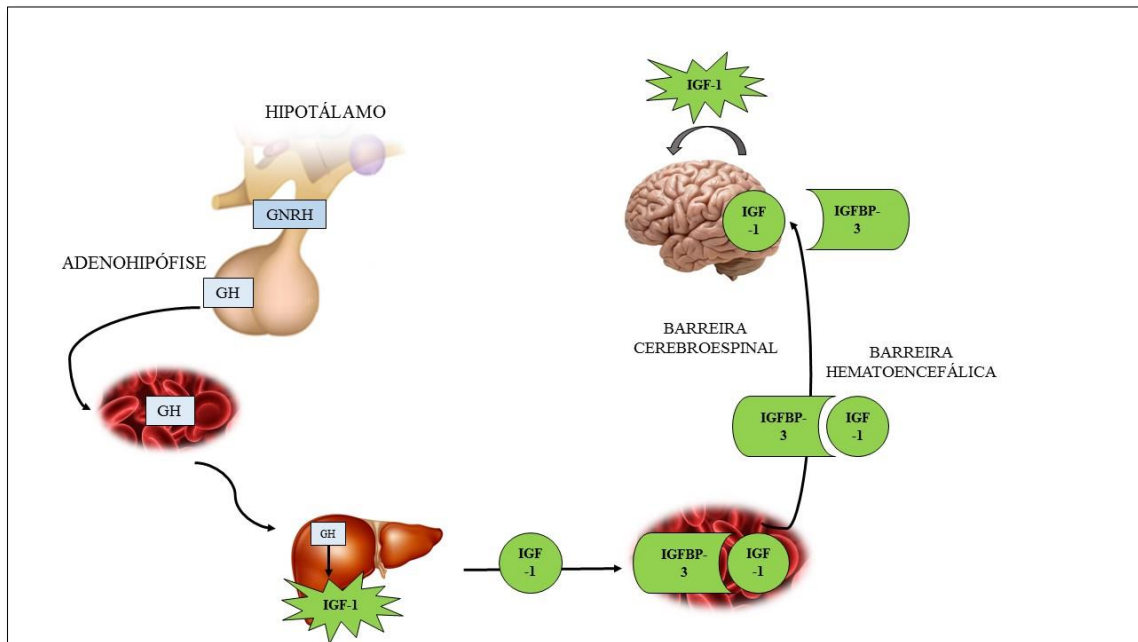
O maior sintetizador de IGF-1, responsável por cerca de 75% do total, é o fígado (SJOGREN et al., 1999; WINSTON, NI, AURORA, 2006). Isto foi demonstrado em animais

nocautes de IGF-1 hepático que tiveram uma redução drástica nos níveis sanguíneos de IGF-1 (YAKAR et al., 1999). Entretanto, o IGF-1 pode ser sintetizado por células de outros tecidos e órgãos (SJROGREN, 1999). Em nível celular, todas as células do organismo respondem ao IGF-1 e ele pode também ser expresso em todas as células, sendo que o IGF-1 pode ser sintetizado tanto de forma endócrina, quanto autócrina/ paracrina (LeROITH et al., 1995). A síntese desse fator de crescimento é regulada por vários fatores, tais como: hormônio de crescimento, ingestão proteico-calórica, estressores catabólicos, insulina, hormônios tireoidianos, afinidade de ligação da subunidade ácido-lábil, sendo o exercício físico também considerado como fator indireto para regulação deste hormônio, principalmente no eixo GH/IGF-1 (ROSEN; POLLAK, 1999). Porém, a síntese de IGF-1 por tecidos periféricos pode ser realizada, independente do GH, respondendo a estímulos fisiológicos ou estímulos nocivos (D'ERCOLE; APPLEWHITE; UNDERWOOD, 1980; ISAKSSON et al., 1987; SCHLECHTER et al., 1986; BARTKE et al., 2003).

No sangue, o IGF-1 é transportado a partir da proteína 3 de ligação ao IGF (IGFBP-3) e uma subunidade ácido-lábil (BAXTER, 2000). Além da IGFBP-3, existem outras isoformas de IGFBPs com alta afinidade para os IGFs e outras IGFBPs com baixa afinidade para os IGFs (FIRTH; BAXTER, 2002). Todas as IGFBPs são expressas no encéfalo, sendo que diferem em quantidade dependendo da região encefálica (YE; D'ERCOLE, 1998). Além disso, a densidade dos receptores de IGF-1 pode ser diferente, dependendo da região encefálica (LICHT et al., 2014). Porém, são principalmente as IGFBPs que irão regular a biodisponibilidade de IGFs, uma vez que apenas o IGF-1 circulante é capaz de interagir com seus receptores na célula.

A figura 2 ilustra parte do processo da síntese de IGF-1 a partir do GH, o transporte de IGF-1 no sangue chegando até mesmo no encéfalo; e também representa a síntese e utilização local do IGF-1 - no encéfalo, no caso.

**Figura 2** – Diagrama do sistema neuroendócrino na secreção de IGF-1 (endócrina), biodisponibilidade por meio do carreador IGFBP-3 e síntese local (parácrina/autócrina).



Fonte: Adaptado de Trueba-Saiz, 2015.

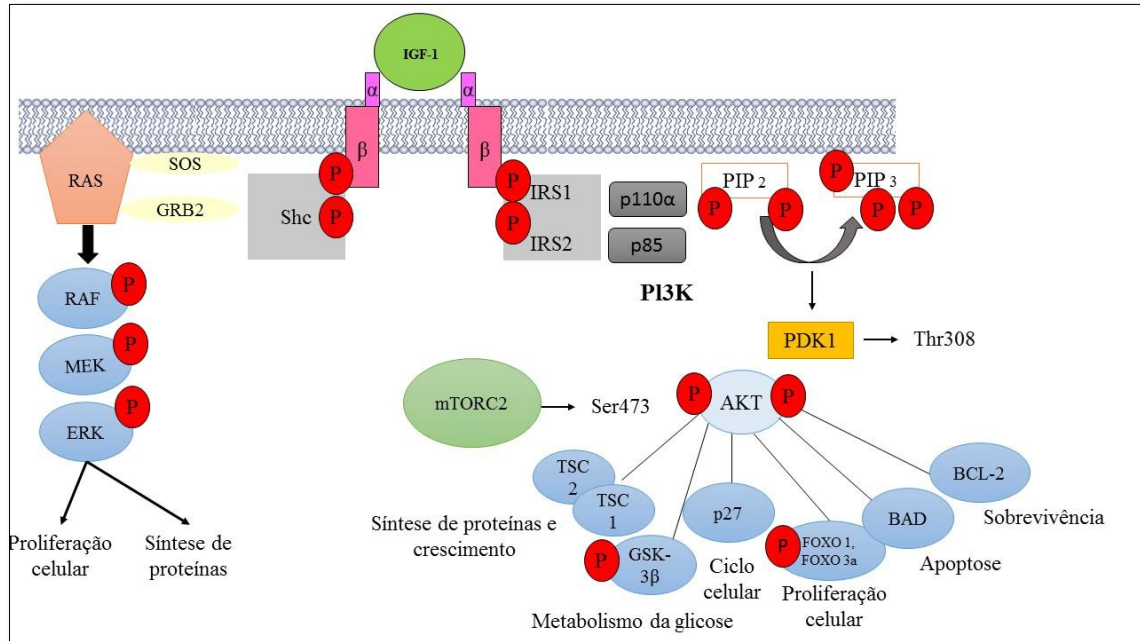
Após transportado no sangue pela IGFBP-3 ou após síntese e uso local, o IGF-1 interage com seu receptor do fator de crescimento semelhante à insulina-1 (IGF-1R). Porém, em relação ao IGF-1, IGF-2 e insulina existe um certo grau de promiscuidade nestes fatores, uma vez que suas estruturas homólogas os permitem interagir com mais de um receptor, ainda que com baixas afinidades. Por exemplo, o IGF-1R também é capaz de ligar-se a insulina e ao IGF-2, porém com menor afinidade que o próprio IGF-1, e este, por sua vez pode interagir com o IGF-2R e o receptor de insulina (IR) (HARRIS; WESTWOOD, 2012).

Em nível celular, o IGF-1 interage com seu receptor IGF-1R na membrana celular. O IGF-1R é um receptor tirosina quinase heterotetramérico constituído por duas subunidades alpha e duas subunidades beta. A interação IGF-1 ao IGF-1R conduz à autofosforilação e recrutamento de proteínas adaptadoras, sobretudo IRS-1, IRS-2 e Shc. A fosforilação de Shc induz a ativação da via MAPK (*mitogen-activated protein kinase*), em torno de 5-10 minutos, que resulta em proliferação celular e síntese de proteínas. Por outro lado, a fosforilação dos substratos IRS-1 e IRS-2 alcança a ligação máxima em aproximadamente 2 minutos e ativa ambas as vias PI3K/AKT (*Phosphoinositide-3-kinase*) e MAPK. A PI3 converte o PIP 2 para o segundo mensageiro lípidico PIP 3. Em seguida, a PDK1 e mTOR ativam a AKT. Esta via de



ativação regula moléculas pró apoptóticas, anti apoptóticas, metabolismo de glicose, síntese de proteínas, ciclo celular e fatores de transcrição (JUNG; SUH, 2015) – Figura 3.

**Figura 3** – Via de sinalização do IGF-1.



Fonte: Adaptado de Jung; Suh, 2015.

Referente aos níveis de IGF-1 em humanos, é conhecido que eles podem variar dependendo do sexo do indivíduo, hormônios e idade (STEYN et al., 2016). Sabidamente os níveis de IGF-1 são dependentes da secreção pulsátil de GH. Em relação ao sexo feminino e masculino, o GH varia no atingimento de pico, frequência pulsátil e liberação de GH, principalmente na puberdade. O estrogênio – hormônio sexual feminino – faz com que pico, frequência e liberação de GH se tornem maiores em mulheres, regulando através de alça longa os níveis de IGF-1 (STEYN et al., 2016). Outrossim que pode influenciar nos níveis de IGF-1 consiste na presença de doença ou alterações metabólicas, como abordados no próximo tópico.

#### 5.4 Fator de crescimento semelhante à insulina – I e doença de Alzheimer

Em adultos de meia idade, estudos têm demonstrado que baixos níveis de IGF-1 representam maior risco de comprometimento cognitivo (LLORENS-MARTÍN; ALEMÁN; TREJO, 2008). O IGF-1, portanto, além de exercer as funções de crescimento durante a fase de desenvolvimento, representa também um importante indicador das funções cognitivas. Porém, com o processo natural de envelhecimento, existe uma diminuição da secreção de GH e IGF-1

e com isso, a proteína carreadora IGFBP-3 também se encontra diminuída, o que faz a biodisponibilidade de IGF-1 decrescer (SAÉZ, 2012). Estudos apontam que a razão IGF-1/IGFBP-3 está inversamente correlacionada com declínio cognitivo (VAN DAM et al., 2000; SOONTAG; RAMSEY; CARTER, 2005).

Concentrações de IGF-1 plasmático mostram-se bastante reduzidas em idosos com DA quando comparados a idosos sem DA e de mesma idade. Além disso, alterações no eixo hipotalâmico-pituitário-adrenal e elevados níveis de cortisol/ sulfato de dehidroepiandrosterona se relacionam com baixos níveis de IGF-1 na DA (SAÉZ, 2008).

Em um estudo realizado por Trejo et al. (2001) foi apontado que o bloqueio da entrada de IGF-1 no cérebro resulta em impedimento na proliferação de neurônios no giro denteado do hipocampo, reforçando o papel deste fator na neurogênese e performance cognitiva (FOSTER; ROSENBLATT, KULJIS, 2011). Além disso, um estudo com ratos demonstrou que o bloqueio de receptores de IGF-1 no plexo coroide desencadeia uma série de distúrbios, como amiloidose, déficit cognitivo, perda de proteína da vesícula sináptica, gliose, e formas anormais da proteína tau, semelhantes aos distúrbios ocorridos na DA (CARRO et al., 2006a).

O IGF-1 parece exercer efeito neuroprotetivo, neurogênese, desenvolvimento, diferenciação, formação de sinapses e utilização de glicose no cérebro (GASPARINI, XU, 2003). O IGF-1 possui a capacidade de ultrapassar a barreira hemato-encefálica e também é produzido no cérebro (GASPARINI, XU, 2003).

Em relação às funções cognitivas, o IGF-1 pode beneficiá-las uma vez que tem propriedade neurotrófica e se opõe ao processo de beta-amilóide e hiperfosforilação da tau (DURON et al., 2012). Em idosos saudáveis, existe uma associação positiva entre níveis séricos de IGF-1 e memória de trabalho, atenção seletiva e funções executivas (BELLAR et al., 2011), sendo que existem densidades diferentes de receptores de IGF-1 no encéfalo e algumas funções cognitivas podem se correlacionar mais com os níveis de IGF-1 que outras (LICHT et al., 2014).

Referente à DA, por outro lado, Vardy et al. (2011) identificaram que idosos com DA possuem mais IGF-1 circulante, mais IGF-1 biodisponível (IGF-1:IGFBP-3) em comparação com um grupo de idosos sem DA. Neste mesmo estudo, os autores não encontraram qualquer interação entre níveis de IGF-1, IGF-1:IGFBP-3 e Apoe  $\epsilon$ 4, bem como não foram observadas correlações entre IGF-1 e IGFBP-3 com função cognitiva no grupo de idosos com DA. Neste sentido, outra evidência acerca do IGF-1 na DA, é a de haver uma resistência a este fator. Mudanças significativas no receptor de IGF-1, no receptor de insulina com alterações na sinalização em IRS-1 e IRS-2 foram observados na DA (MOLONEY et al., 2010). Isto explicaria, em parte, o porque alguns estudos encontram maiores níveis de IGF-1 circulantes

que outros. Esta resistência neuronal a insulina e ao IGF-1 representam o link molecular entre a diabetes mellitus tipo 2 e a DA, considerada a DA como uma diabetes tipo 3 (GIORDANO et al., 2012).

Existe uma interação entre IGF-1 e sinalização de neurotransmissores, sendo que o IGF-1 incrementa a atuação de enzimas, aumentando as funções colinérgicas, catecolaminérgicas e dopaminérgica. Sobretudo, IGF-1 exerce um efeito positivo na sobrevivência neuronal e liberação de acetilcolina em neurônios colinérgicos do hipocampo e córtex - áreas diretamente relacionadas à DA (GIORDANO et al., 2012). Dessa forma, DA pode haver alterações nos níveis de IGF-1 – aumento ou diminuição, comparados a idosos sem DA – e resistência de IGF-1 pelas alterações do seu receptor. Contudo, existem outros fatores que podem ser confundidores neste sentido, obscurecendo mais ainda a relação de níveis de IGF-1 e DA. Agonistas colinérgicos como piridostigmina e rivastigmina – fármacos usualmente utilizados para tratamento terapêutico da DA - são capazes de aumentar a secreção de GH a partir de aumento de GHRH na DA (GIORDANO et al., 2012). Neste sentido, sabendo que os níveis de GH influenciam os níveis de IGF-1, os agonistas colinérgicos quando usados no tratamento podem mascarar os níveis de IGF-1 no curso da doença.

Apesar da crescente literatura acerca da DA, ainda permanece desconhecida a via que explique todas as alterações que ocorrem nesta doença. As alterações bioquímicas, moleculares e celulares que precedem ou ocorrem na DA ainda não tem uma etiologia clara, por isso foram elaboradas uma série de teorias ao desenvolvimento destas anormalidades (MONTE; WANDS, 2008). De certa forma, parece que as deficiências na utilização de glicose em nível cerebral e no metabolismo energético precedem o déficit cognitivo, revelando assim o papel da sinalização da insulina na patogênese da DA e surgindo o termo “diabetes tipo 3” como DA (MONTE; WANDS, 2008).

Em relação às doenças crônicas que podem levar ao aparecimento da DA, sabe-se que pacientes com diabetes *mellitus* do tipo 2 tem duas vezes mais chances de desenvolvê-la quando comparados à pacientes que apresentam resistência à insulina (MITTA; MANI; KATARE, 2016). Neste sentido, o termo diabetes tipo 3 é a denominação da alteração neuroendócrina em relação à progressão da diabetes tipo 2 à DA (MITTA; MANI; KATARE, 2016).

Existem hipóteses que tentam esclarecer como ocorre a conversão da diabetes tipo 2 para a diabetes tipo 3. Neste sentido, a principal hipótese é a de que a expressão aumentada da enzima degradadora de insulina regula os níveis de IGF-1, aumentando a atividade da interleucina 1 beta (IL1B). A IL1B parece formar um complexo com alfa-2-microglobulina, que por sua vez controla a atividade da Apolipoproteína E, esta última envolvida na formação de proteína beta-amilóide (MITTA; MANI; KATARE, 2016).

### **5.5 Fator de crescimento semelhante à insulina 1, doença de Alzheimer, exercício físico e função cognitiva**

Trueba-Sáiz et al. (2013), em estudo experimental recente, defendem a inserção do IGF-1 como um biomarcador a ser incluso no diagnóstico precoce da DA, bem como a inclusão deste fator de crescimento na elaboração de programas de exercício físico.

Estudos em modelo animal têm demonstrado que o IGF-1 além de possuir capacidade neurotrófica também é um mediador da angiogênese induzida pelo exercício, além de ser um estímulo ao aumento, em nível central, do BDNF e maior produção de VEGF (LOPEZ-LOPEZ et al., 2004; DING et al., 2006). Dessa forma, o IGF-1 parece mediar uma resposta neural e vascular induzida pelo exercício físico, uma vez que os fatores de crescimento BDNF e VEGF também estão vinculados aos processos de neurogênese, sinaptogênese e angiogênese.

Em relação ao tipo de treinamento, um estudo com animais divididos em dois grupos de treinamento diferente – aeróbio e resistido – tiveram melhora na função cognitiva (memória e aprendizagem espacial) e aumento nas concentrações de IGF-1 no hipocampo (CASSILHAS et al., 2012). Desta forma, pode ser que independentemente do tipo de treinamento adotado há melhora na função cognitiva e maior concentração de IGF-1 no hipocampo como apontado pelos autores do estudo.

Em um estudo realizado com idosos, foi verificado que o aumento dos níveis de IGF-1 por meio de exercício resistido (treinamento com pesos) promoveu melhora da memória de curto prazo, memória visuoespacial, memória episódica e atenção (CASSILHAS et al., 2007). Já outro estudo em idosos pré-diabéticos verificou manutenção nos níveis de IGF-1 com melhora cognitiva nas funções executivas e processos controlados, sendo essa melhora associada a regulação da glicose por meio do exercício físico de caráter aeróbio (BAKER et al., 2010b). Neste sentido, o exercício físico poderia atuar na regulação de insulina/IGF, prevenindo o organismo ao aparecimento da diabetes, bem como ao controle dessa condição.

Entre os potenciais efeitos do IGF-1 na DA, se por um lado há aumento no número de neurônios ou há uma melhora na plasticidade cerebral, por outro lado esse mesmo fator pode

evitar a apoptose celular, uma vez que entre as funções do IGF-1, está a de proporcionar um sinal para as células de que certo nutriente está disponível para assim evitar apoptose, aumentando a síntese de proteína celular, crescimento e divisão celular (CLEMMONS, 2012).

Além disso, Gasparini e Xu (2003) apontaram que a via insulina-IGF-1 pode ser antagonista aos efeitos do TNF- $\alpha$  no encéfalo, reforçando assim o papel do IGF-1 no *clearance* de A $\beta$ . O IGF-1 tem a capacidade de mediar o transporte de proteínas carreadoras de A $\beta$  - albumina e transtirretina - e elevar a fração desta última no líquido cefalorraquidiano e sangue, por outro lado o TNF- $\alpha$  bloqueia as proteínas carreadoras de A $\beta$  e sua depuração no encéfalo (GASPARINI; XU, 2003).

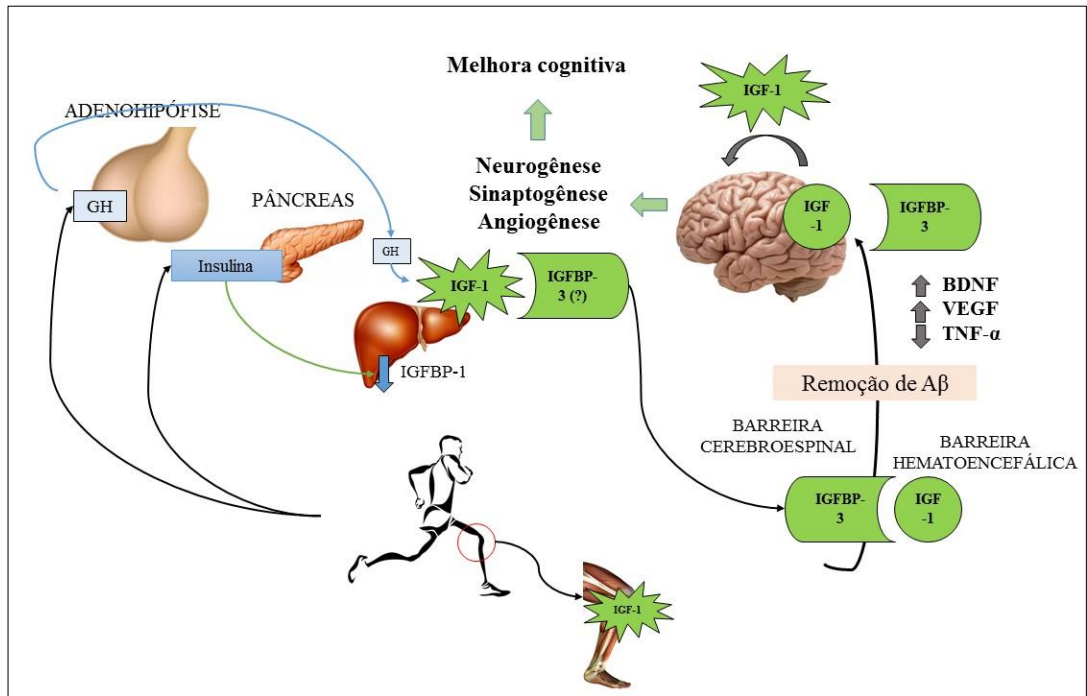
Uma hipótese cada vez mais discutida na literatura tem abordado a “diabetes tipo 3” como uma importante característica atrelada à DA. Em estudo pioneiro realizado por De La Monte et al. (2010), ratos submetidos a privação de insulina no cérebro tiveram formação de placas amiloides e comprometimento neuronal semelhantes à DA.

Dentro desta perspectiva, constata-se que o IGF-1 pode melhorar a saúde encefálica de idosos com DA por meio de mecanismos distintos, sejam eles plasticidade cerebral, prevenção da apoptose celular precoce, melhora do quadro de resistência à insulina e ao IGF-1 no encéfalo, entre outros, sendo que o exercício físico induz à uma melhora e/ou um aproveitamento mais eficaz deste biomarcador.

Além disso, em um estudo de revisão foi observado que o exercício físico é capaz de estimular a secreção de GH pela hipófise, aumentando a síntese de IGF-1 circulante e que o exercício físico, tanto de curta ou longa duração, promove diminuição da proteína inibidora de IGF-1 através da regulação de insulina (FRYSTYK, 2009).

Níveis periféricos circulantes de IGF - 1 são rapidamente aumentados em resposta ao exercício (SCHWARZ et al, 1996). Desta forma, sabendo dos potenciais efeitos do exercício físico sobre esse biomarcador, cabe investigar a resposta de idosos com DA sobre o IGF-1 frente ao exercício físico. Cabe ressaltar que existe uma escassez de estudos que investigaram essa relação para esta população. Já foram realizados estudos sobre o efeito crônico do exercício, porém as amostras foram constituídas por idosos cognitivamente preservados (CASSILHAS et al., 2007; BAKER et al., 2010; VOSS et al., 2013; TSAI et al., 2015).

**Figura 4** – Representação dos potenciais efeitos do exercício físico no IGF-1 em relação à doença de Alzheimer.



Fonte: Elaborada pela autora

## CAPÍTULO 2

*Physical exercise, IGF-1 and cognition: a systematic review of experimental studies in the elderly*

## **PHYSICAL EXERCISE, IGF-1 AND COGNITION: A SYSTEMATIC REVIEW OF EXPERIMENTAL STUDIES IN THE ELDERLY**

Angelica Miki Stein; Thays Martins Vital Silva; Flávia Gomes de Melo Coelho; Franciel José Arantes; José Luiz Riani Costa; Elizabeth Teodorov; Ruth Ferreira Santos-Galduróz

Status: artigo submetido na revista “Dementia and Neuropsychologia”.

### **ABSTRACT**

**Background:** The aim of this study was to analyze the effects of exercise on IGF-1 levels and cognition in the elderly. **Methods:** The articles searches were conducted on Pubmed, Web of Science and PsycINFO databases and were reviewed according to PRISMA guidelines, using: “physical exercise” OR “physical activity” OR “physical therapy” OR “exercise” OR “training” OR “fitness” AND “cognitive functions” OR “cognitive” OR “cognition” AND “insulin-like growth factor 1” OR “IGF-1” AND “elderly” OR “older ” OR “aged”. The inclusion criteria were: (1) original articles published up to 2017; (2) samples including elderly; (3) protocols including physical exercise; (4) randomized controlled trials, randomized non-controlled trials, non-randomized controlled trials, non-randomized and non-controlled trials; (5) assessment of IGF-1 levels; (6) cognition assessment. **Results:** Seven studies were included in this review. Three of them showed an exercise-induced increase on IGF-1 circulating levels and cognitive functions improvement; three verified maintaining IGF-1 levels with and without improvement on cognition; one verified a reduction on IGF-1 levels without any change in cognition. **Conclusion:** Differences due to the type of physical exercise, protocols and samples in different conditions made it more difficult to establish a consensus for the IGF-1 in cognition against the physical exercise.

**Keywords:** Aging; cognition; elderly; exercise; insulin-like growth factor-1; aged; older adults

### **INTRODUCTION**

The confluence of studies in animals and humans about the benefits of physical activity on brain health has been calling attention to the creation of interventions, which means programs that are able to promote and protect brain health and prevent diseases in the elderly population [1,2].

A previous study highlighted some neurophysiological hypotheses in which the physical exercise is able to promote benefits on brain health, such as the regulation of reactive oxygen species, growth factor release, neurotransmitter synthesis, brain oxygenation increase, glucose uptake and changes in cerebral blood flow [3]. Therefore, one of the feasible underlying factors associated with cognitive improvement due to exercise is the growth factor. Some evidence suggest that physical activity and physical exercise influence the brain by circulating growth factors, which cross the blood barrier and modulate several mechanisms for the cognition [4]. Among them, the brain-derived neurotrophic factor (BDNF), insulin-like growth factor-1 (IGF-1) and vascular endothelial growth factor (VEGF) have been indicated as the main factors, since they work as a team to produce functional effects related to plasticity, functioning and brain health [5]. In this context, the IGF-1 seems to be a mediator of the exercise effects on brain health, since that appears to regulate the BDNF and VEGF [5], protecting injuries in the brain, improvement in memory and spatial learning cognitive functions [6].



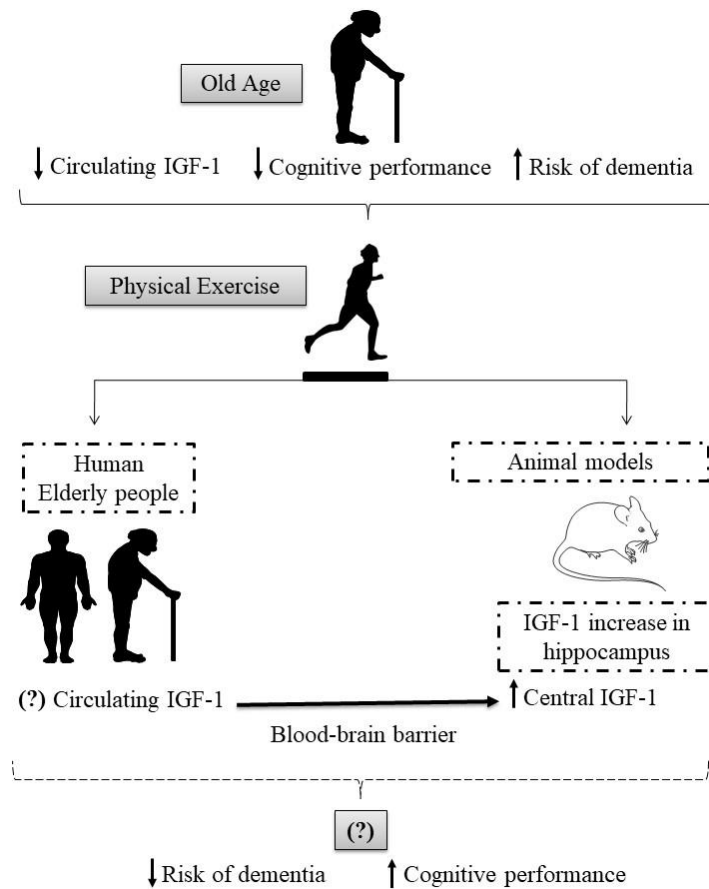
Peripheral IGF-1 levels are quickly increased in humans in response to the physical exercise [7]. This increase seems to play an essential role for exercise-induced neurogenesis [8], memory improvement [5], being a feasible moderator in response to the exercise related to BDNF and cognitive performance [9]. In a previous systematic review, the relationship between physical exercise (moderated aerobic exercise intensity) was observed, which increased BDNF peripheral levels and cognitive improvement in healthy elderly and elderly with different pathologies [10]. Part of the analyzed papers in that review, in addition to the verified BDNF levels, IGF-1 evaluation was included after a training period showing cognitive improvement [11,12] and IGF-1 increased peripheral levels [12].

In studies with elderly, high serum IGF-1 levels were associated with a better cognitive performance [13, 14, 15] while for elderly with cognitive impairment, low IGF-1 levels were related to poor cognitive performance [16]. Moreover, the circulating IGF-1 levels seemed to be associated with cognitive performance in the elderly, in which the hippocampus appeared to be a primary target for IGF-1 [17]. On the other hand, regardless the peripheral increase, there was an exercise-induced increase in hippocampus with improvement on cognitive performance [6]. Accordingly, the relation among physical exercise, cognitive performance and IGF-1 remains unclear, it seems that physical exercise improves cognitive function and regulates IGF-1 levels, but through different mechanisms.

The most part of the IGF-1 secretion is by the liver [18], but IGF-1 can be expressed, virtually, by all cell types, responding to it [19]. Also, the IGF-1 can be synthesized by endocrine, paracrine and autocrine mechanisms [20]. In relation to the nervous system, multiple effects have been attributed to IGF-1, such as neuronal signaling, neurotrophic mechanisms, neuroprotection and even pro-neuroinflammatory conditions [21]. The liver is the main source of circulating IGF-1 [22] and physiologically, circulating IGF-1 has been considered one of the fundamental factors in many regulatory functions, as glucose homeostasis, energetic metabolism and cellular growth [23].

Although it still has not been enlightened the area that IGF-1 acts in the brain. A study carried out by Trejo et al. [8] indicated that blocking the entrance of IGF-1 in the brain resulted in preventing neuronal proliferation on dentate gyrus, reinforcing the role of this factor in neurogenesis [9]. Besides that, the IGF-1 blocked receptors in choroid plexus triggering a chain of disorders such as amyloidosis, cognitive deficits, loss of synaptic vesicle protein, glucose and abnormal forms of tau protein [24]. These disorders are similar to those found in Alzheimer's Disease (AD) [9, 24], which is the type of dementia that affects the elderly population with a higher prevalence [25]. Also, physical inactivity has been considered one of the main risk factor to AD development [26]. Therefore, public health should pay attention to physical exercise programs to prevent dementia on elderly population [27], once the elderly represents a big part of the total population in most of the countries. Studies in animals showed improved cognition exercise-induced by incrementing IGF-1 on hippocampus [6, 28]. Accordingly, it is necessary to investigate the relationship between IGF-1 exercise-induced and cognition in human samples, since clinical field requires resources to treat and prevent dementia and improve health, especially during aging (Figure 1). Thus, the aim of the present study was to analyze studies that verified the effects of physical exercise on IGF-1 levels and cognitive performance in elderly.

**Figure 1** – Hypothetical schema about IGF-1 as putative mechanism related to exercise potential in cognition and prevention to dementia in elderly people.



## MATERIALS AND METHODS

### Search strategy

This systematic review was designed and developed according to Preferred Reporting Items for Systematic reviews and Meta-Analyses (PRISMA) [29]. The methodological plan of this study was to search and analyze studies that verified the effects of physical exercise on the concentration of IGF-1 and cognitive function in the elderly. The bibliographic search was conducted on the following databases: Pubmed, Web of Science and PsycINFO, including articles up to 2017.

The keywords and boolean operators were: “physical exercise” OR “physical activity” OR “physical therapy” OR “exercise” OR “training” OR “fitness” AND “cognitive functions” OR “cognitive” OR “cognition” AND “Insulin-like growth factor 1” OR “IGF-1” AND “elderly” OR “older” OR “aged”.

After the research, the articles were analyzed according to the following: 1) Title analysis; 2) Abstract analysis; 3) Full-text analysis of each article; 4) Articles selection. In addition to the research on the databases, a manual search in the reference list of the selected papers was carried out.

### Inclusion criteria

For the selected articles, some criteria were adopted: (1) original articles published up to 2017; (2) sample including elderly population; (3) protocols including physical exercise; (4) randomized controlled trials, randomized non-controlled trials, non-randomized controlled

trials, non-randomized and non-controlled trials; (5) Assessment of circulating IGF-1 levels; (6) Cognition assessment.

### Studies selection

The whole process of selecting papers was conducted by 2 evaluators (AMS, TMVS), that fulfilled all the steps for the papers selection – from the title to abstract and article analysis. When disagreement between the evaluators related to some article inclusion was found, a meeting was carried out to make a decision. All the articles were reviewed in May of 2017. In addition to that, a registration was made in all databases in case of new articles with the same keywords showed up, so that warning messages were sent to the evaluators.

## RESULTS

After the search for the mentioned keywords, 145 articles were found. In an initial screening, 41 articles were selected by their titles. Then, the articles were analyzed through their abstracts, of which 31 were excluded, remaining 10 articles to have their full-text read. For this systematic review, 7 articles were selected. Thus, no studies from the “warning messages” were included” as the articles did not match the current subject. The figure 1 shows the steps of the articles selection:

**Figure 2** – The PRISMA flowchart of the systematic review.

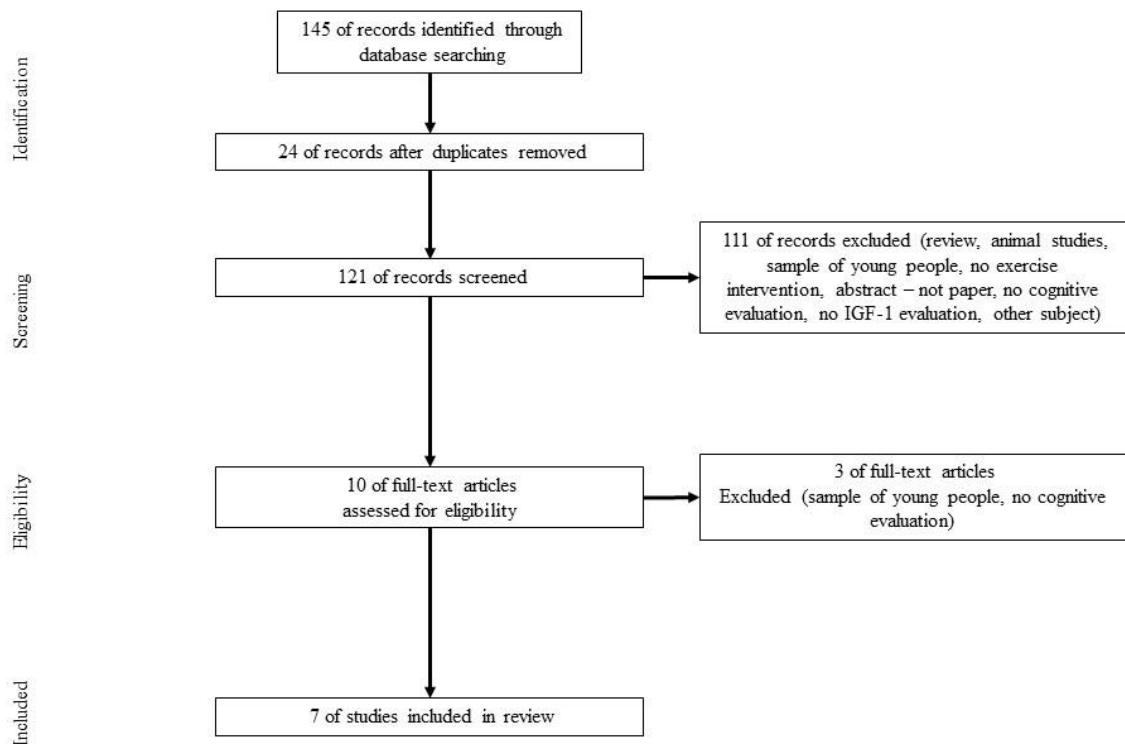


Figure 2 provides information of the selected articles used in this review.

**Table 1** - Characteristics of the studies that analyzed the effects of physical exercise on IGF-1 levels and cognition in the elderly.

Study (year)	Sample	Type of Exercise; Training variables	Intensity; Time/Session; Frequency/Week; Duration	Overload	IGF-1 measurement; Quantified by	Cognition measurement (test)	Results
<b>Cassilhas et al. (2007) [30]</b>	62 male elderly (aged 65 to 75 years) on 3 different groups: Control group, Moderate intensity group and High intensity group	Resistance training; 2 sets of 8 repetitions, 90 seconds between sets for chest press, leg press, vertical traction, abdominal crunch, leg curls, lower back exercises.	50% of 1RM or 80% of 1RM; 60 min; 3 times; 24 weeks	Overload adjustment on week 10, 15, 18 and 21.	IGF-1 serum concentration; Immunoradiometric assay.	Weschler adult intelligence scale III - WAIS III; Wechsler memory scale-revised (WSM-R); Toulouse-Pieron's concentration attention test; Rey-Osterrieth complex figure.	Increased IGF-1 levels and cognitive performance improvement in all tests to Moderate intensity group and High intensity group.
<b>Baker et al. (2010) [12]</b>	28 prediabetic elderly (mean age of 70 years), randomized to: Control group and Aerobic group	Aerobic training; treadmill, stationary bicycle or elliptical trainer	75-85% of heart rate reserve; 45-60 min; 4 times; 24 weeks	NR	IGF-1 plasma concentration; Radioimmunoassay	Trail-making test (Trail A and B); Task Switching; Stroop Color-Word Interference; Self-Ordered Pointing Test; Verbal fluency; Story Recall; List Learning.	Maintained IGF-1 levels and cognitive performance improvement to aerobic group. Improvement on: Trail B; Task switching; Stroop color-word interference and trends in Self-Ordered Pointing test and Verbal Fluency.
<b>Baker et al. (2010) [11]</b>	33 elderly (mean age of 70 years) with amnesic mild cognitive	Aerobic training; treadmill, stationary bicycle or elliptical trainer	75-85% of heart rate reserve; 45-60 min; 4 times; 24 weeks	NR	IGF-1 plasma concentration; Radioimmunoassay	Trail-making test (Trail A and B); Stroop color and Word test; Task Switching;	Increased IGF-1 levels for men in the Aerobic group and improvement on cognition for women

	impairment, randomized to: Control group and Aerobic group.						Verbal fluency; Symbol digit modalities; Story Recall; List Learning; Delayed-Match-To-Sample.	and men (Trail B, Stroop color and word test; Task Switching; Verbal fluency, Symbol-digit modalities), with different responses according to sex.
<b>Voss et al. (2013) [31]</b>	65 elderly (mean age of 67,3 years), randomized to: Control group and Aerobic group	Aerobic training; walking on an indoor track	60-75% of the maximum heart rate reserve, for the most part; 10-40 min; 3 times; 48 weeks	Increment of 5 minutes per session until week 7	IGF-1 serum concentration; enzyme-linked immunosorbent assay	Structural MRI; Functional MRI	Reduction in IGF-1 levels after intervention. Change in IGF-1 levels were correlated with increase in connectivity between the bilateral parahippocampus and the bilateral middle temporal gyrus.	
<b>Tsai et al. (2015) [32]</b>	48 male elderly (mean age of 71.4 ± 3.79 years), randomized to: Control group and Exercise group.	Resistance training; 3 sets of 10 repetitions, 90 seconds between sets for biceps, curls, leg press, triceps extensions, hamstring curls, latissimus dorsi pull-downs, calves raises, and seated rowing.	75-80% 1 RM; 60 min; 3 times; 48 weeks	Individual overload without a fixed period	IGF-1 serum concentration; chemiluminescence immunoassay	Oddball task with event-related potential (ERP) – P3a and P3b	Increased IGF-1 levels and cognitive performance improvement in the Exercise group, in Accuracy rate in the oddball condition, reaction time, P3a larger amplitude and trends to P3b.	
<b>Rahe et al. (2015) [33]</b>	68 elderly (range 50-85 years), randomized to: Cognitive training group;	Multimodal training with cognitive training; Multimodal training with cognitive training + Counseling	NR; 20 min; 2 times; 7 weeks	NR	IGF-1 serum concentration; Chemiluminescence immunoassay and sandwich-	Dem tect.; Complex figure test; Brief test of attention; German WAIS III;	Maintained IGF-1 levels in all groups. Increase in cognitive performance in both groups.	

	Cognitive training with Physical Activity group and Cognitive training + Physical activity + Counseling				chemiluminescence immunoassay.	Regensburger wort flüssigkeits-test; Stroop test; Key search.	
<b>Maass et al. (2016) [34]</b>	40 elderly (mean age of 68.4 years), pseudo-randomized to: Control group and Aerobic group.	Aerobic training, treadmill;	65% target heart rate; 30 min; 3 times; 12 weeks	Increment of 5% target heart rate for 4 weeks	IGF-1 serum concentration; enzyme-linked immunosorbent assay	Verbal learning and Memory test; Rey auditory verbal learning test; Complex figure test; Digit Span Test; Magnetic resonance imaging – high-resolution region-of-interest (ROI)-based and voxel-based morphometry (VBM).	Maintained IGF-1 levels and cognitive performance in the Aerobic group. IGF-1 levels were related to hippocampal volume changes (measured by voxel based-morphometry) and delayed verbal recall performance.

NR: not reported

## DISCUSSION

The aim of this review was to analyze studies that verified the effects of the physical exercise on IGF-1 concentrations and on cognitive functions in the elderly. From the 145 articles found in the database, seven attended the inclusion criteria. This is the first study regarding the relation among IGF-1 levels, cognition and physical exercise in the elderly. Other reviews about the IGF-1 levels and cognition are described, but not including the effects of exercise on them [14,23].

From the seven articles found in the present study, three of them verified an increase in IGF-1 concentrations with cognitive improvement [11, 30, 32]; the other three verified maintenances for this growth factor with and without cognitive improvement [12, 33, 34]; and the remaining study verified a decrease of IGF-1 without improvement on cognition [31]. The same observed that changes in IGF-1 levels were correlated with changes in functional connectivity [31] and Maass et al. (2016) [34] found similar results, the relation among changes in IGF-1 with hippocampal volume, hippocampal head volume and in the delayed verbal learning recall and memory test. The discussion was divided in sub-headings in order to discuss different points related to the studies.

### *Samples and different responses*

Baker et al. [11] and Baker et al. [12] included the same aerobic training and experimental design, differentiating the samples and some measurements. Similar results were found related to cognition improvement in both studies, but not with IGF-1 levels. In this case, the differences probably had relation with the population because the training protocol, IGF-1 quantification and cognitive tests were the same. Despite, the absence of IGF-1 change in one of them, the two studies represented clinical relevance because both samples presented an AD risk-factor. Thus, the positive results on cognition reinforced the role of aerobic exercise as a pretreatment in this disease [1, 35]. In a second instance, besides the difference between samples, there was a difference according to gender. Therefore, the changes on IGF-1 levels are gender-dependent [12, 32]. For healthy elderly men, the study indicated that serum IGF-1 seemed to be associated with working memory, selective attention and executive function [38].

In this review, only two studies are exclusively about gender [30, 32]. Cassilhas et al. [30], Tsai et al. [32] included only elderly men and used the resistance training at 50% and 80% of 1 RM; 75-80% 1 RM, respectively, three times per week during 24 and 48 weeks. The levels of IGF-1 increased in the resistance training group, whereas in the control group, the levels were maintained or unaltered. In all cognitive functions evaluated, Cassilhas et al. [30] found better performance compared to the control group (central executive, visual modality of short-term, attention, short-term, long-term and episodic memory). The study of Tsai et al. [32] also found improvements in cognitive function, specifically executive function and attention. Also, significant changes in accuracy rate, reaction time, P3a amplitude from event-related potential in oddball task – a cognitive test paradigm, was observed. Cassilhas et al. [30] and Tsai et al. [32] hypothesized positive results on cognition modulated by increasing IGF-1 levels. Besides, the sample was composed exclusively of men and the control group of Tsai et al. [32] did not do any regular and systemized physical activity and did not show any changes in cognitive functions, or any other electrophysiological parameter. Another point related to sample and groups was the frequency in Training/Exercise group and control group.

Other observations, resulted from the experimental design of the studies, generated restrictions related to IGF-1 levels, physical exercise and cognitive functions. Cassilhas et al. [30], Voss et al. [31], Tsai et al. [32], Rahe et al. [33] and Maass et al. [34] included healthy elderly in their sample, while Baker et al. [11] and Baker et al. [12] had elderly with other conditions in their sample such as prediabetic and mild cognitive impairment elderly, respectively. The differences between these samples can represent a confounding factor to

analyze the included studies in the present review. Despite the low amount of included studies in this review, one point to be highlighted is that all the experiments were controlled and the sample was randomized, which strengthens the results. Nevertheless, two studies included elderly with cognitive pre-dementia conditions and interesting results were found. Thus, verifying the effect of physical exercise on cognitive function and IGF-1 levels in people who have progressive cognitive decline, as in Alzheimer's Disease, may be a promising field for future studies.

#### *Training variables, cognitive function and IGF-1*

According to the seven studies, five of them inserted aerobic exercise in their intervention protocol [11, 12, 31, 33, 34] and two of them inserted resistance exercise [30, 32]. Voss et al. [31] indicated that the effects of exercise type on circulating growth factors (IGF-1, BDNF and VEGF) are unknown for the elderly. On the other hand, the aerobic exercise has been the most indicated type of exercise to improve cognition in the elderly population [1, 35] and this recommendation can explain why most of the papers included in this review – four out of seven - included aerobic exercise protocols. Regarding their results, the relation between aerobic exercise and cognitive improvement is inconstant, since half of them found better cognitive performance [11,12] after anaerobic training, whereas two studies did not find significant changes in cognition. However, the different responses can be related to different training variables other than only this type of exercise, as well as different outcome measures.

In the first mentioned study by Baker et al. [12], a cognitive improvement was observed in the executive functions and controlled processes for the aerobic group, also a maintenance on IGF-1 levels in the elderly with glucose intolerance was observed. According to the authors, cognitive improvement can be explained by the physical exercise-induced glucose regulation. In a different study, Baker et al., 2010 [11] observed improvement on executive functions in older women with mild cognitive impairment and, for the older men, there was an increase in IGF-1 levels and better cognitive performance in only one cognitive test (Trails B). The authors claimed that cognitive improvement in older women with mild cognitive impairment has been related to cardiorespiratory fitness increase – peak oxygen uptake increase.

Curiously, for the group that practiced aerobic exercise – type of exercise that was most prevalent in the studies – pre-diabetic elderly were the ones who notably had cognitive improvement and maintenance on IGF-1 levels [11]. According to that, an emerging hypothesis has been highlighting diabetes as a preclinical and/or clinical condition to dementia development, especially AD. Researchers indicate that “diabetes type 3” might be linked to the onset of AD symptoms [36]. In the study of De La Monte et al. [37], rats that were subjected to brain insulin deprivation had plaques formation and neuronal impairment similar to AD. Thus, physical exercise could act on insulin/ IGF regulation, preventing the organism from diabetes types 2 and/or 3, as well as the control of this condition. Therefore, if we consider pre-diabetes as a specific clinical condition for cognitive injury, physical exercise can bring benefits insulin regulation and sensitivity. It can explain, in parts, the clear improvement in the study of Baker et al. [11] even with IGF-1 levels held, the physical exercise brought significant benefits for cognition.

In the study of Cassilhas et al. [30], the control group had less frequency in the intervention protocol (once a week), compared to the exercise group (50% and 80% of 1RM) that attended sessions 3 times a week. Similar to Cassilhas et al. [30], Mass et al. [34] adopted a protocol that the exercise and control groups had a different weekly frequency, the first group exercised for 40 min, 3 times a week, whereas the control group did 45 min of muscle relaxation/ stretching twice a week. Thus, the conditions provided by the protocols were not similar, causing a bias in the relation between IGF-1 and cognitive performance. Notably,



offering an activity for the control group can be better in ethical and comparison terms than offering nothing, but we would like to call attention to similar conditions in both groups.

While Yau et al. [42], in a review study, indicated that there is not a unique response in relation to exercise and IGF-1. The authors reported that the IGF-1 in adults, following acute and chronic exercise was contradictory, the acute exercise induced an increase on IGF-1 levels, whereas the chronic exercise induced a maintaining or a decrease on it. Thus, the relation between IGF-1 and physical exercise can be ambiguous [42]. Therefore, apparently the same can occur in elderly people, as we found different responses in chronic exercise. But, regarding time, two studies adopted 12 months of training and the responses in IGF-1 were contradictory [31, 32]. Certainly, more studies are necessary on the current topic.

In a review study, Deslandes et al. [3] indicated that for the IGF-1 increase, resistance exercises seemed to be more effective when comparing to aerobic exercises. In the current review, IGF-1 increased in resistance exercises [30, 32] over aerobic exercises [11, 12, 31, 30, 34]. On the other hand, in a different review published by Kramer and Erickson [1], aerobic exercise seemed to cause better effects on cognitive function than non-aerobic exercise for the elderly.

Regarding the type of training, a study with animals that practiced both types of training – aerobic and resistance – had their cognitive function improved (memory and spatial learning) and an increase on hippocampal IGF-1 levels, while in peripheral measures, only the resistance group had the growth factor improved [6]. Thus, it is possible that apart from the type of training adopted, there was an improvement on cognitive functions through different ways, as indicated by the authors of the mentioned study. In this case, the aerobic exercise increases peripheral and hippocampal BDNF levels, whereas resistance training increases only hippocampal IGF-1 levels. Therefore, the IGF-1 peripheral levels can be derived from these types of exercises and muscle growth [43], not reflecting the IGF-1 central levels. On the other hand, aerobic exercise (moderate treadmill running) in aged rats was capable to increase IGF-1, BDNF and NT3 on hippocampus and improve spatial learning and memory, but not in young rats [28], showing differences related to aging. As we can see, different types of exercise triggered an improvement of different cognitive functions, related or not related to the increase or changes on IGF-1 levels. The previous study showed that aerobic exercise in moderate intensity could increase peripheral BDNF levels with cognitive functions improvement in the elderly [10].

The intensity of exercise seems to be a key factor to improve cognition. Duzel et al. [44] indicated mild to moderate intensity for preserving and improving cognition in elderly people. Regarding intensity, different protocols analyzed in the present review included mild to high intensity and that different intensities can represent a limitation when comparing studies. Only the study of Rahe et al. [33], did not describe the intensity adopted as well as how the exercises were offered, since the exercises included cognitive and counseling training. Furthermore, cognitive group, cognitive + exercise training, cognitive + exercise + counseling had similar responses but only cognitive + exercise training was better than the other two groups in cognitive function gains.

#### *Brain regions and circulating IGF-1*

The study of Maass et al. [34] brings an interesting brain health measurement: the relation between changes in IGF-1 and hippocampus. Although the authors did not verify improvements on cognitive functions and changes in hippocampus volume after 12 weeks of training, the relation among circulating IGF-1 changes, hippocampal volume, hippocampal head volume and delayed verbal learning memory test (VLTM) was evidenced. Voss et al. [31] also analyzed the relation between circulating IGF-1 changes and increases in connectivity bilateral parahippocampus and bilateral middle temporal gyrus. IGF-1 and magnetic resonance

image (MRI) are being considered both important biomarkers related to brain functioning and health [39, 40].

In the study of Voss et al. [31], it was observed that IGF-1 correlates itself to parahippocampal gyrus and middle temporal in the elderly who practiced aerobic exercises. BDNF and VEGF - factors related to cerebral plasticity - provided a similar answer in this gyrus. Thus, the authors deduced that IGF-1 works as a team with the factor mentioned previously and can make the brain connectivity easier. In the same study, the intensity used (60-75% of heart rate reserve) for the aerobic training, which may be considered fairly low and, as indicated by the authors themselves, studies reported that low intensity may reduce serum IGF-1 levels to 9% [31, 41]. Even with a similar result, Maass et al. [34] verified the relation among IGF-1, hippocampal volume and delayed recall of VLMT in all participants of their study – training and control group. Because of it, Mass et al. [34] postulated the relation between IGF-1 levels with hippocampal volume changes and the memory related to hippocampus seemed to occur over time regardless the exercise.

Different from animal studies, it is impossible to measure IGF-1 on hippocampus. Therefore, neuroimaging plus circulating IGF-1 in human samples can reveal how hormones influence in the brain structure and functioning. IGF-1 with other peripheral hormones could be considered a part of a functional organization related to environmental and behavioral adaptation [45]. Also, reduced circulating IGF-1 levels represent a significant factor in the development of cognitive dysfunction [45]. Thus, measuring circulating IGF-1, cognitive functions through neuroimaging and tests are important to understand this relationship and verify the response resulted from therapies/ interventions. Another point was about an optimum IGF-1 level and cognition in healthy elderly, once a study by Tumati et al. [46] demonstrated that average values in serum, measured by an immunometric technique, in middle-aged adults and elderly can be better than higher values. Thus, the IGF-1 level raise related to exercise is not a simple question, since there was an ideal level and regulation on it.

## **CONCLUSION**

Summary, it was not possible to establish a recommended protocol for type, intensity, duration to gain optimum IGF-1 circulating level and increased cognition. However, moderate intensity aerobic training and, moderate and high intensity resistance training may improve circulating IGF-1 and cognition, depending on gender and time duration. Future randomized controlled studies in human samples, including both genders, design variables related to training in similar conditions, comparing aerobic and resistance training are needed to clarify this relationship, as well as intensity, duration and volume.

There seems to be no consensus related to cognitive answer due to modulated IGF-1 concentrations through physical exercise in the elderly. The different protocols used in the studies as well as the heterogeneous samples hamper to establish peripheral IGF-1 answers to physical exercise related to cognitive functions in the elderly. Thus, this mechanism needs to be enlightened and more explored.

### **Conflict of interest statement**

None

### **Sources of funding**

None

## Acknowledgements

Laboratory of Physical Activity and Aging (LAFE), São Paulo Research Foundation (FAPESP, process number 2013/19729-0), Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (CAPES), Fundunesp, PROEX-Unesp.

## REFERENCES

- [1] Kramer AF, Erickson KI. Effects of physical activity on cognition, well-being, and brain: Human interventions. *Alzheimers demt* 2007; 3:S45-S51.
- [2] Phillips C, Akif Baktir M, Das D, Lin B, Salehi A. The link between physical activity and cognitive dysfunction in Alzheimer disease. *Phys Ther* 2015;95:1046-1060.
- [3] Deslandes A, Moraes H, Ferreira C, Veiga H, Silveira H, Mouta R, et al. Exercise and mental health: many reasons to move. *Neuropsychobiology* 2009;59:191–198.
- [4] Lloren-Martín M, Torres-Alemán I, Trejo JL. Growth factors of exercise actions on the brain. *Neuromol Med* 2008;10:99–107.
- [5] Cotman CW, Berchtold NC, Christie L. Exercise builds brain health: key roles of growth factor cascades and inflammation. *Trends Neurosci* 2007;20:464-472.
- [6] Cassilhas RC, Lee KS, Fernandes J, Oliveira MG, Tufik S, Meeusen R, de Mello MT. Spatial memory is improved by aerobic and resistance exercise through divergent molecular mechanisms. *Neuroscience* 2012;202:309-317.
- [7] Schwarz AJ, Brasel JA, Hintz RL, Mohan S, Cooper DM. Acute effect of brief low- and high-intensity exercise on circulating insulin-like growth factor (IGF) I, II, and IGF binding protein-3 and its proteolysis in young healthy men. *J Clin Endocrinol Metab* 1996;81:3492–3497.
- [8] Trejo JL, Carro E, Torres-Aleman I. Circulating insulin-like growth factor I mediates exercise-induced increases in the number of new neurons in the adult hippocampus. *J Neurosci* 2001;21:1628–1634.
- [9] Foster PP, Rosenblatt KP, Kuljis RO. Exercise-induced cognitive plasticity, implications for mild cognitive impairment and Alzheimer’s disease. *Front neurol* 2011;2:1-15.
- [10] Coelho FGM, Gobbi S, Andreatto CAA, Corazza DI, Pedroso RV, Santos-Galduróz RF. Physical exercise modulates peripheral levels of brain-derived neurotrophic factor (BDNF): A systematic review of experimental studies in the elderly. *Arch Gerontol Geriatr* 2013;56:10-15.
- [11] Baker LD, Frank LL, Foster-Schubertc K, Green PS, Wilkinson CW, McTiernanc A, et al. Aerobic Exercise Improves Cognition for Older Adults with Glucose Intolerance, A Risk Factor for Alzheimer’s Disease. *J Alzheimers Dis* 2010;22:569-579.
- [12] Baker LD, Frank LL, Foster-Schubertc K, Green PS, Wilkinson CW, McTiernanc A, et al. Effects of Aerobic Exercise on Mild Cognitive Impairment: A Controlled Trial. *Archives of Neurology* 2010; 67:71–79.
- [13] Rollero A, Murialdo G, Fonzi S, Garrone S, Gianelli MV, Gaggero E, et al. Relationship between cognitive function, growth hormone and insulin-like growth factor I plasma levels in aged subjects. *Neuropsychobiology* 1998;38:73-79.
- [14] Aleman A, Verhaar HJJ, De Haan EH, De Vries WR, Samson MM, Drent ML, et al. Insulin-like growth factor-I and cognitive function in healthy older men. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84:471–475.
- [15] Bellar D, Glickman EL, Juvancic-Heltzel J, Gunstand J. Serum insulin like growth factor-1 associated with working memory, executive function and selective attention in a sample oh healthy, fit older adults. *Neuroscience* 2011;178:133–137.
- [16] Landi F, Capoluongo E, Russo A, Onder G, Cesari M, Lulli P, et al. Free insulin-like growth factor-I and cognitive function in older persons living in community. *Growth Horm IGF Res* 2007;17:58–66.

- [17] Van Dam PS, Aleman A. Insulin-like growth factor-I, cognition and brain aging. *Eur J Pharmacol* 2004;490:87-95.
- [18] Daughaday WH, Hall K, Raben MS, Salmon WD, Van den Brande JL, Wyk JJ. Somatomedin: proposed designation for sulphation factor. *Nature* 1972;107.
- [19] Sjogren K, Liu JL, Blad K, Skrtic S, Vidal O, Wallenuis V, et al. Liver-derived insulin-like growth factor I (IGF-1) is the principal source of IGF-1 in blood but is not required for postnatal body growth in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999;8:7088-7092.
- [20] LeRoith D, Werner H, Beitner-Johnson D, Roberts CT. Molecular and cellular aspects of the insulin-like growth factor I receptor. *Endocr Rev* 1995;16:143-163.
- [21] Sharma AN, da Costa e Silva BF, Soares JC, Carvalho AF, Quevedo J. Role of trophic factors GDNF, IGF-1 and VEGF in major depressive disorder: A comprehensive review of human studies. *J Affect Disord* 2016;197:9-20.
- [22] Le Roith D, Bondy C, Yakar S, Liu J, Butler A. The somatomedin hypothesis: 2001. *Endocr Rev* 2001;22:53-84.
- [23] Gasparini L, Xu H. Potential roles of insulin and IGF-1 in Alzheimer's disease. *Trends Neurosci* 2003;26:404-406.
- [24] Carro E, Trejo JL, Spuch C, Bohl D, Heard JM, Torres- Aleman I. Blockade of the insulin-like growth factor I receptor in the choroid plexus originates Alzheimer's-like neuropathology in rodents: new cues into the human disease? *Neurobiol Aging* 2006;27:1618-1631.
- [25] Valenti R, Pantoni L, Markus HS. Treatment of vascular risk factors in patients with a diagnosis of Alzheimer's disease: a systematic review. *BMC Med* 2014;12:160.
- [26] Norton S, Matthews FE, Barnes DE, Yaffe K, Brayne C. Potential for primary prevention of Alzheimer's disease: an analysis of population-based data. *Lancet Neurol* 2014;13:788-94.
- [27] Kishimoto H, Ohara T, Hata J, Ninomiya T, Yoshida D, Mukai N, et al. The long-term association between physical activity and risk of dementia in the community: the Hisayama study. *Eur J Epidemiol* 2016;31:267-274.
- [28] Vanzella C, Neves JD, Vizuete AF, Aristimunha D, Kolling J, Longoni A, et al. Treadmill running prevents age-related memory deficit and alters neurotrophic factors and oxidative damage in the hippocampus of Wistar rats. *Behav Brain Res* 2017;334:78-85.
- [29] Moher D, Liberati A, Tetzlaff J, Altman DG, The PRISMA group. Preferred reporting items to systematic reviews and meta-analyses: The PRISMA Statement. *PLoS Med* DOI: [10.1371/journal.pmed.100009](https://doi.org/10.1371/journal.pmed.100009).
- [30] Casilhas RC, Viana VR, Grassmann V, Santos RT, Santos RF, Tufik S, Mello MT. The impact of resistance exercise on the cognitive function of the elderly. *Med Sci Sports Exerc* 2007;39:1401-1407.
- [31] Voss MW, Erickson KI, Prakash RS, Chaddock L, Kim JS, Alves H, et al. Neurobiological markers of exercise-related brain plasticity in older adults (2013). *Brain behav immune* 2013;28:90-99.
- [32] Tsai CL, Wang CH, Pan CY, Chen FC. The effects of long-term resistance exercise on the relationship between neurocognitive performance and GH, IGF-1, and homocysteine levels in the elderly. *Front Behav Neurosci* 2015;9:1-12.
- [33] Rahe J, Becker J, Fink GR, Kessler J, Kukolja J, Rahn A, et al. Cognitive training with and without additional physical activity in healthy older adults: cognitive effects, neurobiological mechanisms, and prediction of training success. *Front Aging Neurosci*. DOI: [10.3389/fnagi.2015.00187](https://doi.org/10.3389/fnagi.2015.00187).
- [34] Maass A, Düzel S, Brigadski T, Goerke M, Becke A, Sobieray U, et al. Relationships of peripheral IGF-1, VEGF and BDNF levels to exercise-related changes in memory, hippocampal perfusion and volume in older adults. *Neuroimage* 2016;131:142-154.

- [35] Groot C, Hooghiemstra AM, Raijmakers PGHM, Van Berckel BNM, Scheltens P, Scherder EJA, et al. The effect of physical activity on cognitive function in patients with dementia: A meta-analysis of randomized control trials. *Aging Res Rev* 2016;25:13-23.
- [36] Mittal K, Mani RJ, Katare DP. Type 3 Diabetes: Cross talk between differentially regulated proteins of type 2 Diabetes mellitus and Alzheimer's disease. *Sci Rep* DOI: 10.1038/srep25589.
- [37] De La Monte SM, Tong M, Nguyen VA, Setshedi M, Longato L, Wand J. Ceramide-Mediated Insulin Resistance and Impairment of Cognitive-Motor Functions. *J Alzheimers dis* 2010;21:967–984.
- [38] Bellar D, Glickman EL, Juvancic-Heltzel J, Gunstand J. Serum insulin like growth factor-1 associated with working memory, executive function and selective attention in a sample of healthy, fit older adults. *Neuroscience* 2011;178:133–137.
- [39] Sperling R. The potential of functional MRI as a biomarker in early Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 2011;32:S37-S43.
- [40] Trueba-Saiz A, Cavada C, Fernandez AM, Leon T, González DA, Ormaechea JF, et al. Loss of serum IGF-1 input to the brain as an early biomarker of disease onset in Alzheimer mice. *Transl Psychiatry* DOI:10.1038/tp.2013.102.
- [41] Nishida Y, Matsubara T, Tobina T, Shindo M, Tokuyama K, Tanaka K, Tanaka H. Effect of low-intensity aerobic exercise on insulin-like growth factor-I and insulin-like growth factor-binding proteins in healthy men. *Int J Endocrinol* 2010,1–8.
- [42]. Yau SY, Gil-Mohapel J, Christie BR, So KF. Physical exercise-induced adult neurogenesis: a good strategy to prevent cognitive decline in neurodegenerative diseases? *Biomed Res Int* DOI: 10.1155/2014/403120
- [43] Velloso CP. Regulation of muscle mass by growth hormone and IGF-1. *Br J Pharmacol* 2008;154:557-568.
- [44] Duzel E, van Praag H, Sendtner M. Can physical exercise in old age improve memory and hippocampal function? *Brain* 2016;139:662-673.
- [45] Aléman A, Torres-Aléman I. Circulating insulin-like growth factor I and cognitive function: Neuromodulation throughout the lifespan. *Prog Neurobiol* 2009;89:256-265.
- [46] Tumati S, Burger H, Martens S, van der Schouw YT, Aleman A. Association between cognition and serum insulin-like growth factor-1 in middle-aged & older men: an 8 year follow-up study. *PLoS One*. 11 DOI:10.1371/ journal.pone.0154450.

## CAPÍTULO 3

*Acute exercise increases peripheral IGF-1 in elderly with Alzheimer's disease,  
but not in non-dement elderly*

## ACUTE EXERCISE INCREASES CIRCULATING IGF-1 IN ELDERLY WITH ALZHEIMER'S DISEASE, NOT IN NON-DEMENT ELDERLY

### EXERCÍCIO AERÓBIO AUMENTA IGF-1 CIRCULANTE EM IDOSOS COM DOENÇA DE ALZHEIMER, NÃO EM IDOSOS SEM DEMÊNCIA

Angelica Miki Stein, Thays Martins Vital Silva, Flávia Gomes de Melo Coelho, André Veloso Rueda, Rosana Camarini, Ruth Ferreira Santos-Galduróz

Status: Este artigo está em elaboração, devendo ser analisado pelos coautores, traduzido e por último ainda será eleita a revista em que será submetido.

#### ABSTRACT

**Background:** Insulin-like growth factor I (IGF-1) is considered a putative mechanism to improve cognition and brain health exercise-induced. Studies have been shown the role of IGF-1 in Alzheimer's disease (AD), such as beta-amyloid and hyperphosphorylation clearance. Knowing the potential effects of IGF-1 exercise-induced, a need to investigate the response in AD elderly has been necessary. **Objective:** to verify IGF-1 circulating levels in elderly with AD and non-dement elderly and to compare the responses after acute aerobic exercise. **Methods:** 74 elderly participated in the study, divided in two groups: 40 non-dement elderly and 34 elderly with AD. The outcomes included: IGF-1 plasma levels and the performance in acute exercise. Secondary outcomes included cognitive functions, depressive symptoms, level of physical activity, insulin-resistance and cholesterol. All the participants did the incremental test on a treadmill and the IGF-1 was collected before and after the exercise. **Results:** The independent t-test showed a tendency IGF-1 plasma basal levels to be different and a significative difference between the groups after the acute exercise. The elderly with AD had an increment in circulating IGF-1 levels, whereas non-dement elderly had a decrease in this factor. **Conclusion:** elderly with AD and non-dement elderly responded in different way to acute exercise in IGF-1 circulating levels. This different response may indicate either an IGF-1 resistance or a compensatory response exercise-induced to lower IGF-1 levels in elderly with AD.

**Key-words:** Alzheimer's disease. Insulin-like growth factor I. Aerobic exercise. Acute exercise. Exercise.

### 3.1 INTRODUÇÃO

A transição demográfica, as mudanças no controle sanitário e nos hábitos de higiene sofridas principalmente no último século, modificaram, em grande parte da população as causas de morte e os tipos de doença que a acometem. Atualmente, as doenças crônico-degenerativas associadas ao estilo de vida e à idade têm requerido atenção uma vez que interferem diretamente na qualidade de vida do indivíduo e são alvos de crescente demanda nos sistemas públicos de saúde (WHO, 2015).

Cada vez mais tem sido discutido hábitos de vida saudável para prevenção e/ou controle de doenças crônico degenerativas. Neste sentido, para a doença de Alzheimer (DA) – tipo de

demência mais comum entre a população idosa – o sedentarismo tem sido considerado o terceiro fator de risco para o aparecimento da doença e, estudos têm elucidado os benefícios do exercício físico crônico mesmo para indivíduos que já desenvolveram a doença (BARNES; YAFFE, 2011; PHILLIPS et al., 2015). Entre os efeitos positivos, melhora e manutenção das funções cognitivas, atenuação dos distúrbios neuropsiquiátricos, melhoras nos componentes da capacidade funcional e menor desgaste no cuidador podem ser provocados com a prática de atividade física (STELLA et al., 2011; HERNANDEZ et al., 2015; GROOT et al., 2016). Em contrapartida, ainda pouco se sabe sobre os mecanismos do exercício físico na DA. Da mesma forma, poucos estudos têm investigado as respostas ao exercício agudo nesta doença.

Em um estudo anterior foi verificado que o exercício aeróbio agudo pode melhorar o desempenho cognitivo, promovendo melhora nas funções executivas (BYUN et al., 2014). Da mesma forma, um estudo prévio demonstrou que após uma sessão de exercício aeróbio, idosos com DA apresentaram aumento no fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF), considerado um suposto mecanismo do exercício físico na resposta cognitiva e encefálica. Outro suposto mecanismo é o fator de crescimento semelhante à insulina-1 (IGF-1), porém, na DA os níveis de IGF-1 parecem estar alterados, sendo que este desempenha papel fundamental na neurogênese, desenvolvimento e diferenciação de neurônios no encéfalo, bem como depuração da proteína beta-amilóide e à hiperfosforilação da tau (FOSTER; ROSENBLATT; KULJIS, 2011). Outro achado sobre o IGF-1 e DA está relacionado às mudanças no receptor de IGF-1 e também no receptor de insulina, provocando uma resistência a ambos os hormônios e sendo este quadro denominado como diabetes tipo 3 (MOLONEY et al., 2010; GIORDANO et al., 2012).

Sabe-se que o exercício físico é capaz de otimizar a síntese e uso de IGF-1 no organismo, podendo ser um biomarcador e alvo terapêutico nesta doença. Em idosos sem demência e com comprometimento cognitivo leve, após um período de exercício físico aeróbio e/ou resistido houve melhora na performance cognitiva com alteração dos níveis circulantes de IGF-1 (CASSILHAS et al., 2007; BAKER et al., 2010a; TSAI et al., 2015).

Níveis circulantes de IGF - 1 são rapidamente aumentados em resposta ao exercício. Desta forma, sabendo dos potenciais efeitos do exercício físico sobre esse biomarcador, o objetivo deste estudo foi verificar e comparar as concentrações plasmáticas de IGF-1 circulante e a resposta ao exercício aeróbio de forma aguda em idosos cognitivamente preservados e idosos com DA.



## 3.2 MATERIAIS E MÉTODOS

### Participantes

A amostra foi constituída por idosos de ambos os sexos, com idade igual ou superior a 60 anos e residentes da comunidade na cidade de Rio Claro-SP. Foram recrutados idosos cognitivamente preservados e idosos com diagnóstico clínico de DA, com níveis de gravidade leve, segundo o Escore de Avaliação Clínica de Demência (CDR). A amostra foi pareada por idade e escolaridade.

Baseado no cálculo do poder amostral, com base no poder estatístico de 0,80, foi apontado 36 sujeitos em cada grupo. Participaram do estudo 40 idosos cognitivamente preservados e 34 idosos com diagnóstico clínico de DA (Figura 5).

Para recrutamento da amostra, foram adotados os seguintes critérios:

#### - Critérios de inclusão para os idosos cognitivamente preservados:

- Idosos com mais de 60 anos de idade, de ambos os sexos;
- Idosos preservados cognitivamente segundo o Mini Exame do Estado Mental e as notas de corte propostas por Brucki et al. (2003);
- Disponibilidade para participação das atividades propostas pelo pesquisador;
- Concordar e assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido baseado na Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde.

#### - Critérios de exclusão para os idosos cognitivamente preservados:

- Idosos com doença coronariana, arritmias cardíacas, hipertensão não-controlada e sintomas de angina, ou que tenha qualquer restrição à prática de atividade física;
- Idosos com comprometimento visual, auditivo, síndrome vertiginosa não corrigidos ou outras limitações que dificultem a locomoção.

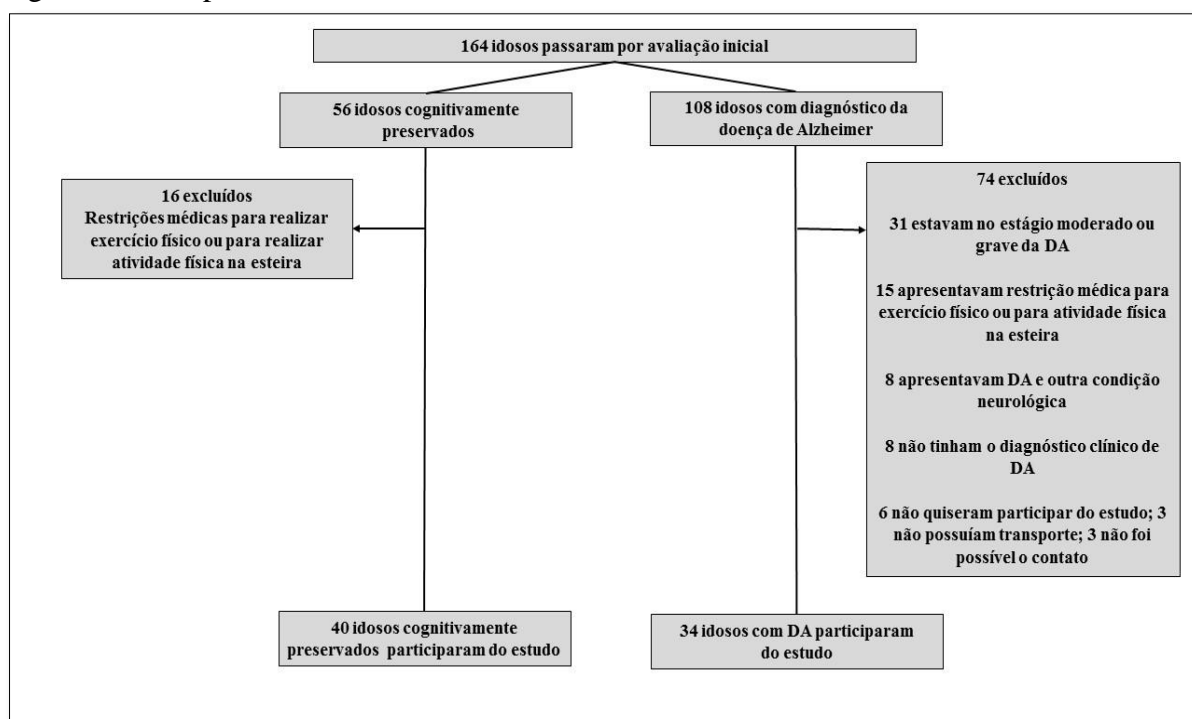
#### - Critérios de inclusão para os idosos com doença de Alzheimer:

- Idosos com mais de 60 anos de idade, de ambos os sexos;
- Idosos com o diagnóstico clínico de Doença de Alzheimer, de acordo com o Manual de Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais (DSM-IV TR) (APA, 2000);
- Nível de gravidade da demência leve, segundo o Escore de Avaliação Clínica de Demência (CDR) (MORRIS, 1993; MONTAÑO; RAMOS, 2005). A adoção deste critério deve-se à natureza dos procedimentos específicos do protocolo de intervenção motora proposto, que exige determinado nível de compreensão das atividades por parte do idoso;
- Disponibilidade para participação das atividades propostas pelo pesquisador;
- Concordar e assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido baseado na Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde.

**- Critérios de exclusão para os idosos com doença de Alzheimer:**

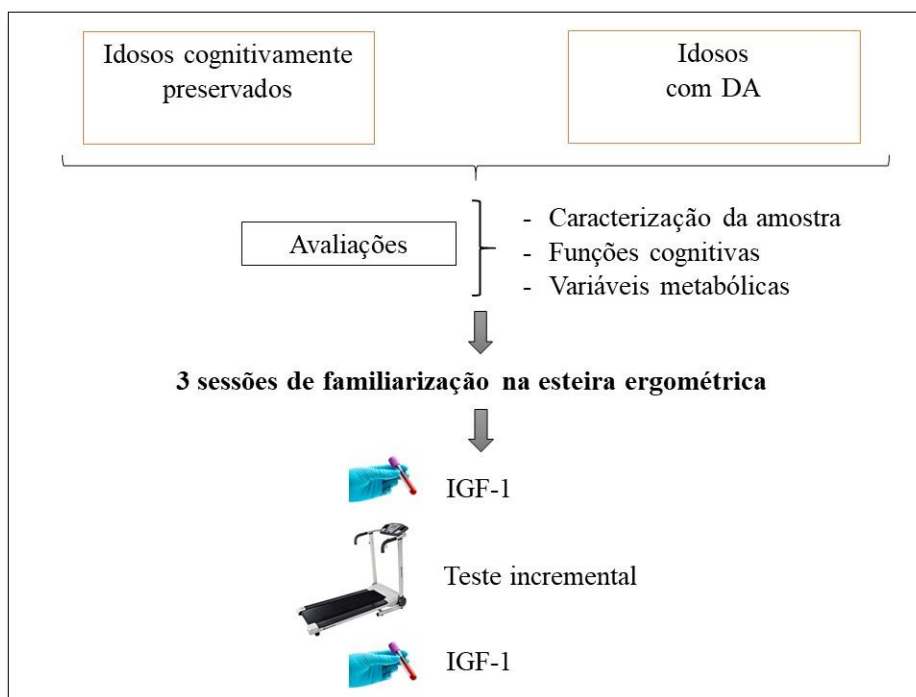
- Idosos com doença coronariana, arritmias cardíacas, hipertensão não-controlada e sintomas de angina, ou que tenha qualquer restrição à prática de atividade física;
- Idosos com comprometimento visual, auditivo, síndrome vertiginosa não corrigidos ou outras limitações que dificultem a locomoção;
- Idosos com outras condições neuropsiquiátricas.

**Figura 5** – Fluxograma do recrutamento e seleção dos idosos com DA e dos idosos cognitivamente preservados.



Após aceitarem o convite para participação no estudo, todos os idosos foram convidados a visitar o Laboratório de Atividade Física e Envelhecimento (LAFE) e realizaram uma bateria de avaliações. Dos procedimentos metodológicos fizeram parte da bateria de avaliações: dados gerais, avaliação neuropsicológica, nível de atividade física, avaliação clínica, níveis plasmáticos de IGF-1 e teste incremental em esteira ergométrica e avaliações bioquímicas. Os dados gerais, avaliação neuropsicológica, avaliação clínica e do nível de atividade física foram utilizados como dados de caracterização da amostra.

**Figura 6** – Delineamento do estudo e etapas de avaliação dos grupos de idosos cognitivamente preservados e idosos com DA.



### Protocolo de Avaliação

A descrição detalhada dos instrumentos utilizados no protocolo de avaliação e a aplicação dos testes pode ser conferida no 789 5.

### Dados gerais

Para dados gerais foi aplicada uma anamnese estruturada (Apêndice 1) sobre as seguintes informações: 1) Dados sócio-demográficos: Idade, gênero, escolaridade, profissão e estado civil; 2) Dados referentes ao estilo de vida: Tabagismo, etilismo, prática de atividade física; 3) Dados clínicos: Doenças associadas, medicamentos em uso (nome e dose diária), estágio da DA e o tempo da doença. Essa anamnese foi respondida pelos idosos cognitivamente preservados e pelos cuidadores dos idosos com DA.

### Avaliação neuropsicológica

Para a avaliação neuropsicológica, foram aplicados os testes cognitivos: **Mini-Exame do Estado Mental** (FOLSTEIN et al., 1977; BRUCKI et al. 2003 – Anexo 1); **Bateria de Avaliação Frontal** (DUBOIS et al., 2000 – Anexo 2); **Teste do Desenho do Relógio** (SUNDERLAND et al., 1989 ATALAIA-SILVA; LOURENÇO, 2008– anexo 3); **Teste de Fluência Verbal Semântica** (LEZAK, 1995; BRUCKI et al. 1997– anexo 4); **Procurar Símbolos Subteste** da

Escala Wechsler de Inteligência para Adultos – III / WAIS-III (Wechsler Adult Intelligence Scale – III; WECHSLER, 2004– anexo 5). Sabidamente os sintomas depressivos interferem na cognição do idoso. Para a identificação desta possível interferência, foi aplicada a **Escala Geriátrica de Depressão** (YESAVAGE et al., 1983 – anexo 6) em ambos os grupos (idosos com DA e idosos preservados cognitivamente).

### **Avaliação clínica**

Exclusivamente para os idosos com DA, foi realizada uma avaliação clínica para identificação do estagiamento da doença pelo **Escore de Avaliação Clínica de Demência** (**Clinical Dementia Rating** – CDR; MORRIS, 1993; MONTAÑO; RAMOS, 2005 – anexo 7), respondida pelos cuidadores.

### **Nível de atividade física**

Para identificação do nível de atividade física da amostra, foi aplicado o **Questionário Baecke Modificado para Idosos** (VOORRIPS et al., 1991– Anexo 8), respondido pelos idosos cognitivamente preservados e pelos cuidadores em relação aos idosos com DA.

### **Variáveis metabólicas**

**Colesterol total e frações, triglicérides, glicemia e insulina** foram obtidos a partir de coleta sanguínea intravenosa em jejum de 12 horas. Para comparar o quadro de resistência à insulina entre o Grupo de idosos cognitivamente preservados e idosos com doença de Alzheimer, foi realizado o cálculo para *Homeostatic model assessment of Insulin Resistance* (HOMA-IR), levando-se em consideração a fórmula:  $HOMA-IR = [(Glicemia \text{ em jejum} \times 0,06) \times \text{Insulina em jejum}] / 22,5$  (WALLACE; LEVY; MATTHEWS, 2004), ajustando-se as unidades de medida para uso deste cálculo.

### **Avaliação da Composição Corporal**

Foram coletados a estatura corporal, o peso corporal e circunferências da cintura e do quadril para obtenção do **Índice de Massa Corporal** (IMC -  $\text{kg/estatura m}^2$ ) e a **Relação Cintura Quadril**. O IMC foi calculado para verificar o perfil da composição corporal do indivíduo. As medidas de circunferência corporal também foram coletadas, sendo bem aceitas na estimativa de distribuição de gordura.

### Teste incremental

Todos os participantes compareceram ao laboratório em pelo menos dois dias alternados, durante uma semana, para familiarização na esteira ergométrica. Após a familiarização, os participantes realizaram um teste incremental submáximo em esteira ergométrica. A avaliação utilizada foi baseada no protocolo de Balke-Ware, que devido aos seus baixos estágios de progressão são mais adequados para os indivíduos idosos (ACSM, 2003). Além disso, neste protocolo ocorre progressão apenas no ângulo de inclinação, ao contrário da velocidade, que permaneceu constante.

O teste de Balke-Ware foi adaptado, no intuito de diminuir os riscos da população estudada. O teste começou com uma carga de trabalho de 3 km/h, com inclinação zero, durante dois minutos de exercício. No início do terceiro minuto, a inclinação foi elevada para 1%, no início do quarto minuto para 2% e no início do quinto minuto para 3%. A partir daí, foi adicionado 1% de inclinação a cada 3 minutos do teste até o idoso atingir a frequência cardíaca referente a 80% da máxima prevista, estimada pela fórmula de Tanaka et al. (2001) -  $FC_{max} = 208 - (0,7 \times \text{Idade em anos})$ , e/ou uma percepção subjetiva de esforço (PSE) acima de 17 na escala de Borg (1982).

Durante o teste, o idoso deveria manter a velocidade constante de 4 km/h e foi permitido segurar nas barras lateral ou frontal da esteira, caso o participante julgasse necessário. A temperatura da sala para condução dos testes foi mantida entre 21° e 23° C. Foram monitoradas antes, durante e após o teste incremental: frequência cardíaca, pressão arterial, percepção subjetiva de esforço (PSE) e sintomas clínicos.

O teste foi interrompido nos seguintes casos:

- Sintoma de mal-estar, dores no peito ou outros fatores que impedissem/interferissem na realização do teste;
- Variação repentina da FC ou da pressão arterial;
- Atingir 80% ou mais de frequência cardíaca em relação a máxima prevista pela fórmula de Tanaka;
- Percepção subjetiva de esforço igual ou superior a 17 na escala de Borg.

Na análise das medidas de aptidão física obtidas por meio do teste incremental, os dados foram padronizados por meio do cálculo do consumo de oxigênio ( $VO_2$ ) obtido a partir de uma fórmula indireta (ACSM, 2010):

$$VO_2 \text{ máx (mL/kg/min)} = (0,1 * \text{Velocidade m/s}) + (1,8 * \text{Velocidade m/s} * \text{grau}) + 3,5$$

### *Lactato*

Entre cada estágio de 3 minutos foram realizadas coletas de amostra de sangue no lóbulo da orelha através de tiras reagentes, que foram analisados por um lactímetro da marca Accutrend Lactate. Todos os dados foram registrados em uma ficha de avaliação do teste incremental (Apêndice 2).

Durante o desenvolvimento deste estudo, a empresa que fabricava as tiras reagentes nos comunicou que as tiras de lactato foram suspensas em sua comercialização. Assim, com o objetivo de mensurar esta variável, foi substituída a análise por meio das tiras reagentes por medidas de lactato através de capilares heparinizados. Diante disso, o procedimento de coleta passou a ocorrer da seguinte forma: Entre cada estágio de 3 minutos foram realizadas coletas de amostra 25µL de sangue no lóbulo da orelha através de capilares heparinizados, que foram colocadas em tubos contendo 400µL de ácido tricloroacético (TCA), armazenadas a 4°C. A concentração sanguínea de lactato foi analisada por meio do método colorimétrico conforme descrito por Engels; Jones (1978). O procedimento consistiu em: as amostras de 25µL de sangue foram depositadas em tubos contendo 400µ L de ácido tricloroacético (TCA) e levemente agitadas para homogeneizar a amostra. Em seguida, as amostras foram centrifugadas por 10 min a 10.000 rpm e 50µL de sobrenadante foi adicionado a 250µL de reativo e incubado durante 60 minutos para posterior leitura a 340nm. Os valores de lactato foram expressos em mmol/l. A preparação do reativo foi realizada com 25mL de estoque de glicina/EDTA (20,2g de glicina + 2,05 de EDTA + qsp de água destilada para 500mL) adicionada a 2,25 mL de hidrato de hidrazina a 24% e ajustado para o pH a 9,54. Então foi adicionado 50mg de Beta-Nicotinamide Adenine Dinucleotide (Sigma Aldrich) e 75µL de Lactato desidrogenase (Sigma Aldrich). Em relação aos participantes, parte da amostra utilizou as tiras reagentes e a outra, os capilares heparinizados na coleta de sangue.

### **Avaliação do IGF-1**

Para análise plasmática do IGF-1 foram coletados 2 momentos: antes e imediatamente após uma sessão de exercício. O participante deveria permanecer sentado durante 30 minutos antes da primeira coleta (*baseline*). O sangue foi coletado em tubos com o anticoagulante EDTA e centrifugado por 20 minutos, a uma rotação de 3000 x g e temperatura de 8°C. Em seguida, as amostras foram armazenadas em um freezer -80° C. Os níveis plasmáticos de IGF-1 foram determinados pelo método de ensaio imuno-enzimático (ELISA) utilizando kit comercial, da marca *R&D Systems Inc.*

### **Aspectos Éticos**

Os cuidadores dos idosos com DA e os idosos cognitivamente preservados participantes do estudo assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Apêndices 3 e 4), segundo as normas estabelecidas pela resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde às pesquisas envolvendo seres humanos. O projeto de pesquisa foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da instituição (nº 4807).

### **Análise estatística**

Para verificar a distribuição dos dados, foi utilizado o teste de normalidade de Shapiro-Wilk. Em caso de distribuição normal, foi utilizada estatística paramétrica e, em caso de distribuição não normal, os dados foram padronizados por escore Z para seguir com a estatística paramétrica. Além disso, casos extremos para os valores de IGF-1 foram excluídos das análises, de acordo com a regra de rotulagem de *outlier* (HOAGLIN; IGLEWICZ; TUKEY, 1986). Os grupos foram comparados utilizando-se o teste *t* de Student para amostras independentes e o teste de Levene para verificar a homogeneidade. O teste qui-quadrado também foi utilizado na comparação de variáveis categóricas entre os dois grupos. Para os valores plasmáticos de IGF-1, os grupos foram comparados a partir do teste *t* de Student. Em relação à resposta ao exercício aeróbio agudo, os valores plasmáticos de IGF-1 foram comparados a partir da Análise de Variância (ANOVA) medidas repetidas, ajustadas por Bonferroni, considerando os momentos Pré e Pós exercício agudo. Também foi calculado o delta ( $\Delta = \text{Valores Pós} - \text{Valores Pré}$ ) analisado pelo teste *t* de Student para amostras independentes. Como os valores de IGF-1 podem ser influenciados pelo sexo foi analisada a resposta entre homens e mulheres preservados cognitivamente e com a DA, para verificar se havia diferenças de acordo com o sexo e grupo por meio da ANOVA medidas repetidas. Após comparação dos grupos, para os testes com valores significativos foi calculado o tamanho do efeito, utilizando-se o Cohen d. Foi admitido um nível de significância de 5% para todas as análises.

## **3.3 RESULTADOS**

De forma geral, para os dados de caracterização da amostra no momento baseline, os grupos mostraram-se homogêneos, com exceção do nível de atividade física; glicemia – valores brutos e classificação; e LDL, considerando a classificação para valores limítrofes, como demonstrado na Tabela 1.

**Tabela 1.** Comparação dos grupos de idosos cognitivamente preservados e idosos com doença de Alzheimer (DA) para variáveis de caracterização da amostra e comparação categórica para sexo feminino e masculino, notas de corte da Escala Geriátrica de Depressão e variáveis metabólicas considerando valores de classificação, expressos em média e desvio padrão (DP).

	<b>Idosos preservados cognitivamente (Média ± DP)</b>	<b>Idosos com DA (Média ± DP)</b>	<b>P</b>	<b>χ<sup>2</sup></b>
<b>Idade (anos)</b>	74,10 ± 4,61	75,97 ± 6,55	0,15	-
<b>Escolaridade (anos)</b>	6,77 ± 4,85	6,48 ± 5,23	0,80	-
<b>Sexo n (%)</b>				
<b>Feminino</b>	29 (72,50%)	18 (52,90%)	-	0,08
<b>Masculino</b>	11 (27,50%)	16 (47,05%)		
<b>Escala Geriátrica de Depressão (pontos)</b>	4,92 ± 4,94	6,73 ± 4,33	0,10	0,20
<b>Questionário Baecke Modificado para Idosos (pontos)</b>	5,32 ± 2,81	2,34 ± 1,62	0,00**	-
<b>Colesterol total (mg/dL)</b>	206,35 ± 31,07	204,06 ± 39,19	0,78	0,8
<b>LDL (mg/dL)</b>	122,88 ± 29,76	129,48 ± 33,11	0,37	0,04*
<b>HDL (mg/dL)</b>	55,75 ± 14,95	51,96 ± 16,72	0,31	0,70
<b>VLDL (mg/dL)</b>	27,72 ± 9,7	26 ± 12,1	0,50	0,70
<b>Triglicérides (mg/dL)</b>	138,52 ± 48,53	122,23 ± 40,21	0,14	0,42
<b>Glicemia (mg/dL)</b>	103,88 ± 31,56	90,51 ± 13,06	0,02*	0,01*
<b>Insulina (uUI/mL)</b>	6,38 ± 3,60	6,87 ± 4,49	0,60	-

\*Diferença significativa (p<0,05). \*\*Diferença significativa (p<0,01). As variáveis Escolaridade, Mini Exame do Estado Mental, Escala Geriátrica de Depressão, Questionário Baecke Modificado para Idosos, Glicemia e Insulina foram padronizadas por Z score.

Em relação às medidas de composição corporal, os grupos também foram semelhantes (Tabela 2). Por outro lado, como esperado, os grupos apresentaram diferença significativa para a maioria dos testes cognitivos. Apenas para o domínio Erros do teste “Símbolos”, os grupos se comportaram de maneira similar (Tabela 3).

**Tabela 2.** Comparação dos grupos de idosos preservados cognitivamente e idosos com doença de Alzheimer (DA) para variáveis de composição corporal, expressos em média e desvio-padrão (DP).

	<b>Idosos preservados cognitivamente (Média ± DP)</b>	<b>Idosos com DA (Média ± DP)</b>	<b>p</b>
<b>IMC (kg/m<sup>2</sup>)</b>	26,94 ± 3,70	25,96 ± 3,21	0,23
<b>Relação cintura-quadril (cm/cm)</b>	0,91 ± 0,07	0,89 ± 0,11	0,43

IMC foi padronizado por Z score.



**Tabela 3.** Comparação do desempenho cognitivo do grupo dos idosos cognitivamente preservados e idosos com doença de Alzheimer (DA), expressos em média e desvio padrão (DP).

	<b>Idosos preservados cognitivamente (Média ± DP)</b>	<b>Idosos com DA (Média ± DP)</b>	<b>p</b>	<b>Cohen d</b>	<b>Effect-size</b>
<b>Mini Exame do Estado Mental (pontos)</b>	27,92 ± 2,12	20,67 ± 3,96	0,00**	2,28	0,75
<b>Teste de Fluência verbal (número de palavras)</b>	11,52 ± 3,82	8,85 ± 3,15	0,00**	0,76	0,35
<b>Teste do Desenho do Relógio (pontos)</b>	9,33 ± 2,10	6,75 ± 2,20	0,00**	1,19	0,51
<b>Bateria de Avaliação Frontal (pontos)</b>	14,92 ± 1,87	10,82 ± 3,29	0,00**	1,53	0,60
<b>Procurar Símbolos – Acertos (número de acertos)</b>	14,64 ± 5,48	8,05 ± 3,78	0,00**	1,39	0,57
<b>Procurar Símbolos – Erros (número de erros)</b>	1,41 ± 1,20	1,88 ± 1,96	0,23	-0,28	-0,14

\*Diferença significativa ( $p < 0,05$ ); \*\*Diferença significativa ( $p < 0,001$ ). Todos os testes cognitivos foram padronizados por Z escore.

Para comparar o quadro de resistência à insulina entre o grupo de idosos cognitivamente preservados e idosos com DA, foi realizado o cálculo do HOMA-IR. Em seguida, os dois grupos foram comparados a partir do teste t de Student para amostras independentes a partir da padronização por escore Z. Em um segundo momento, para esta análise foram excluídos idosos diabéticos e pré-diabéticos que faziam uso de medicamentos para diabetes, com utilização de secretagogos de insulina, sensibilizadores de insulina e moduladores da absorção de nutrientes no trato gastrointestinal, sendo o mais frequente na amostra o uso de Metformina. Após exclusão destes, foi utilizado o teste t de Student para amostras independentes na comparação dos grupos.

A tabela 4 dispõe a frequência da utilização de medicamentos para tratamento para quadro de resistência à insulina e diabetes tipos 1 e 2, para participantes do grupo de idosos cognitivamente preservados pré-diabéticos e diabéticos.

**Tabela 4** – Frequência (%) da utilização de medicamentos para tratamento de quadros pré-diabéticos e diabetes tipo 2 do grupo idosos cognitivamente preservados.

	<b>Pré diabéticos (n=1)</b>	<b>Diabetes tipo 1 (n= 0)</b>	<b>Diabetes tipo 2 (n= 10)</b>
Aglucose	-	-	10%
Cloridrato de Metformina	100%	-	20%
Metformina	-	-	50%
Glibenclamida	-	-	10%
Glibenformina	-	-	10%
Gliconil	-	-	10%
Glifage	-	-	10%

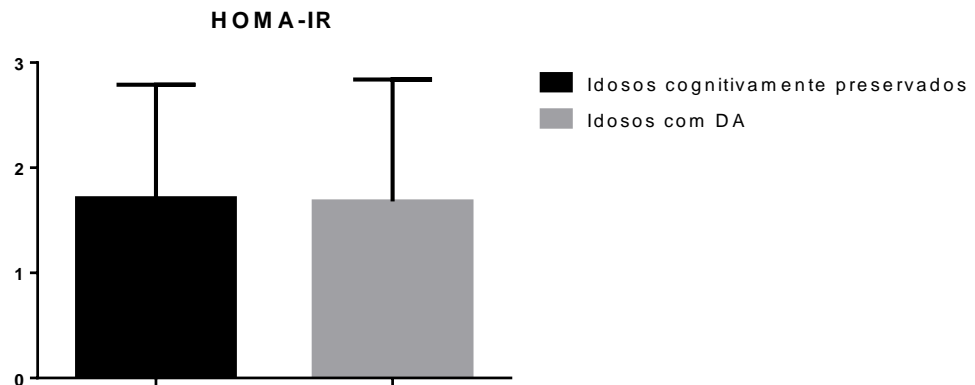
A tabela 5 dispõe a frequência da utilização de medicamentos para tratamento para quadro de resistência à insulina e diabetes tipos 1 e 2, para participantes do Grupo idosos com DA pré-diabéticos e diabéticos.

**Tabela 5** - Frequência (%) da utilização de medicamentos para tratamento de quadros pré-diabéticos e diabetes tipo 2 do grupo com doença de Alzheimer (DA).

	<b>Pré diabéticos (n=2)</b>	<b>Diabetes tipo 1 (n=0)</b>	<b>Diabetes tipo 2 (n= 8)</b>
Metformina	50%	-	75%
Glibenclamida	-	-	12,50%
Glifage	50%	-	25%
Glucosamina	-	-	12,50%

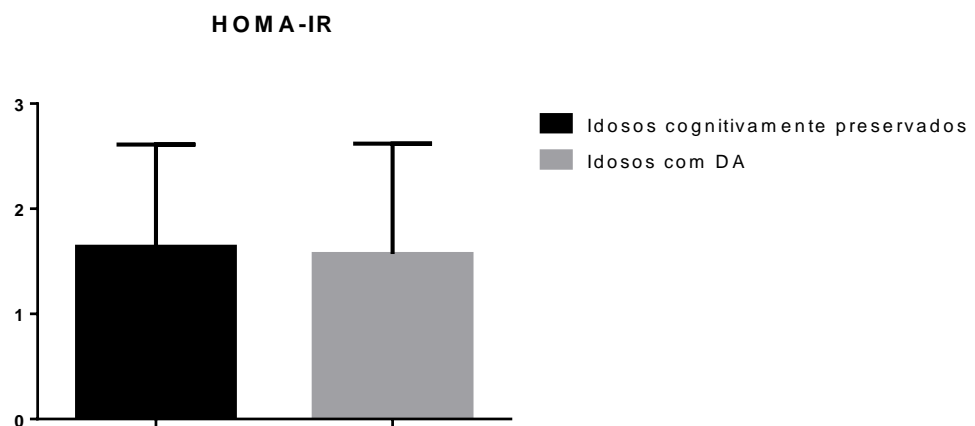
Abaixo, na figura 7, estão ilustrados os valores em média e desvio padrão no índice HOMA-IR do grupo de idosos preservados cognitivamente ( $1,71 \pm 1,08$ ) e grupo de idosos com DA ( $1,68 \pm 1,16$ ). Para esta análise, não foi observada nenhuma diferença significativa entre os grupos ( $p=0,90$ ).

**Figura 7.** Representação gráfica dos valores expressos em média e desvio-padrão de HOMA-IR de idosos preservados cognitivamente e idosos com doença de Alzheimer (DA).



Na figura 8, estão ilustrados os valores em média e desvio padrão no índice HOMA-IR do grupo de idosos cognitivamente preservados ( $1,64 \pm 0,97$ ) e grupo de idosos com DA ( $1,57 \pm 1,05$ ), excluindo os participantes da amostra que utilizavam medicamentos para tratamento de pré diabetes e diabetes. Para esta análise, também não foi observada nenhuma diferença significativa entre os grupos ( $p=0,79$ ).

**Figura 8.** Representação gráfica dos valores expressos em média e desvio-padrão de HOMA-IR de idosos cognitivamente preservados e idosos com doença de Alzheimer (DA), excluindo participantes que utilizavam medicamentos para tratamento de pré diabetes e diabetes.



No que se refere à capacidade aeróbia estimada pelo desempenho no teste incremental, os idosos com DA tiveram desempenho significativamente inferior no teste incremental, já que permaneceram menos tempo no teste, com maior percepção de esforço pela escala de Borg e,

apresentaram tendência a diferença em relação a valores maiores de lactato. Outra diferença encontrada foi no consumo de oxigênio ( $VO_2$ ), sendo que os idosos com DA apresentaram menor capacidade aeróbia quando comparados aos idosos cognitivamente preservados (Tabela 6).

**Tabela 6.** Comparação do desempenho no teste incremental em esteira ergométrica dos grupos de idosos preservados cognitivamente e idosos com doença de Alzheimer (DA)

	<b>Idosos preservados cognitivamente (Média ± DP)</b>	<b>Idosos com DA (Média ± DP)</b>	<b>p</b>	<b>Cohen d</b>	<b>Effect-size</b>
<b>Tempo no teste incremental (min)</b>	20,28 ± 9,14	14,73 ± 7,93	0,00**	0,64	0,30
<b>Percepção subjetiva de esforço (pontos)</b>	12,66 ± 3,51	14,23 ± 2,07	0,02*	0,54	-0,26
<b>Frequência cardíaca (bpm)</b>	116,35 ± 13,47	111,23 ± 18,34	0,17	-	-
<b>Lactato máximo (mmol/L)</b>	2,82 ± 1,15	3,48 ± 1,59	0,05	-	-
<b><math>VO_2</math> (mL/kg/min)</b>	3,77 ± 0,06	3,74 ± 0,05	0,03*	0,49	0,24

\*Diferença significativa ( $p < 0,05$ ) \*\* Diferença significativa ( $p < 0,01$ ). As variáveis Tempo no teste incremental, Percepção subjetiva de esforço e Lactato máximo foram padronizadas por escore Z.

Os níveis plasmáticos do IGF-1 foram obtidos em dois momentos: Pré e Pós, ou seja, antes e imediatamente após a sessão de exercício agudo. Como a distribuição dos dados em relação aos momentos Pré e Pós foi não normal, os valores brutos de IGF-1 foram padronizados por escore Z e em seguida foi realizado o teste *t* de Student para os valores no baseline e a ANOVA medidas repetidas para os valores Pré e Pós.

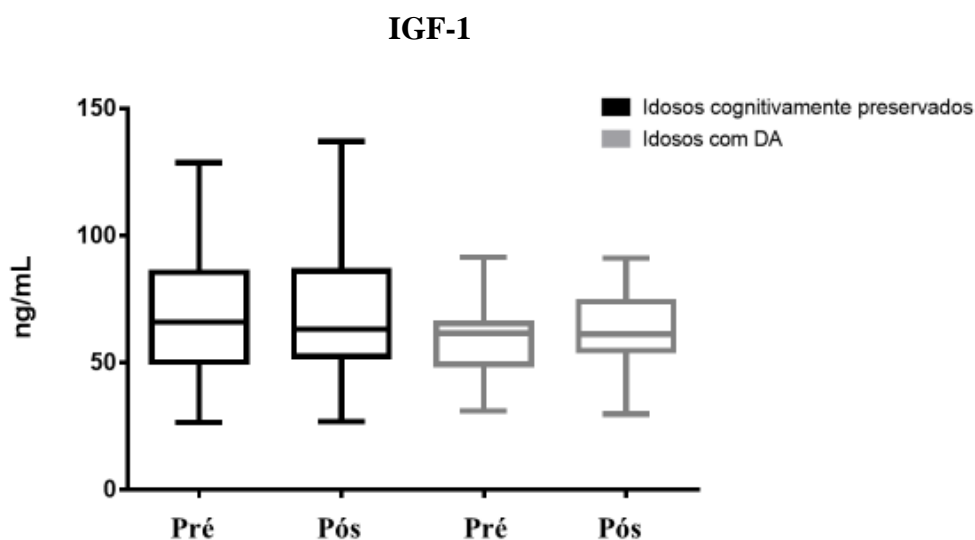
Na tabela 7 estão os valores obtidos no *baseline* (Pré). A figura 9 dispõe os valores das concentrações plasmáticas de IGF-1 para o grupo de idosos cognitivamente preservados e para os idosos com DA Pré e Pós exercício agudo.

**Tabela 7.** – Comparação dos níveis circulantes de IGF-1 no grupo de idosos cognitivamente preservados e idosos com doença de Alzheimer (DA) no momento *baseline* (Pré), expressos em média e desvio-padrão (DP).

	<b>Idosos cognitivamente preservados (Média ± DP)</b>	<b>Idosos com DA (Média ± DP)</b>	<b>p</b>
<b>Baseline (Pré)</b>	68,33 ± 24,58	60,23 ± 13,86	0,08

Valores referente a n=39 idosos preservados cognitivamente e n=31 idosos com DA. Foram excluídos 1 idoso preservado cognitivamente (IGF-1=94,97ng/mL) e 3 idosos com DA por apresentarem outlier para valores altos (IGF-1=118,99 ng/mL; IGF-1= 57,45 ng/mL; IGF-1= 118,99 ng/mL). Os valores de IGF-1 no momento Pré foram padronizados por escore Z.

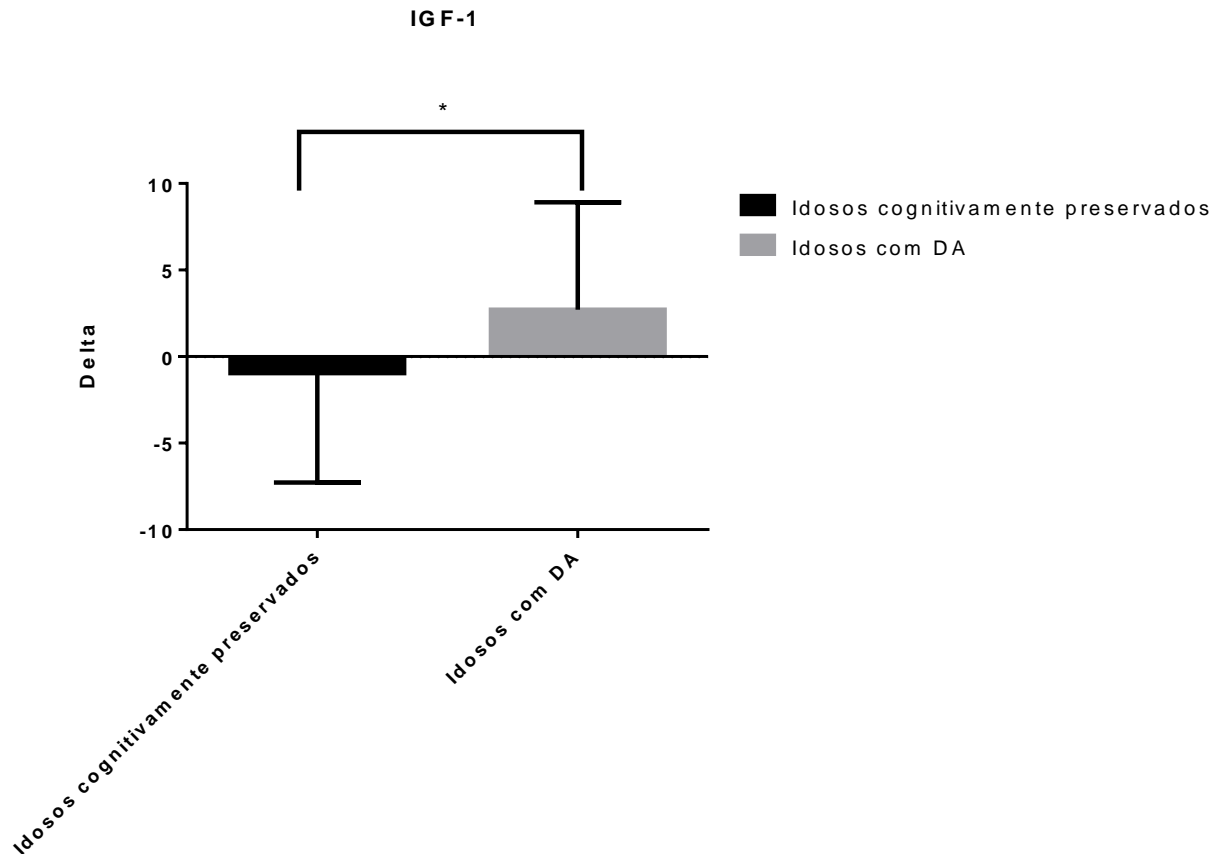
**Figura 9** – Boxplots dos valores Pré e Pós exercício agudo do grupo de idosos cognitivamente preservados e idosos com doença de Alzheimer (DA).



Valores referentes a n=39 idosos cognitivamente preservados e n=31 idosos com DA. Foram excluídos 1 idoso preservado cognitivamente e 3 idosos com DA por apresentarem outlier para valores altos.

A comparação dos valores no *baseline* (Pré), mostraram que houve uma tendência à diferença nos valores de IGF-1 entre os grupos de idosos cognitivamente preservados e idosos com DA. Após a análise pela ANOVA, não foi encontrada diferença significativa, bem como interação entre grupos (Idosos cognitivamente preservados e Idosos com DA), ou momentos (Pré e Pós exercício agudo). Em seguida, a resposta ao exercício agudo em relação aos dois grupos foi verificada a partir da comparação por delta pelo teste t de Student para amostras independentes. A figura 10 abaixo ilustra os valores obtidos dos deltas respectivamente ao grupo.

**Figura 10.** Representação gráfica dos valores delta de IGF-1 de idosos cognitivamente preservados e idosos com doença de Alzheimer (DA) em que foi encontrada diferença significativa.



\*Diferença significativa ( $p < 0,05$ ). Teste *t* de Student para amostras independentes.

**Tabela 8.** – Comparação dos valores de delta de IGF-1 entre o grupo de idosos cognitivamente preservados e idosos com doença de Alzheimer (DA), expressos em média, desvio-padrão (DP) e *effect-size*.

IGF-1 (ng/mL)					
	Idosos cognitivamente preservados (Média ± DP)	Idosos com DA (Média ± DP)	p	Cohen d	Effect-size
<b>Delta</b>	-0,96 ± 6,32	2,71 ± 6,2	0,01*	-0,58	-0,28

Valores referente a n=39 idosos cognitivamente preservados e n=31 idosos com DA. Foram excluídos 1 idoso preservado cognitivamente ( $\Delta$  IGF-1= -25,57 ng/mL) e 3 idosos com DA por apresentarem outlier para valores altos ( $\Delta$  IGF-1= -2,23 ng/mL;  $\Delta$  IGF-1= 29,39 ng/mL;  $\Delta$  IGF-1= -11,72 ng/mL). \*Diferença significativa ( $p < 0,05$ ).

Para comparação dos grupos entre os momentos Pré e Pós exercício agudo, foi calculado o delta, subtraindo os valores do momento Pós menos o momento Pré. Foi encontrada uma diferença significativa entre os grupos, como exposto na figura 10 e na tabela 8. Os grupos responderam de maneira diferente ao estímulo do exercício, sendo que o grupo de idosos com DA apresentou aumento nos níveis de IGF-1 quando comparados ao grupo de idosos cognitivamente preservados.

Em relação ao sexo, foi realizada comparação entre homens e mulheres do grupo de idosos cognitivamente preservados e idosos com DA por meio da ANOVA Medidas repetidas e não foi encontrada nenhuma diferença significativa entre os níveis de IGF-1 (Pré, Pós e Delta). A tabela 9 dispõe dos valores de níveis plasmáticos de IGF-1, separados por sexo, grupo e momento. A comparação por meio da ANOVA medidas repetidas não apontou nenhuma diferença em relação a sexo, grupo e momento.

**Tabela 9.** Comparação dos níveis plasmáticos de IGF-1 entre sexo masculino e feminino dos grupos de idosos cognitivamente preservados e idosos com doença de Alzheimer (DA), expressos em média e desvio-padrão (DP).

Sexo	Idosos cognitivamente preservados						Idosos com DA					
	Masculino			Feminino			Masculino			Feminino		
	Pré	Pós	Delta	Pré	Pós	Delta	Pré	Pós	Delta	Pré	Pós	Delta
<b>IGF-1 (ng/mL)</b>	73,29 ± 28,7	73,62 ± 32,0	0,32 ± 5,3	66,38 ± 23,0	64,9 ± 21,1	-1,46 ± 6,7	59,78 ± 16,2	61,52 ± 17,1	1,74 ± 5,2	60,52 ± 12,6	63,84 ± 12,8	3,32 ± 6,8

Todos os valores de IGF-1 referente aos diferentes sexos e grupos foram padronizados por escore Z. A ANOVA medidas repetidas não apontou efeito significativo de grupo ( $F=0,02$ ;  $p=0,99$ ; poder observado=0,05), momento ( $F=0,64$ ;  $p=0,44$ ; poder observado=0,11) ou interação entre grupo e momento ( $F=0,66$ ;  $p=0,53$ ; poder observado=0,15) na comparação de sexos (masculino e feminino) e entre grupos (Idosos cognitivamente preservados e idosos com Doença de Alzheimer). Foram excluídos 1 idoso preservado cognitivamente do sexo feminino (Pré IGF-1= 94,97ng/mL; Pós IGF-1= 69,4 ng/ mL;  $\Delta$  IGF-1= -25,57 ng/mL); 1 idosos com DA do sexo masculino (Pré IGF-1= 118,99 ng/mL; Pós IGF-1= 116,75 ng/ mL;  $\Delta$  IGF-1= - 2,23 ng/mL), 2 idosos com DA do sexo feminino (Pré IGF-1= 57,45 ng/mL; Pós IGF-1= 86,84 ng/mL;  $\Delta$  IGF-1= 29,39 ng/mL e Pré IGF-1= 118,99 ng/mL; Pós IGF-1 = 107,27;  $\Delta$  IGF-1= -11,72 ng/mL, respectivamente) por apresentarem outlier para valores altos.

### 3.4 DISCUSSÃO

O principal resultado deste estudo mostrou que o exercício físico aeróbio, de maneira aguda, provoca diferentes resultados nos níveis de IGF-1 entre idosos cognitivamente preservados e idosos com DA no estágio leve da doença. Além disso, foi observado que idosos com DA possuem menor capacidade aeróbia quando comparado ao grupo de idosos cognitivamente preservados.

Neste sentido, um outro estudo prévio (COELHO et al., 2014) havia apontado que uma sessão de exercício aeróbio também foi capaz de aumentar níveis de BDNF (*brain-derived neurotrophic factor*) em idosos com DA e idosos saudáveis (sem comprometimento cognitivo) e que os níveis deste fator também estão relacionados ao nível de atividade física de idosos. Em relação a estudos realizados com idosos com DA e efeito agudo do exercício aeróbio, o estudo supracitado foi o único que avaliou algum fator neurotrófico, pelo nosso conhecimento. Vale ressaltar que o BDNF também é um fator neurotrófico relacionado à DA e às funções cognitivas e, estudos apontam que este fator pode ser regulado pelos níveis de IGF-1 (LOPEZ-LOPEZ et al., 2004; DING et al., 2006; COTMAN; BERCHTOLD; CHRISTIE, 2007; VOSS et al., 2013). Segundo Cotman; Berchtold e Christie (2007), o aumento de IGF-1 circulante e de neurotransmissores pelo exercício físico podem mediar a indução de BDNF no hipocampo, bem como de seu receptor TrkB, contribuindo para a função cognitiva. De certa forma, uma hipótese é a possibilidade de haver uma regulação dos níveis de BDNF pelos níveis de IGF-1 e, ainda é possível inferir que este mecanismo pode funcionar de maneira diferente em idosos cognitivamente preservados e idosos com DA: no estudo de Coelho et al. (2014), os níveis de BDNF aumentaram de maneira significativa em idosos com DA e em idosos saudáveis, porém inferior a idosos com DA após exercício aeróbio agudo; por outro lado, como observado no presente estudo, idosos com DA tiveram aumento de IGF-1, porém idosos cognitivamente preservados tiveram decréscimo nos níveis circulantes de IGF-1.

Considerando a tendência à diferença em relação a níveis de IGF-1 no momento baseline, em que o grupo de idosos com DA possuía menores níveis deste fator, também podemos observar que o nível de atividade física pode ter alguma influência nos níveis de IGF-1. A literatura tem relatado que idosos com menores níveis de IGF-1 possuem maior risco de desenvolver demência (WESTWOOD et al., 2014), e por sua vez, idosos com DA possuem menores valores de IGF-1 quando comparados a seus pares sem essa patologia (DURON et al., 2012). Embora não fosse escopo deste estudo verificar a relação entre níveis de IGF-1 e nível de atividade física foi observado que idosos com DA apresentam menor nível de atividade física, bem como menores valores de IGF-1. Sabidamente idosos com DA possuem um baixo



nível de atividade física (LIMA et al., 2010; STEIN et al., 2012), o que pode reforçar a representatividade da atividade física na doença - uma vez que a inatividade física é considerado o terceiro fator de risco modificável para a DA (BARNES; YAFFE, 2011) - e/ou a diminuição do nível de atividade física causada pelas mudanças advindas pela DA – causa líder de incapacitação entre os idosos (FRATIGLIONI et al., 2000; LOPES et al., 2011). Desta forma, idosos com menor nível de atividade física podem desenvolver com maiores chances a doença de Alzheimer e a pontuação obtida no Questionário Baecke Modificado para idosos reforça esta questão, uma vez que este questionário é um recordatório de atividade física realizada no último ano e parte da amostra tinha 1 ano ou menos tempo de diagnóstico.

Comumente, a própria DA faz com que o idoso seja menos ativo, uma vez que o idoso passa a depender de cuidadores para ajudá-lo a realizar atividades de vida diária mais simples até outras mais complexas (STORTI et al., 2016). Outro dado que pode reforçar este achado é que os idosos com DA tiveram desempenho inferior no teste incremental quando comparados a idosos cognitivamente preservados. Praticamente em todas as variáveis obtidas no teste incremental, o desempenho dos grupos foi significativamente diferente. De forma geral, idosos com DA permaneceram por menor tempo no teste, apresentaram percepção de esforço mais acentuada e tiveram menor consumo de oxigênio, ou seja, tiveram uma pior aptidão física, principalmente capacidade aeróbia, quando comparados a idosos cognitivamente preservados. Em relação a este achado, podemos fazer algumas observações: 1) a prescrição de exercícios para idosos com DA necessariamente deve ser diferente da prescrição de exercícios para idosos cognitivamente preservados; 2) a aptidão física pode ser um indicativo de função cognitiva.

Sobre a primeira observação, é importante destacar que embora existam recomendações generalizadas para a prescrição de exercício físico para idosos com DA, ainda é de fundamental importância que sejam investigadas minuciosamente as mudanças nos componentes da capacidade funcional acarretadas com a doença. Desta forma, não somente é necessário seguir os princípios do treinamento, bem como conhecer mais a fundo estas mudanças para uma prescrição de prática segura de exercícios físicos nesta população.

Sobre a segunda observação, a literatura tem relatado que idosos com maior aptidão física apresentam melhor desempenho cognitivo (COLCOMBE et al., 2004; COLCOMBE et al., 2006). Em confluência a esta observação, outros estudos apontam que outras habilidades podem ser um sinal da DA, como por exemplo, a marcha (BEAUCHET et al., 2016). Ou seja, ainda que na amostra somente houvessem idosos com DA, é importante observar que não somente o equilíbrio e a marcha podem estar afetados com a doença, mas a aptidão física também pode ser um indicativo do declínio dos componentes da capacidade funcional.

O estilo de vida inativo, os fatores de risco cardiovasculares, obesidade e índices de glicemia e insulina são considerados determinantes para o desenvolvimento da DA. Dessa forma, o índice HOMA-IR poderia trazer um indicativo acerca do quadro de resistência à insulina da amostra avaliada, porém, no presente estudo nenhuma diferença significativa entre o grupo de idosos cognitivamente preservados e idosos com DA foi observada. Era esperado que idosos com DA apresentassem um quadro de resistência à insulina diferente dos idosos cognitivamente preservados, no entanto, até mesmo quando excluída da análise parte da amostra que fazia tratamento à pré diabetes e diabetes *mellitus* tipo 2, nenhuma diferença foi observada. Estudos anteriores demonstraram que a resistência à insulina, calculada pelo índice HOMA-IR possui relação com o metabolismo cerebral de glicose em idosos pré-diabéticos (BAKER et al., 2011a) e que o índice HOMA-IR encontra-se mais elevado em idosos com comprometimento cognitivo e doença de Alzheimer, quando comparados à idosos cognitivamente preservados (MORRIS et al., 2016).

Os achados do presente estudo vão de encontro aos resultados esperados e reportados na literatura científica. Contudo, outras diferenças esperadas, como desempenho cognitivo inferior por parte dos idosos com DA foram verificadas.

Curiosamente, o IGF-1 se comportou de maneira diferente entre os grupos: aumentou de forma significativa para o grupo de idosos com DA e não se alterou no grupo de idosos cognitivamente preservados. Uma possível explicação para esta diferença de comportamento pode ser a de que a síntese de IGF-1 ocorra normalmente – por isso o aumento significativo – mas a absorção no tecido é deficitária – explicaria o porquê idosos cognitivamente preservados mostram uma manutenção, enquanto idosos com DA acumulam mais deste fator. Um estudo conduzido por Moloney et al. (2010) apontou que existe uma resistência à sinalização de IGF-1 em seu receptor na DA. Portanto, existem dois eventos ocorrendo de maneira simultânea: 1) Oferta reduzida de IGF-1 em idosos com DA, 2) Resistência à sinalização de IGF-1 pelo seu receptor em nível central, mesmo quando aumenta sua oferta.

Existem evidências sobre o funcionamento inadequado de IRS-2 que culminam na resistência ao IGF-1 no encéfalo na DA (TALBOT et al., 2012), sendo muitas vezes este mal funcionamento relacionado à um estado de inflamação crônica de baixo grau, induzindo a síntese de TNF $\alpha$  (SPIELMAN; LITTLE; KLEGERIS, 2014). Além disso, os IGF-1R estão distribuídos de maneira diferente nas células do sistema nervoso central: há mais receptores de IGF-1 em astrócitos e menos em neurônios em pacientes com DA quando comparados a idosos controles (MOLONEY et al., 2010).

De forma semelhante, existem evidências de que com a insulina ocorre uma resistência não só em tecidos periféricos, bem como o próprio encéfalo se torna resistente à este hormônio (KULJIŠ; SALKOVIC-PETRIŠIĆ, 2011). Neste mesmo sentido, outro mecanismo que pode estar afetado são os níveis de GH que atuam como reguladores dos níveis de IGF-1. Estudos relataram aumento e também níveis inalterados de GH (HEUSER et al., 1992; GHIGO et al., 1993), bem como aumento dos níveis de IGF-1 nos primeiros estágios da doença e redução destes em função do avanço de estágios. Porém, existem dificuldades na análise de GH/IGF-1 devido a interação medicamentosa utilizada na DA e medidas refinadas sobre o sistema neuroendócrino (GIORDANO, 2012). Em contrapartida, outro estudo apontou que a deficiência no receptor de IGF-1 resultou em impedimento na formação de placas beta-amilóide e prevenção à morte precoce de camundongos (FREUDE et al., 2009). Dessa forma, estudos futuros podem investigar essa relação de IGF-1 periférico circulante, IGF-1R e o efeito do exercício físico na regulação GH/IGF-1.

Por outro lado, o aumento de IGF-1 circulante induzido pelo exercício físico pode representar uma resposta compensatória para os baixos níveis encontrados em idosos com DA. Desta forma, o exercício, mesmo quando realizado de forma aguda, seria um estímulo à síntese deste fator de crescimento, levando a uma regulação normal de IGF-1. Em estudo anterior (BAKER et al., 2010a) foi verificado que após um período de treinamento idosos com comprometimento cognitivo leve tiveram aumento dos níveis circulantes de IGF-1 com melhora cognitiva. Semelhantemente, o BDNF após sessão aguda de exercício aeróbio aumentou em maior proporção em idosos com DA quando comparados a idosos saudáveis (COELHO et al., 2014).

Além de comparar os grupos antes e após uma sessão de exercício aeróbio, foi realizada uma comparação entre sexos no mesmo grupo e entre os grupos. Não foi encontrada nenhuma diferença no momento baseline entre homens e mulheres do grupo de idosos cognitivamente preservados e idosos com DA, bem como não foram observadas diferenças significativas após o exercício físico agudo entre os sexos feminino e masculino. Este achado vai de encontro com outros estudos da literatura que relataram haver diferenças entre sexo (BAKER et al., 2010; TSAI et al., 2015). Porém, ao dividir a amostra e os grupos por sexo, o número amostral ficou bastante reduzido, o que pode ter interferido nesta comparação, em particular. Da mesma forma, como limitação não foi realizada nenhuma análise de polimorfismo de IGF-1, dificultando a observação entre respondedores e não respondedores ao exercício físico. Sabidamente, o polimorfismo genético de IGF-1 influi diretamente sobre a síntese deste fator de crescimento,

como por exemplo para casos de homozigotos de genótipo 192 que está associado com menores níveis de IGF-1 comparados com heterozigotos ou com não carreadores (ROSEN et al., 1998).

Portanto, conclui-se que idosos com DA respondem de maneira diferente ao estímulo do exercício físico nos níveis de IGF-1: o aumento de IGF-1 circulante pode ser um indicativo de que esta população apresenta resistência na utilização deste fator neurotrófico ou indicar uma resposta compensatória induzida pelo exercício físico para os menores níveis de IGF-1 na DA. Outro achado é que idosos com DA tem menor capacidade aeróbia que idosos cognitivamente preservados.

### **3.5 CONCLUSÃO**

Os resultados encontrados neste estudo mostraram que: a) idosos com DA tendem a apresentar menores níveis plasmáticos de IGF-1 quando comparados a idosos cognitivamente preservados; b) idosos com DA aumentam os níveis circulantes de IGF-1 após exercício aeróbio quando comparados à idosos cognitivamente preservados e; c) a diferença na resposta ao exercício físico agudo pode demonstrar que idosos com DA apresentam resistência tecidual ao IGF-1 ou pode indicar que o exercício físico exerce uma resposta compensatória para os menores níveis de IGF-1.

## CAPÍTULO 4

*Aerobic exercise and peripheral neurobiological markers in elderly with  
Alzheimer's disease: a controlled trial*

## AEROBIC EXERCISE AND PERIPHERAL NEUROBIOLOGICAL MARKERS IN ELDERLY WITH ALZHEIMER'S DISEASE: A CONTROLLED TRIAL

### EXERCÍCIO AERÓBIO E MARCADORES PERIFÉRICOS NEUROBIOLÓGICOS EM IDOSOS COM DOENÇA DE ALZHEIMER: UM ESTUDO CONTROLADO

Angelica Miki Stein, Flávia Gomes de Melo Coelho, Thays Martins Vital-Silva, André Veloso Rueda, Jessica Rodrigues Pereira, Andréa Camaz Deslandes, Rosana Camarini, Ruth Ferreira Santos-Galduróz

Status: o artigo que será apresentado abaixo fará parte de um artigo maior em que outros marcadores serão inseridos. O artigo original está em elaboração, e parte dele já foi analisado pelos coautores do estudo. Este manuscrito ainda deverá ser revisado em inglês e, por último será eleita a revista em que será submetido.

#### ABSTRACT

**Background:** To help the treatment of Alzheimer's disease, physical exercise has been considered an augmentation, mainly aerobic exercise and its effects on cognition. Putative mechanisms exercise-induced, as BDNF, IGF-1 and VEGF, have been associated with brain health, cognition and brain plasticity. **Objective:** to verify the effects of aerobic physical exercise in IGF-1 circulating levels and cognitive functions in elderly with AD after a training period. **Methods:** 34 elderly participated in the study, divided in two groups: Control Group (n=16) and Training Group (n=18). The outcomes included: IGF-1 plasma levels as a primary outcome. Secondary outcomes included: cognitive functions, and insulin-resistance. The aerobic training consisted in walking in a treadmill, 4 km/h, 25-40 min/session, moderate intensity (75% of HR), three times a week, during 12 weeks. **Results:** After 12 weeks, significative changes on IGF-1 circulating levels and cognitive functions were not identified. For insulin-resistance, the Chi-square test showed the reduction in one case of undesirable value and the maintaining in executive function for Training group, both important clinical results. **Conclusion:** the aerobic training protocol adopted in this study was neither effective to improve cognitive function, nor change IGF-1 circulating levels in elderly with AD. However, we found positive clinical results to control insulin-resistance cases and to maintain executive function after aerobic training.

**Key-words:** Insulin-like growth factor-I. Aerobic training. Cognition. Executive function. Biomarker.

#### 4.1 INTRODUÇÃO

O exercício físico tem sido considerado um recurso no tratamento multiprofissional da doença de Alzheimer (DA). Diversos estudos mostraram o papel potencial do exercício com efeitos positivos sobre a doença, tanto em modelo animal, quanto em humanos (PHILLIPS et al., 2015). O exercício físico é capaz de atenuar os distúrbios neuropsiquiátricos (STELLA et al., 2011), melhorar os componentes da capacidade funcional (GARUFFI et al., 2013), aptidão (HERNANDEZ et al., 2014) e cognição (HERNANDEZ et al., 2014). Além disso, foi demonstrado que o exercício físico pode atuar em nível neurofisiológico, e é capaz de reduzir os peptídeos beta-amilóide no encéfalo (ADLARD, 2005; UM et al., 2011) e o acúmulo de tau

fosforilada (UM et al., 2011), melhorar as funções sinápticas (GARCIA-MESA et al., 2011), promover a neurogênese (LAFENETRE et al., 2011), aumentar o número de neurotrofinas (CARRO et al., 2000; COELHO et al., 2014) e reduzir os marcadores inflamatórios (NASCIMENTO et al., 2014).

Sobre as neurotrofinas, o fator neurotrófico derivado do encéfalo (BDNF), o fator de crescimento semelhante à insulina-1 (IGF-1) e o fator de crescimento endotelial (VEGF) são considerados os principais mecanismos para a saúde mental (DESLANDES et al., 2009). Além disso, as neurotrofinas representam um fator chave no desenvolvimento da DA, uma vez que elas desempenham algumas funções no metabolismo energético (VAYNMAN et al., 2006), na sensibilidade à insulina (CARRO; TORRES-ALÉMAN, 2004; NAKAGAWA et al., 2002), regulação de glicose, fluxo sanguíneo e absorção de oxigênio (BLOOR, 2005; PRIOR; YANG; TERJUNG, 2004; WOOD et al., 2006). O BDNF atua na neurogênese, sobrevivência neuronal, sinaptogênese e crescimento sináptico e dendrítico (LINDHOLM et al., 1996). Já o IGF-1 é responsável pelo aumento no número de neurônios, plasticidade cerebral e prevenção à apoptose celular precoce e também à sensibilidade à insulina encefálica (CLEMMONS, 2012; GASPARINI; XU, 2003). O VEGF é conhecido por participar tanto no processo de angiogênese – como proliferação, ativação e migração de células endoteliais -; como no processo de neurogênese – através do estímulo de células endoteliais que promovem a proliferação de neurônios (PRIOR et al., 2003; RUIZ DE ALMODOVAR et al., 2009). Estudos em modelo animal tem demonstrado a relação entre os níveis periféricos de BDNF, IGF-1 e VEGF e a melhora na função cognitiva por meio do exercício físico (CASSILHAS et al., 2012; VANZELLA et al., 2017). Por outro lado, os estudos em humanos não têm uma resposta consensual acerca desta relação (COELHO et al., 2014; MASS et al., 2016; STEIN; PEDROSO, 2017).

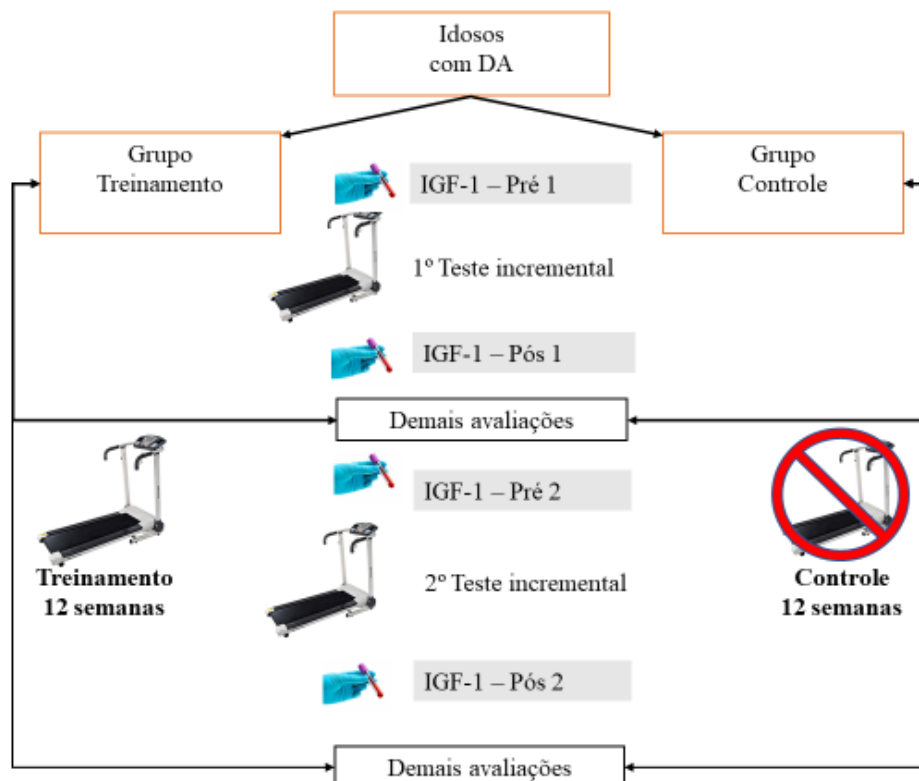
Evidências demonstram que o exercício físico do tipo aeróbio tem sido o mais indicado para melhora das funções cognitivas em idosos saudáveis, em pacientes com comprometimento cognitivo leve e em pacientes com DA (DUZEL; VAN PRAAG; SENDTNER, 2016; FOSTER; ROSENBLATT; KULJIS, 2011; KRAMER; ERICKSON, 2007). Neste contexto, um recente estudo realizado por Arcoverde et al. (2014) demonstrou que um programa de exercício aeróbio individualizado, com 30 minutos por sessão, duas vezes por semana a uma intensidade de 60% do  $VO_2$  máximo pôde melhorar a cognição de idosos com DA após 16 semanas de treinamento. Confluentemente, estudos em modelo animal demonstraram aumento nos níveis de BDNF e IGF-1 no hipocampo com melhora na memória visuoespacial após protocolo de exercício aeróbio (CASSILHAS et al., 2012; VANZELLA et al., 2017). De forma conjunta, parece que o treinamento aeróbio representa uma alternativa para aumento dos fatores neurotróficos, refletindo

em resposta positiva nas funções cognitivas em idosos com DA, que podem ter efeito benéfico em estabilizar esta doença. Portanto, o objetivo deste estudo foi verificar o efeito do treinamento aeróbio em um dos fatores neurotróficos - IGF-1 -; funções cognitivas e em algumas variáveis metabólicas relacionadas com a DA – glicemia, insulina, colesterol total e frações.

#### 4.2 MATERIAIS E MÉTODOS

O presente estudo caracteriza-se como um ensaio clínico, com desenho experimental que consiste na comparação entre dois grupos: a) Um grupo de idosos com DA que participou de um programa de exercício aeróbio, com duração de doze semanas e que manteve sua conduta medicamentosa e de rotina – Grupo Treinamento (GT); b) Um grupo de idosos com DA que não participou de nenhum tipo de intervenção e que manteve sua conduta medicamentosa e de rotina – Grupo Controle (GC).

**Figura 11** – Delineamento do estudo.





## Participantes

Para constituição dos grupos, a amostra foi dividida de maneira a obedecer a uma distribuição semelhante quanto aos fatores idade, sexo, escolaridade, tempo de doença, perfil cognitivo, sintomas depressivos e condição clínica. Assim, a amostra foi composta por 18 idosos com DA no grupo treinamento (GT) e 16, no grupo controle (GC). O GT foi submetido a um programa de treinamento aeróbio e o GC não participou de nenhum programa de exercício físico. Todos os sujeitos, independentemente do grupo ao qual pertenceram, mantiveram as prescrições farmacológicas de rotina determinadas por seus respectivos médicos.

Para recrutamento da amostra, foram adotados os seguintes critérios:

### - Critérios de inclusão:

- Idosos com mais de 60 anos de idade, de ambos os sexos;
- Idosos com o diagnóstico clínico de Doença de Alzheimer, de acordo com o Manual de Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais (DSM-IV TR) (APA, 2000).
- Nível de gravidade da demência leve, segundo o Escore de Avaliação Clínica de Demência (CDR) (MORRIS, 1993; MONTAÑO; RAMOS, 2005). A adoção deste critério deve-se à natureza dos procedimentos específicos do protocolo de intervenção motora proposto, que exige determinado nível de compreensão das atividades por parte do idoso.
- Disponibilidade para participação das atividades propostas pelo pesquisador.
- Concordar e assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido baseado na Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde.

### - Critérios de exclusão:

- Idosos com doença coronariana, arritmias cardíacas, hipertensão não-controlada e sintomas de angina, ou que tenha qualquer restrição à prática de atividade física.
- Idosos com comprometimento visual, auditivo, síndrome vertiginosa não corrigidos ou outras limitações que dificultem a locomoção.
- Idosos com outras condições neuropsiquiátricas

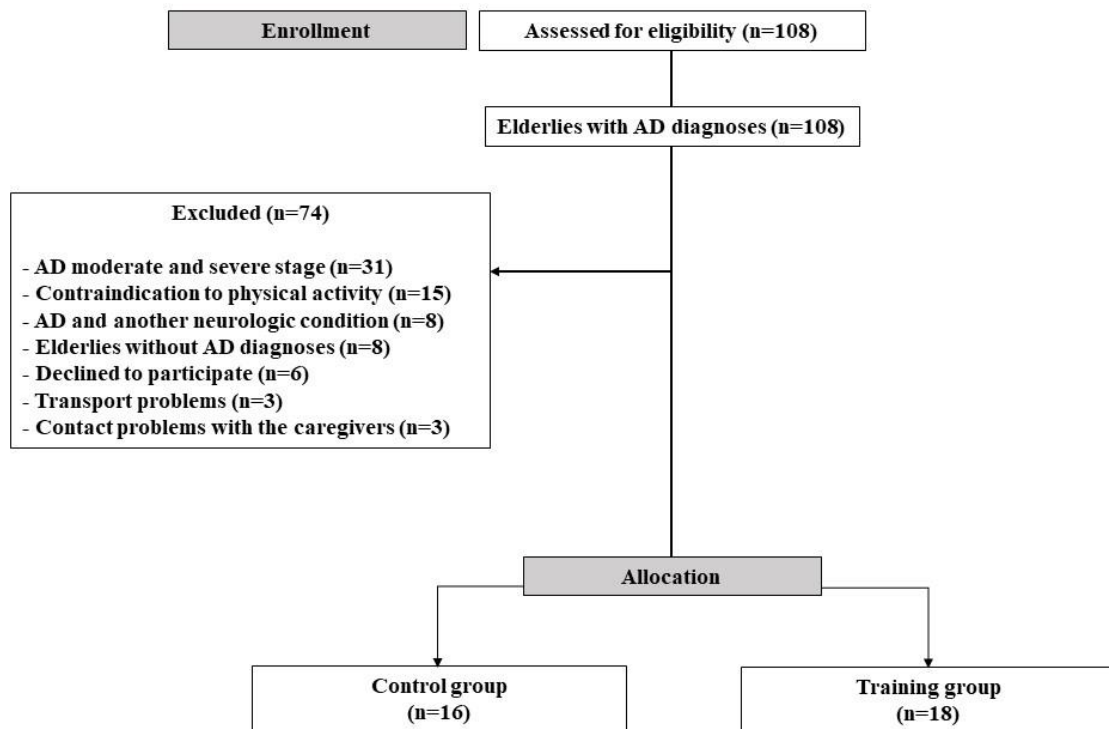
Após aceitarem o convite para participação no estudo, todos os idosos foram convidados a visitar o Laboratório de Atividade Física e Envelhecimento (LAFE) e realizaram uma bateria de avaliações.

Dos procedimentos metodológicos fizeram parte da bateria de avaliações: dados gerais, avaliação neuropsicológica, nível de atividade física, avaliação clínica, níveis plasmáticos de IGF-1 e teste incremental em esteira ergométrica e avaliações bioquímicas. Os dados gerais, avaliação clínica e do nível de atividade física serviram como dados de caracterização da amostra.

Para avaliação neuropsicológica, um avaliador “cego” para os grupos treinamento e controle foi previamente treinado a aplicar a bateria de testes. Todas as avaliações foram realizadas

em um ambiente tranquilo e silencioso, no intuito de proporcionar uma avaliação adequada dos participantes.

**Figura 12** – Fluxograma do recrutamento e seleção dos idosos com DA nos GC (Control group) e GT (Training group).



*Flow diagram of the study, including participants completed the trial and reasons for drop-out.*

### Protocolo de Avaliação

A descrição detalhada dos instrumentos utilizados no protocolo de avaliação e a aplicação dos testes pode ser conferida no apêndice 5. Na coleta dos dados foram necessárias 3 sessões de avaliação em dias diferentes, sendo respectivamente: Sessão 1/ Dia 1 – Dados de caracterização da amostra, Avaliação cognitiva; Sessão 2/ Dia 2 – Avaliação da aptidão aeróbia e obtenção de amostras sanguíneas para Avaliação do IGF-1; Sessão 3/ Dia 3 – Variáveis metabólicas. Após o período experimental (12 semanas) o protocolo de avaliação foi realizado novamente, com exceção de “Dados de caracterização da amostra”.

### Dados de caracterização da amostra

Para dados gerais foi aplicada uma anamnese estruturada (Apêndice 1) sobre as seguintes informações: 1) Dados sócio-demográficos: Idade, gênero, escolaridade, profissão e estado civil;

2) Dados referentes ao estilo de vida: Tabagismo, etilismo, prática de atividade física; 3) Dados clínicos: Doenças associadas, medicamentos em uso (nome e dose diária), estágio da DA e o tempo da doença. Esta anamnese foi respondida pelos idosos cognitivamente preservados e pelos cuidadores dos idosos com DA. Para caracterização da amostra também foram utilizados o Escore de Avaliação Clínica de Demência (Clinical Dementia Rating – CDR; MORRIS, 1993; MONTAÑO; RAMOS, 2005 – anexo 7), e o Questionário Baecke Modificado para Idosos (VOORRIPS et al., 1991– anexo 8), ambos respondidos pelos cuidadores em relação aos idosos com DA. Sabidamente os sintomas depressivos interferem na cognição do idoso, para tanto como foi aplicada a Escala Geriátrica de Depressão (YESAVAGE et al., 1983 – anexo 6) para verificar os sintomas depressivos apenas no momento Pré período experimental. Para este momento também foram coletados a estatura corporal, o peso corporal e circunferências da cintura e do quadril para obtenção do Índice de Massa Corporal (IMC - kg/estatura m<sup>2</sup>) e a Relação Cintura Quadril.

### **Avaliação cognitiva**

Foram aplicados os testes cognitivos nos momentos Pré período experimental e Pós período experimental: Mini-Exame do Estado Mental (FOLSTEIN et al., 1977; BRUCKI et al. 2003 – Anexo 1); Bateria de Avaliação Frontal (DUBOIS et al., 2000 – Anexo 2); Teste do Desenho do Relógio (SUNDERLAND et al., 1989 ATALAIA-SILVA; LOURENÇO, 2008– anexo 3); Teste de Fluência Verbal Semântica (LEZAK, 1995; BRUCKI et al. 1997– anexo 4); Procurar Símbolos *Subteste* da Escala Wechsler de Inteligência para Adultos – III / WAIS-III (Wechsler Adult Intelligence Scale – III; WECHSLER, 2004– anexo 5).

### **Variáveis metabólicas**

Antes e depois de 12 semanas de treinamento foram coletadas as seguintes variáveis metabólicas: Colesterol total e frações, triglicérides, glicemia e insulina foram obtidos a partir de coleta sanguínea intravenosa em jejum de 12 horas. Para comparar o quadro de resistência à insulina entre o GC e GT foi realizado o cálculo para *Homeostatic model assessment of Insulin Resistance* (HOMA-IR), levando-se em consideração a fórmula:  $HOMA-IR = [(Glicemia \text{ em jejum} \times 0,06) \times Insulina \text{ em jejum}] / 22,5$  (WALLACE; LEVY; MATTHEWS, 2004), ajustando-se as unidades de medida para uso deste cálculo.

### **Avaliação da aptidão aeróbia - Teste incremental**

Todos os participantes compareceram ao laboratório em pelo menos dois dias alternados, durante uma semana, para familiarização na esteira ergométrica. Após a familiarização, os participantes realizaram um teste incremental submáximo no aparelho. A avaliação utilizada foi baseada no protocolo de Balke-Ware, que devido aos seus baixos estágios de progressão são mais adequados para os indivíduos idosos (ACSM, 2003). Além disso, neste protocolo ocorre progressão apenas no ângulo de inclinação, ao contrário da velocidade, que permaneceu constante.

O teste de Balke-Ware foi adaptado, no intuito de diminuir os riscos da população estudada. O teste começou com uma carga de trabalho de 3 km/h, com inclinação zero, durante dois minutos de exercício. No início do terceiro minuto, a inclinação foi elevada para 1%, no início do quarto minuto para 2% e no início do quinto minuto para 3%. A partir daí, foi adicionado 1% de inclinação a cada 3 minutos do teste até o idoso atingir a frequência cardíaca referente a 80% da máxima prevista, prevista pela fórmula de Tanaka et al. (2001) -  $FC_{max} = 208 - (0,7 \times \text{Idade em anos})$ , e/ou uma percepção subjetiva de esforço (PSE) acima de 17 na escala de Borg (1982).

Durante o teste, o idoso deveria manter a velocidade constante de 4 km/h e foi permitido segurar nas barras lateral ou frontal da esteira, caso o participante julgasse necessário. A temperatura da sala para condução dos testes foi mantida entre 21 e 23° C. Foram monitoradas antes, durante e após o teste incremental: frequência cardíaca, pressão arterial, percepção subjetiva de esforço (PSE) e sintomas clínicos.

O teste foi interrompido nos seguintes casos:

- Sintoma de mal-estar, dores no peito ou outros fatores que impedissem/interferissem na realização do teste
- Variação repentina da FC ou da pressão arterial
- Attingir 80% ou mais de frequência cardíaca em relação a máxima prevista pela fórmula de Tanaka;
- Percepção subjetiva de esforço igual ou superior a 17 na escala de Borg.

Na análise das medidas de aptidão física obtidas por meio do teste incremental, os dados foram padronizados por meio do cálculo do consumo de oxigênio ( $VO_2$ ) obtido a partir de uma fórmula indireta (ACSM, 2010):

$$VO_2 \text{ máx (mL/kg/min)} = (0,1 * \text{Velocidade m/s}) + (1,8 * \text{Velocidade m/s} * \text{grau}) + 3,5$$

O teste incremental foi realizado duas vezes: Pré período experimental (Antes de 12 semanas) e Pós período experimental (Após 12 semanas) em ambos os grupos, GC e GT.

### *Lactato*

Além disso, entre cada estágio de 3 minutos foram realizadas coletas de amostra de sangue no lóbulo da orelha através de tiras reagentes, que foram analisados por um lactímetro da marca Accutrend Lactate. Todos os dados foram registrados em uma ficha de avaliação do teste incremental (Apêndice 2). As medidas de lactato serviram para determinar a intensidade do treinamento para os idosos com DA. Assim, o limiar de lactato (LL) foi identificado plotando a cinética do lactato em cada estágio, correspondentes as respectivas inclinações no teste incremental, analisando o ponto de inflexão da curva do lactato (WASSERMAN; MACILORY, 1964).

Durante o desenvolvimento deste estudo, a empresa que fabricava as tiras reagentes nos comunicou que as tiras de lactato foram suspensas em sua comercialização. Assim, com o objetivo de mensurar esta variável, foi substituída a análise por meio das tiras reagentes por medidas de lactato através de capilares heparinizados. Diante disso, o procedimento de coleta passou a ocorrer da seguinte forma: Entre cada estágio de 3 minutos foram realizadas coletas de amostra 25µL de sangue no lóbulo da orelha através de capilares heparinizados, que foram colocadas em tubos contendo 400µL de ácido tricloroacético (TCA), armazenadas a 4°C. A concentração sanguínea de lactato foi analisada por meio do método colorimétrico conforme descrito por Engels; Jones (1978). O procedimento consistiu em: as amostras de 25µL de sangue foram depositadas em tubos contendo 400µ L de ácido tricloroacético (TCA) e levemente agitadas para homogeneizar a amostra. Em seguida, as amostras foram centrifugadas por 10 min a 10.000 rpm e 50µL de sobrenadante foi adicionado a 250µL de reativo e incubado durante 60 minutos para posterior leitura a 340nm. Os valores de lactato foram expressos em mmol/l. A preparação do reativo foi realizada com 25mL de estoque de glicina/EDTA (20,2g de glicina + 2,05 de EDTA + qsp de água destilada para 500mL) adicionada a 2,25 mL de hidrato de hidrazina a 24% e ajustado para o pH a 9,54. Então foi adicionado 50mg de Beta-Nicotinamide Adenine Dinucleotide (Sigma Aldrich) e 75µL de Lactato desidrogenase (Sigma Aldrich).

Todos os idosos com DA no momento Pré do GT tiveram coleta de sangue por meio das tiras reagentes e 1 idoso no momento Pré do GC. No momento Pós, 13 idosos utilizaram as tiras no GT e 5 utilizaram os capilares, e no GC todos utilizaram as tiras reagentes.

### **Protocolo de Treinamento**

O protocolo de treinamento aeróbio foi realizado em esteira ergométrica, três vezes por semana, em dias não consecutivos, durante o período de doze semanas. Em relação ao princípio da sobrecarga, o incremento do treinamento ocorreu no aumento do volume de treino. Assim,

durante as 3 primeiras semanas a sessão teve duração de 25 minutos, nas próximas 3 semanas correspondeu a 30 minutos, posteriormente 35 minutos, e por fim nas 3 semanas finais, 40 minutos. A intensidade do treinamento aeróbio foi determinada pelo limiar de lactato, obtido por meio do teste incremental. Desta forma, a inclinação da esteira correspondeu a 90% da inclinação do limiar de lactato individual obtido no teste incremental, equivalente a aproximadamente 75% da frequência cardíaca. Até o final das 12 semanas a inclinação correspondente ao limiar de lactato foi a mesma, bem como a velocidade de 4km/h, portanto a sobrecarga foi dada pelo aumento no volume de treinamento a cada 3 semanas.

A frequência cardíaca dos participantes foi averiguada durante as sessões de treinamento por meio da utilização de um monitor cardíaco, da marca Polar. Durante as sessões de treinamento, foi registrada a frequência cardíaca de cada participante no intervalo de 5 em 5 minutos. A pressão arterial também foi averiguada antes e depois de cada sessão através de esfigmomanômetro e estetoscópio. Este procedimento foi efetuado como medida de segurança em relação à condição física dos idosos e para o controle da intensidade do treinamento. Além disso, durante todo o período a frequência cardíaca ficou entre 70-75% da máxima para que o treinamento se mantivesse em intensidade moderada.

### **Avaliação do IGF-1**

Para análise plasmática do IGF-1 foram coletados 4 momentos: antes e imediatamente após a cada teste incremental, sendo que o teste incremental foi realizado duas vezes (Antes e após o período de 12 semanas). Para tanto, o participante deveria permanecer sentado durante 30 minutos antes da primeira coleta (Pré 1 e Pré 2) e, imediatamente ao término do teste incremental outra amostra de sangue foi coletada (Pós 1 e Pós 2). O sangue foi coletado em tubos com o anticoagulante EDTA e centrifugado por 20 minutos, a uma rotação de 3000 xg e temperatura de 8°C. Em seguida, as amostras foram armazenadas em um freezer -80° C até análise. Os níveis plasmáticos de IGF-1 foram determinados pelo método de ensaio imuno-enzimático (ELISA) utilizando kit comercial, da marca *R&D Systems Inc.*

### **Aspectos Éticos**

Os cuidadores dos idosos com DA participantes do estudo assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Apêndices 3 e 4), segundo as normas estabelecidas pela resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde às pesquisas envolvendo seres humanos. O projeto de pesquisa foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da instituição (nº 4807).

### **Análise estatística**

Para verificar a distribuição dos dados, foi utilizado o teste de normalidade de Shapiro-Wilk. Em caso de distribuição normal, foi utilizada estatística paramétrica e, em caso de distribuição não normal, os dados foram padronizados por escore Z para seguir com a estatística paramétrica. Além disso, casos extremos para os valores de IGF-1 foram excluídos das análises, de acordo com a regra de rotulagem de *outlier* (HOAGLIN; IGLEWICZ; TUKEY, 1986). No momento inicial, os grupos foram comparados utilizando-se o teste *t* de Student para amostras independentes e o teste de Levene para verificar a homogeneidade. O teste qui-quadrado também foi utilizado na comparação de variáveis categóricas entre os dois grupos na caracterização da amostra. Para verificar o efeito do treinamento nas funções cognitivas, aptidão aeróbia, variáveis metabólicas e níveis plasmáticos de IGF-1, os grupos foram comparados a partir da Análise de Variância (ANOVA) medidas repetidas, ajustadas por Bonferroni. Após comparação dos grupos, para os testes com valores significativos foi calculado o tamanho do efeito, utilizando-se o Cohen *d*. Foi admitido um nível de significância de 5% para todas as análises.

### **4.3 RESULTADOS**

A amostra foi constituída por 34 idosos com DA, sendo que 18 participaram do Grupo Treinamento (GT) e 16 participaram do Grupo Controle (GC). Na tabela 10 estão dispostos os valores de tendência central e dispersão das variáveis de caracterização da amostra, tais como idade, escolaridade, sintomas depressivos, nível de atividade física, tempo de doença, sexo feminino e masculino, IMC, relação cintura-quadril e a utilização de medicamentos GC e GT. A análise de comparação mostrou que os grupos foram homogêneos quanto as variáveis de caracterização da amostra no momento Pré período experimental.

**Tabela 10.** Variáveis de caracterização da amostra: idade, escolaridade, tempo de doença, sintomas depressivos, nível de atividade física e variáveis metabólicas do grupo Controle e do grupo Treinamento no momento Pré período experimental, expressos em média e desvio-padrão (DP).

	<b>Grupo Controle (Média ± DP)</b>	<b>Grupo Treinamento (Média ± DP)</b>	<b>p</b>	<b>χ<sup>2</sup></b>
<b>Idade (anos)</b>	75,06 ± 6,36	75,27 ± 6,09	0,92	-
<b>Escolaridade (anos)</b>	7,81 ± 6,31	6,27 ± 4,82	0,42	-
<b>Tempo de doença (meses)</b>	17,50 ± 10,64	19,55 ± 20,95	0,72	-
<b>Sexo n (%)</b>				
Feminino	9 (56,25%)	10 (55,55%)	-	
Masculino	7 (43,75%)	8 (44,44%)		0,96
<b>Mini Exame do Estado Mental (pontos)</b>	21,75 ± 3,78	20,88 ± 3,96	0,52	-
<b>Escala Geriátrica de Depressão (pontos)</b>	6,25 ± 4,10	6,88 ± 5,00	0,68	0,53
<b>Questionário Baecke Modificado para Idosos (pontos)</b>	2,80 ± 1,99	2,45 ± 1,60	0,57	-
<b>IMC (kg/m<sup>2</sup>)</b>	26,06 ± 2,93	26,27 ± 3,31	0,84	0,77
<b>Relação Cintura Quadril (cm/cm)</b>	0,87 ± 1,13	0,92 ± 0,08	0,16	-
<b>Medicamentos n (%)</b>				
Tratamento DA	12 (75%)	16 (88%)	-	0,28
Tratamento diabetes mellitus tipo 2	4 (25%)	8 (50%)	-	0,23
Tratamento de hipertensão	7 (58,33%)	6 (33,33%)	-	0,53
Tratamento de depressão e ansiedade	12 (75%)	10 (55,55%)	-	0,23

As variáveis Escolaridade, Tempo de doença e Questionário Baecke Modificado para Idosos foram padronizadas por escore Z.

Na comparação das médias e para todas as variáveis categóricas não houve diferença significativa no momento Pré período experimental entre o GC e GT.

No que se refere às funções cognitivas, GC e GT foram comparados no momento Pré período experimental (antes das 12 semanas) e Pós período experimental (após 12 semanas). Para o Mini Exame do Estado Mental, houve um efeito principal de momento em ambos os grupos. No momento Pré período experimental, foi verificada diferença significativa apenas no teste Fluência Verbal Semântica, como disposto na tabela 11, em que o GC apresentou melhor desempenho quando comparado ao GT. Porém, após o período experimental esta diferença não foi evidenciada novamente.



**Tabela 11** – Comparação do desempenho nos testes de avaliação cognitiva: Mini Exame do Estado Mental, Bateria de avaliação frontal, Teste do desenho do relógio, Fluência Verbal Semântica e Procurar Símbolos, expressos em média e desvio-padrão (DP).

Avaliação cognitiva	Grupo Controle (Média ± DP)		Grupo Treinamento (Média ± DP)	
	Pré	Pós	Pré	Pós
<b>Mini Exame do Estado Mental (pontos)</b>	21,75 ± 3,78	20,75 ± 4,71 <sup>a</sup>	20,88 ± 3,96	19,66 ± 4,89 <sup>a</sup>
<b>Bateria de Avaliação Frontal (pontos)</b>	10,93 ± 3,85	11,87 ± 3,72	12,11 ± 2,86	11,55 ± 3,55
<b>Teste do Desenho do Relógio (pontos)</b>	7,43 ± 1,67	6,86 ± 2,55	6,94 ± 2,63	6 ± 2,97
<b>Fluência Verbal Semântica (nº de palavras)</b>	10,18 ± 2,76 <sup>b</sup>	9,18 ± 3,2	8,05 ± 2,94 <sup>b</sup>	8,72 ± 3,95
<b>Procurar símbolos</b>				
Acertos (nº de)	8,62 ± 3,07	8,56 ± 3,86	9,16 ± 4,2	8,83 ± 3,55
Erros (nº de)	1,43 ± 1,78	1,56 ± 2,12	2 ± 1,94	1,38 ± 1,14

A pontuação nos testes da Bateria de avaliação frontal, Teste do desenho do relógio e acertos e erros do teste Procurar Símbolos foram padronizadas por escore Z. <sup>a</sup> A ANOVA medidas repetidas apontou efeito principal de momento para o Mini Exame do Estado Mental ( $F= 4,75$ ;  $p=0,04^*$ , poder observado= 0,53). <sup>b</sup> A ANOVA medidas repetidas apontou interação grupo e momento em que houve diferença significativa na comparação pareada ajustada por Bonferroni para os grupos no momento Pré período experimental ( $F=2,1$ ;  $p=0,01^*$ , poder observado= 0,27, Cohen  $d= 0,74$ ; *effect size*= 0,34).

Em relação ao desempenho no teste incremental, realizado em esteira ergométrica, a tabela 12 dispõe dos valores obtidos no Pré período experimental (antes de 12 semanas) e Pós período experimental (depois de 12 semanas) para os grupos Controle e Treinamento.

**Tabela 12.** Comparação dos grupos Controle e Treinamento para variáveis obtidas no teste incremental em esteira ergométrica, expressos em média e desvio-padrão (DP).

	Grupo controle (Média ± DP)		Grupo treinamento (Média ± DP)	
	Pré	Pós	Pré	Pós
<b>Tempo no teste incremental (min)</b>	15,51 ± 8,19	15 ± 9,73	18 ± 8,03	27,83 ± 6,96
<b>Percepção subjetiva de esforço (pontos)</b>	14,75 ± 1,57	14,42 ± 2,02	13,88 ± 2,31	13,83 ± 2,74
<b>Frequência cardíaca (bpm)</b>	113,12 ± 22,35	115,12 ± 21,21	110,5 ± 15,91 <sup>a</sup>	105,55 ± 18,28 <sup>a</sup>
<b>Lactato máximo (mmol/L)</b>	3,62 ± 1,8	2,85 ± 0,84	3,05 ± 0,87	3,06 ± 1,01
<b>VO<sub>2</sub> (mL/kg/min)</b>	18,64 ± 2,98	18,00 ± 3,97 <sup>b</sup>	19,68 ± 3,28 <sup>c</sup>	23,60 ± 2,97 <sup>b,c</sup>

As variáveis Tempo no teste incremental, Percepção subjetiva de esforço e VO<sub>2</sub> foram padronizadas por escore Z. Min: minutos; bpm: batimentos por minuto.

<sup>a</sup>A ANOVA medidas repetidas apontou interação entre grupo e momento (F=5,16; p=0,03\*; poder observado=0,56) em que a comparação pareada ajustada por Bonferroni indicou tendência à diferença entre momentos para o Grupo Treinamento (p=0,08).

<sup>b</sup>A ANOVA medidas repetidas apontou interação entre grupo e momento (F= 40,86; p=0,00\*\*); poder observado=1,00) em que a comparação pareada ajustada por Bonferroni indicou diferença significativa entre momentos para o GC e GT no momento Pós período experimental (p=0,00\*\*; Cohen d= -1,59, *effect size*= -0,62).

<sup>c</sup>A ANOVA medidas repetidas apontou efeito principal de tempo para o GT em que a comparação pareada ajustada por Bonferroni indicou diferença significativa entre os momentos Pré e Pós período experimental (p=0,00\*\*).

Na análise do desempenho do GC e GT no teste incremental, a partir da ANOVA medidas repetidas, pôde ser observado que os grupos se comportaram diferentes quanto ao consumo de VO<sub>2</sub> na comparação entre os momentos Pré e Pós, uma vez que GT apresentou desempenho superior ao GC. Também foi observada tendência à diferença na frequência cardíaca entre os momentos Pré e Pós para o GT, em que houve redução do número de batimentos por minutos.

Na tabela abaixo estão as variáveis metabólicas e a comparação dos valores brutos dos grupos nos momentos Pré e Pós período experimental (Tabela 13). Já a tabela 14 apresenta os resultados levando-se em consideração os valores limítrofes na classificação das variáveis metabólicas.

**Tabela 13** Comparação dos grupos Controle e Treinamento para variáveis metabólicas, expressas em média e desvio-padrão (DP).

	Grupo controle (Média ± DP)		Grupo treinamento (Média ± DP)	
	Pré	Pós	Pré	Pós
<b>Colesterol total (mg/dL)</b>	200,62 ± 47,5	209,94 ± 39,82	206,86 ± 43,99	209,12 ± 41,99
<b>LDL (mg/dL)</b>	126,3 ± 39	130,16 ± 37,95	134,51 ± 34,97	126,46 ± 37,07
<b>HDL (mg/dL)</b>	51,62 ± 16,17	49,2 ± 16,67	49,05 ± 14,75	53,25 ± 17,05
<b>VLDL (mg/dL)</b>	29,7 ± 15,41	26,84 ± 11,69	25,82 ± 10,14	29,41 ± 11,18
<b>Triglicerides (mg/dL)</b>	148,5 ± 77,09	134,2 ± 58,47	130,75 ± 53,72	147,06 ± 55,92
<b>Glicemia (mg/dL)</b>	91,62 ± 14,31	97,73 ± 19,21 <sup>a</sup>	94,22 ± 19,7	96,69 ± 26,17 <sup>a</sup>
<b>Insulina (uUI/mL)</b>	7,07 ± 4,8	8,23 ± 3,93	8,85 ± 5,8	8,5 ± 6,18
<b>HOMA-IR</b>	1,7 ± 1,17	2,25 ± 1,4	2,34 ± 1,65	2,54 ± 2,91

As variáveis metabólicas HDL e Glicemia foram padronizadas por escore Z.

<sup>a</sup> A ANOVA medidas repetidas apontou efeito principal de tempo para o GT e GC entre momentos Pré e Pós período experimental (F=11,61; p=0,00\*; poder observado = 0,85) em que a comparação pareada ajustada por Bonferroni indicou diferença significativa (p=0,00\*\*).

Após análise pela ANOVA medidas repetidas, foi observado um efeito principal de tempo em ambos os grupos (p=0,00\*\*) nos valores de insulina, porém não foi observada interação entre Grupo e Momento nesta variável. Para investigar mais profundamente a questão das variáveis metabólicas, foi realizado o teste qui-quadrado nos momentos Pré e Pós período experimental em ambos os grupos, considerando os valores indesejáveis para cada variável. A tabela 14 apresenta o número absoluto de idosos com DA que apresentaram valores indesejáveis nas respectivas variáveis e a comparação pelo qui-quadrado.

**Tabela 14.** Número de idosos com DA do GC e do GT que apresentaram valores indesejáveis para as variáveis metabólicas.

	Pré			Pós		
	GC	GT	$\chi^2$	GC	GT	$\chi^2$
<b>Colesterol total</b>	9	10	0,96	9	10	0,96
<b>LDL</b>	8	11	0,51	7	11	0,31
<b>HDL</b>	13	16	0,53	13	12	0,33
<b>VLDL</b>	8	4	0,14	4	5	0,18
<b>Triglicerides</b>	8	4	0,14	4	5	0,85
<b>Glicemia</b>	0	2	0,16	2	1	0,47

Não houve qualquer diferença significativa na classificação dos idosos com DA entre o GC e GT. Porém, para os valores normativos de glicemia, podemos observar que 1 idoso com DA do grupo GC apresentou valores indesejáveis no momento Pós período experimental e, foi

reduzido o número de idosos com DA do GT que apresentaram valores indesejáveis para esta mesma variável.

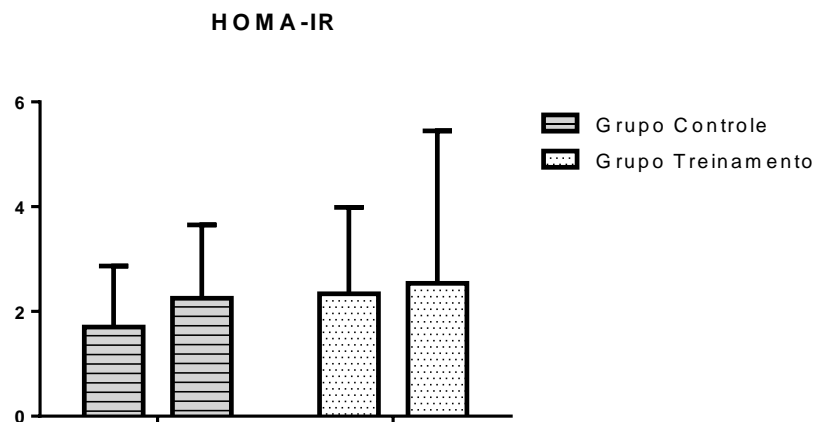
Em relação ao controle de valores glicêmicos, na tabela 15 está disposta a frequência de utilização de medicamentos para o tratamento/prevenção de diabetes.

**Tabela 15.** Frequência (%) da utilização de medicamentos para tratamento de quadros pré diabéticos e diabetes tipo 2 do Grupo Controle e Grupo Treinamento.

Medicamentos	Grupo Controle			Grupo Treinamento		
	Pré Diabéticos (n= 0)	Diabetes 1 (n= 0)	Diabetes 2 (n= 4)	Pré Diabéticos (n= 2)	Diabetes 1 (n= 0)	Diabetes 2 (n= 6)
Metformina	-	-	75%	50%	-	62%
Glibenclamida	-	-	-	-	-	12,5%
Glifage	-	-	25%	50%	-	-
Glucosamina	-	-	-	-	-	12,5%

Para verificar indicadores de insulino-resistência na amostra, foi utilizado o HOMA-IR com posterior ANOVA medidas repetidas para comparação de grupos e momentos. Não foi encontrada qualquer interação ou diferença significativa nesta variável. A figura 13 ilustra os valores médios e desvio-padrão do HOMA-IR por grupo.

**Figura 13 -** Representação gráfica dos valores expressos em média e desvio-padrão de HOMA-IR do Grupo Controle e Grupo Treinamento.



Sobre o IGF-1, na tabela 16 constam os valores médios das concentrações plasmáticas nos momentos Pré e Pós período experimental, bem como os respectivos deltas dos referidos

períodos. Para esta análise, em especial, foi detectada a presença de outliers em ambos os grupos. Portanto a tabela 13 corresponde a 15 idosos com DA no GC e 16 idosos com DA no GT – 2 idosos com DA foram excluídos por serem considerados outliers - valores altos. Os grupos apresentarem valores similares de níveis plasmáticos de IGF-1 em todos os momentos analisados. A análise de variância não apontou qualquer diferença significativa.

**Tabela 16.** Comparação dos grupos Controle e Treinamento para os níveis plasmáticos de IGF-1 em diferentes momentos – Pré 1, Pós 1, Delta 1 (Pré período experimental); Pré 2, Pós 2 e Delta 2(Pós período experimental), expressos em média e desvio-padrão (DP).

<b>Momentos</b>	<b>Grupo controle (Média ± DP)</b>	<b>Grupo treinamento (Média ± DP)</b>
<b>IGF-1 (ng/mL)</b>		
<b>Pré 1</b>	58,52 ± 12,85	60,32 ± 13,98
<b>Pós 1</b>	60,04 ± 15,84	60,89 ± 15,41
<b>Delta 1</b>	1,51 ± 8,5	0,57 ± 6,26
<b>Pré 2</b>	67,07 ± 17,84	59,49 ± 16,43
<b>Pós 2</b>	65,84 ± 19,62	59,98 ± 17,7
<b>Delta 2</b>	-1,22 ± 6,06	0,49 ± 5,78

Valores referentes a n=15 idosos com DA no GC e n=16 idosos com DA no GT em que foram excluídos 2 idosos com DA por apresentar outlier para valor alto.

### **Correlações e regressão linear**

Em relação ao IGF-1 não foram encontradas correlações com glicemia, insulina ou funções cognitivas, portanto não foi dada sequência nas análises de regressão. Nas tabelas 17 e 18 estão dispostos os valores de correlação de Pearson e o valor de alpha para IGF-1, glicemia e insulina e; IGF-1 e funções cognitivas, respectivamente.

**Tabela 17.** Coeficiente de correlação de Pearson (r) e valor alpha (p) entre IGF-1, glicemia e insulina no período pré experimental e pós experimental.

		Pré		Pós	
		IGF-1 Pré	IGF-1 Pós	IGF-1 Pré	IGF-1 Pós
Pré	Glicemia	r=0,22	r=0,21	r= 0,06	r= -0,009
		p= 0,21	p= 0,23	p= 0,7	p= 0,95
	Insulina	r= 0,02	r= -0,52	r=-0,18	r= -0,18
		p= 0,89	p= 0,77	p= 0,33	p= 0,31
Pós	Glicemia	r=0,31	r=0,35	r=0,13	r= 0,06
		p= 0,11	p= 0,07	p= 0,5	p=0,75
	Insulina	r= 0,02	r= 0,28	r= 0,06	r= 0,09
		p=0,89	p= 0,13	p= 0,75	p= 0,63

**Tabela 18.** Coeficiente de correlação de Spearman (rho) e valor alpha entre IGF-1, Mini Exame do estado mental, Fluência Verbal, Teste do Desenho do Relógio, Bateria de Avaliação Frontal, Símbolos – Acertos, Símbolos – Erros no período Pré e Pós experimental.

		Pré		Pós	
		IGF-1 Pré	IGF-1 Pós	IGF-1 Pré	IGF-1 Pós
Pré	Mini Exame do Estado Mental	rho= 0,03	rho= -0,01	rho= 0,2	rho= 0,16
		p= 0,83	p=0,94	p=0,24	p=0,35
	Fluência Verbal	rho=-0,23	rho= -0,9	rho=0,28	rho= 0,24
		p=0,2	p=0,61	p= 0,10	p= 0,16
	Teste do desenho do relógio	rho=0,28	rho=0,22	rho=-0,1	rho= 0,2
		p= 0,11	p=0,23	p= 0,58	p= 0,26
	Bateria de avaliação frontal	rho= 0,13	rho= -0,00	rho=-0,01	rho=-0,08
		p= 0,47	p=0,97	p= 0,91	p=0,64
Símbolos – Acertos	rho=0,11	rho=0,07	rho= 0,2	rho=0,18	
	p= 0,52	p=0,7	p=0,25	p= 0,3	
Pós	Símbolos – Erros	rho= -0,14	rho= -0,23	rho=-0,42	rho=-0,33
		p=0,43	p=0,19	p= 0,01	p=0,05
	Mini Exame do Estado Mental	rho=-0,02	rho=0,00	rho= 0,1	rho= 0,09
		p= 0,9	p=0,96	p=0,57	p= 0,59
	Fluência Verbal	rho= -0,05	rho= -0,04	rho=0,22	rho=0,2
		p=0,74	p=0,8	p= 0,21	p=0,26
	Teste do desenho do relógio	rho=0,03	rho=-0,01	rho= -0,1	rho=-0,09
		p= 0,85	p=0,92	p=0,57	p= 0,59
Bateria de avaliação frontal	rho= 0,06	rho= -0,09	rho=-0,06	rho=-0,06	
	p=0,74	p=0,61	p= 0,71	p=0,71	
Símbolos – Acertos	rho=-0,35	r=0,33	rho= 0,29	rho= 0,28	
	p= 0,05	p=0,06	p=0,09	p= 0,1	
Símbolos – Erros	rho=-0,23	r= -0,19	rho=-0,19	rho=-0,15	
	p=0,19	p=0,27	p= 0,27	p=0,39	

#### 4.4 DISCUSSÃO

Os objetivos deste estudo foram: analisar os valores plasmáticos de IGF-1 e funções cognitivas após 12 semanas de um programa de treinamento aeróbio em idosos com DA. Além disso, verificar possíveis relações entre IGF-1 e funções cognitivas e IGF-1 com glicemia e insulina. Os principais resultados deste estudo foram: 1) os níveis plasmáticos de IGF-1, bem como as funções cognitivas não apresentaram mudanças significativas após um período de 12 semanas de treinamento aeróbio; 2) não foram observadas associações entre níveis plasmáticos de IGF-1 com níveis de glicemia e insulina.

É importante destacar que este é o primeiro estudo que traz resultados sobre efeitos do treinamento aeróbio sobre os níveis plasmáticos de IGF-1 na população idosa com DA. A literatura tem trazido outros estudos que adotaram um protocolo de treinamento com exercício aeróbio, mas tiveram como amostra idosos cognitivamente preservados ou com comprometimento cognitivo leve (MCI). Porém, os resultados não indicaram uma resposta única em relação ao IGF-1 e funções cognitivas: alguns estudos apontaram melhora das funções cognitivas sem alterações nos níveis de IGF-1 (BAKER et al., 2010a; BAKER et al., 2010b); outro apontou aumento dos níveis de IGF-1 para homens idosos, sem melhora cognitiva e (BAKER et al., 2010b); outros estudos mostraram aumento nos níveis de IGF-1 com melhora cognitiva (CASSILHAS et al., 2007; TSAI et al., 2015); manutenção dos níveis de IGF-1 com melhora cognitiva (RAHE et al., 2015); manutenção dos níveis de IGF-1 e função cognitiva (MAASS et al., 2016), também houve um estudo que apontasse redução nos níveis de IGF-1 sem mudanças nas funções cognitivas (VOSS et al., 2013). Destes apontamentos, os estudos de Baker et al. (2010a) e Baker et al. (2010b) adotaram um protocolo com 75-85% da frequência cardíaca, 45-60min/sessão, 6 meses de duração e mesmo com a adoção de um protocolo semelhante, os resultados foram diferentes em relação a amostra (idosos pré-diabéticos e idosos com MCI) e sexo (homem e mulher). Desta forma, ainda que os protocolos de treinamento tenham sido similares ao adotado no presente estudo, tratando-se da intensidade, existe uma dificuldade na comparação levando-se em conta as diferentes amostras (idosos pré-diabéticos, CCL e DA) e o período de duração dos protocolos (12 semanas *versus* 24 semanas – 6 meses).

Porém, tratando-se unicamente de protocolos aeróbios aplicados em idosos com DA, pode-se observar que também existem resultados contraditórios na literatura em relação a benefícios nas funções cognitivas. Pallechi et al. (1996) aplicaram um treinamento aeróbio em esteira ergométrica, com frequência semanal de 3 vezes, duração de 12 semanas e 70% da frequência cardíaca máxima e observaram melhora da atenção e função cognitiva global. Semelhante ao estudo supracitado, Arcoverde et al. (2014) também observaram melhora da

função cognitiva global após 12 semanas de um protocolo aeróbio realizado em esteira ergométrica, 2 vezes por semana em 60% do VO<sub>2</sub> máximo. Outro estudo que utilizou um protocolo de caminhada, de intensidade moderada, com 30 minutos por sessão e duração total de 24 semanas evidenciou, em contrapartida, uma manutenção da função cognitiva global (VENTURELLI et al., 2011). Ou seja, o protocolo de exercício adotado no presente estudo, embora muito semelhante aos estudos citados, não provocou qualquer benefício nas funções cognitivas. Outro estudo recente de Hoffman et al. (2016) demonstrou melhora cognitiva para um grupo de idosos com DA que aderiram e mantiveram a intensidade de treinamento de um protocolo de exercício aeróbio, realizada 3 vezes por semana, com duração total de 16 semanas. Neste último estudo, em particular, o grupo que participou do programa de treinamento foi subdividido pela aderência e a intensidade desejável, sendo encontrados os resultados positivos na cognição somente para quem atendeu ao programa nestes quesitos. Neste caso, foi possível esta comparação devido ao número de participantes do estudo, em que o número amostral relativamente grande permitiu tal subdivisão, segundo aderência e intensidade.

No presente estudo, no que se refere às funções cognitivas, a comparação de grupos e momentos trouxe dois resultados principais: o efeito principal de tempo para ambos os grupos na pontuação do Mini Exame do Estado Mental e o número de palavras no teste de Fluência Verbal que foi diferente no período Pré experimental, mas não o foi após o período de treinamento. Para o Mini Exame do Estado Mental, sabidamente é reconhecido um decréscimo esperado em função do tempo e do estágio da DA (SOLOMON et al., 2011), portanto o efeito principal de tempo vai ao encontro deste pressuposto, embora não houvesse mudança do estágio entre os idosos com DA da amostra. Já para o teste de Fluência Verbal, a comparação entre momentos e grupos indicou diferença significativa no momento Pré período experimental entre o GC e GT, em que o GC teve maior número de palavras e, no momento Pós período experimental os grupos foram semelhantes. Embora não tenha havido decréscimo para o GC e nem acréscimo para o GT no número de palavras, este resultado pode ter relevância clínica na função executiva, considerando a similaridade no momento Pós período experimental. Se antes o GC e o GT eram diferentes, após o treinamento, esta mesma diferença não foi evidenciada, como poderia ser esperado. Para os demais testes que avaliaram função cognitiva, houve uma manutenção no desempenho cognitivo entre o Pré período experimental e Pós período experimental. De forma conjunta, a manutenção cognitiva pode ser considerada um benefício importante, visto que a DA é neurodegenerativa e progressiva, acometendo gradualmente de forma negativa o desempenho cognitivo (STEIN et al., 2013).



Conquanto não tenham sido evidenciados resultados significativos na melhora cognitiva de idosos com DA após um período de treinamento, grande parte dos estudos tem demonstrado que o exercício físico pode ser uma ferramenta eficaz no tratamento da doença de Alzheimer, contribuindo em outros aspectos além das funções cognitivas, como aspectos físicos e comportamentais (PHILLIPS et al., 2015; GROOT et al, 2015). Nesse sentido, existe uma série de recomendações que podem embasar a prática do profissional de Educação Física a propor um programa de exercícios para idosos com DA. Porém, a maioria destas, seja para idosos com DA ou para idosos com demência, tratam-se de protocolos generalizados que não dão prioridade a um componente específico da capacidade funcional.

Dentre os estudos que adotaram um protocolo multimodal (HERNANDEZ et al., 2010; VREUGDENHILL et al., 2012, COELHO et al., 2013), é possível observar que também não existe consenso em relação aos efeitos do exercício generalizado nas funções cognitivas. Da mesma forma que o exercício aeróbio, protocolos multimodais geraram respostas positivas ou de manutenção nas funções cognitivas.

Duzel, Van Praag e Sendtner (2016) evidenciaram que o exercício físico, com intensidade maior que 75% da frequência cardíaca máxima, com frequência de 3 vezes semanais, por um período de 3 a 6 meses poderiam melhorar a função encefálica de idosos. Por outro lado, para idosos com DA, especificamente, uma meta-análise de Groot et al. (2015) evidenciou que o exercício aeróbio realizado de forma isolada por meio de treinamento aeróbio ou incluso em treinamento multimodal, tem a mesma capacidade para interferir positivamente na função cognitiva de idosos com demência/ DA. Outros tipos de protocolos que não o incluíam não foram eficazes na cognição de idosos com DA. Neste sentido, em estudo anterior Vital et al. (2012) demonstraram que em uma população semelhante à do presente estudo, um protocolo de treinamento com pesos não foi efetivo para melhora cognitiva.

Outra variável analisada na meta-análise de Groot et al. (2015) foi a frequência semanal em que foram realizados os estudos controlados e randomizados. A frequência menor ou igual a 150 minutos e, maior ou igual a 150 minutos por semana não implica em resultados diferentes na cognição de idosos com DA: ambas as frequências são efetivas para a melhora das funções cognitivas.

Neste sentido, com relação ao tipo de treinamento adotado, frequência semanal, período total e intensidade, o protocolo do presente estudo se aproximou das recomendações consideradas anteriormente, todavia sem efeitos positivos na cognição. Outro fator que reforça este ponto foi o GT ter melhorado seu desempenho no teste incremental, portanto, sua capacidade aeróbia, revelando que o treinamento foi efetivo para o que se propôs.

O presente estudo também mostrou como os grupos Controle e Treinamento se comportaram ao longo do período para o primeiro e segundo teste incremental nos valores plasmáticos dos níveis de IGF-1. E, embora o treinamento tenha sido efetivo no incremento da capacidade aeróbia, ainda assim, pode não ter sido suficiente para gerar melhoras cognitivas. Neste sentido, deve ser levada em conta uma limitação do estudo que pode ter interferido nestes resultados. Parte da amostra, anteriormente ao Pré período experimental, participava de um programa de exercício físico, incluso no Programa de Cinesioterapia Funcional e Cognitiva para Idosos com DA (GARUFFI et al., 2011). Ainda que tenha sido controlado o intervalo entre o fim da participação em um protocolo de treinamento anteriormente oferecido ao início da participação no presente estudo, muitos idosos com DA já poderiam ter atingido alguma mudança referente ao IGF-1 e função cognitiva.

Para os valores de HOMA-IR, também não foram verificadas diferenças significativas entre grupos e momentos. Contudo, foi possível observar que a frequência relativa do número de idosos com DA que apresentavam valores indesejáveis para os valores de glicemia foram modificados no momento Pós período experimental somente para o Grupo Treinamento, em que houve redução de um caso. No GT, no momento Pré período experimental, haviam dois casos de idosos com DA com índices de glicemia maior que 126mg/dL e no GC não havia qualquer caso. Após o período de 12 semanas, houve apenas um participante do Grupo Treinamento que apresentou valores superiores ao limite estabelecido, regularizando assim um possível quadro de insulino-resistência. Em contrapartida, no Grupo Controle o número de casos aumentou de zero para dois idosos com DA com índice maior que o desejável para os valores de glicemia. Desta forma, apesar de não encontrada diferença significativa nos valores brutos e no teste de qui-quadrado, este resultado tem uma importante relevância clínica, uma vez que pode reforçar o papel potencial do exercício aeróbio para controlar e/ou impedir o aparecimento e agravamento da condição de pré diabetes e diabetes em idosos. Em estudo anterior foram encontrados alguns resultados semelhantes. Baker et al. (2011b) verificaram que após 24 semanas de treinamento aeróbio para idosos com comprometimento cognitivo leve, os valores de HOMA foram reduzidos e não houve diferença significativa nos níveis de IGF-1.

Embora este estudo venha a esclarecer lacunas existentes entre as recomendações de exercício físico a idosos com doença de Alzheimer, níveis de IGF-1 e funções cognitivas, algumas limitações devem ser levadas em conta para que os dados sejam analisados com cautela: sabe-se que escalas e questionários tem um grande uso clínico e em pesquisas, porém instrumentos mais objetivos, como eletroencefalograma, potencial evocado, ressonância magnética, entre outros poderiam fornecer mais fidedignamente as respostas cognitivas dessa

população. Outrossim, estudos com animais poderiam indicar a dinâmica entre IGF-1 circulante e via de sinalização induzida pelo exercício físico na doença de Alzheimer. Além disso, outra limitação do presente estudo é a ausência de análises genéticas, uma vez que o polimorfismo genético de IGF-1 influi diretamente sobre a síntese deste fator de crescimento no organismo, sendo que para casos de homocigotos de genótipo 192 existe uma associação com menores níveis de IGF-1 comparados com heterocigotos ou com não carreadores (ROSEN et al., 1998).

Estudos anteriores como o de Voss et al. (2013) e Maass et al. (2016) demonstraram resultados interessantes entre níveis de IGF-1 circulante e relação com ressonância magnética funcional. O primeiro estudo revelou que mudanças dos níveis circulantes de IGF-1 estiveram relacionados ao aumento da conectividade entre giro bilateral médio temporal e giro parahipocampal. Já o segundo estudo apontou associação dos níveis circulantes de IGF-1 com o volume do hipocampo (MAASS et al., 2016). Apesar das limitações do uso de marcadores periféricos acerca do funcionamento do sistema nervoso central, ambos os estudos revelam o potencial uso do IGF-1 circulante sobre o funcionamento encefálico de humanos.

Em modelo animal, outras medidas diretas puderam ser realizadas. Cassilhas et al. (2012) verificaram que após um período de treinamento aeróbio, ratos que praticaram exercício físico tiveram aumento no IGF-1 hipocampal sem alteração no IGF-1 circulante – sérico e, houve melhora na performance cognitiva. Outro estudo mais recente demonstrou que ratos considerados envelhecidos tiveram aumento no IGF-1 hipocampal e desempenho cognitivo semelhante ao de ratos jovens após um período de treinamento (VANZELLA et al., 2017). Desta forma, diferente da relação entre exercício e IGF-1 circulante, o IGF-1 hipocampal é considerada como mais consensual nesta relação e na resposta cognitiva.

Os resultados do capítulo 3 também podem fornecer algumas pistas em relação a sinalização de IGF-1 em idosos com DA. Se for considerada a manutenção de níveis de IGF-1 em idosos cognitivamente preservados a curto prazo, como encontrado no Capítulo anterior, e observando o resultado do estudo de Voss et al. (2013) – redução dos níveis de IGF-1 após um programa de treinamento - pode ser que haja uma regulação de IGF-1 por meio do exercício aeróbio que não seja um aumento nesses níveis, mas sim um ponto ótimo de sua produção e utilização em condições normais. Nota-se que quando a amostra é composta por idosos cognitivamente preservados pode haver um platô de desempenho cognitivo, o que poderia explicar o desempenho cognitivo inalterado encontrado pelos autores.

Assim, o uso do IGF-1 circulante e as escalas cognitivas representam algumas limitações do presente estudo, bem como o pequeno número amostral do estudo (n=34, GC=16; GT=18). Sobre a última limitação, a adesão e aderência a programas de treinamento, muitas

vezes, representam uma dificuldade no recrutamento da amostra e na continuidade no programa de exercício físico (JONES et al., 2005).

Resumidamente, este estudo apontou que o treinamento aeróbio não provocou mudanças nos níveis de IGF-1 circulante, bem como não foi efetivo para melhora cognitiva. Entretanto, são necessários estudos controlados, randomizados que adotem exercícios aeróbios, manipulando de outras formas as variáveis de treinamento e que utilizem instrumentos mais refinados para mensurar as funções cognitivas.

#### **4.5 CONCLUSÃO**

De acordo com os resultados encontrados neste estudo, podemos concluir que: a) o treinamento aeróbio não provocou mudanças nos níveis circulantes de IGF-1; b) o treinamento aeróbio não foi efetivo na melhora cognitiva; c) não houve associação entre níveis de IGF-1 com cognição, glicemia ou insulina de idosos com DA. Entretanto, o treinamento aeróbio foi eficaz para manutenção da função executiva e para o controle e tratamento de quadros insulino-resistentes.

## CAPÍTULO 5

*Acute exercise does not modify brain activity and memory performance in  
APP/PS1 mice*

# ACUTE EXERCISE DOES NOT MODIFY BRAIN ACTIVITY AND MEMORY PERFORMANCE IN APP/PS1 MICE

Status: Este artigo foi fruto do doutorado sanduíche realizado no “Consejo Superior de Investigaciones Científicas” – Instituto Cajal, Madrid, Espanha - nos anos de 2015 e 2016. O artigo foi publicado na Revista “PLOS One” em maio de 2017 – Anexo 9.



## RESEARCH ARTICLE

### Acute exercise does not modify brain activity and memory performance in APP/PS1 mice

Angelica Miki Stein<sup>1,2,3</sup>, Victor Munive<sup>1,2</sup>, Ana M. Fernandez<sup>1,2</sup>, Angel Nuñez<sup>4</sup>, Ignacio Torres Aleman<sup>1,2\*</sup>

**1** Cajal Institute, Madrid, Spain, **2** Ciberned, Madrid, Spain, **3** Universidade Estadual Paulista, São Paulo, Brazil, **4** School of Medicine, Autonomía University of Madrid, Madrid, Spain

\* [torres@cajal.csic.es](mailto:torres@cajal.csic.es)



## OPEN ACCESS

**Citation:** Miki Stein A, Munive V, Fernandez AM, Nuñez A, Torres Aleman I (2017) Acute exercise

does not modify brain activity and memory performance in APP/PS1 mice. *PLoS ONE* 12(5): e0178247. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0178247>

**Editor:** Sergio Pellis, University of Lethbridge, CANADA

**Received:** March 22, 2017

**Accepted:** May 10, 2017

**Published:** May 22, 2017

**Copyright:** © 2017 Miki Stein et al. This is an open access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

**Data Availability Statement:** All relevant data are within the paper and its Supporting Information file.

**Funding:** AMS was supported by Capes PDSE 99999.010743/2014-06 and Fapesp 2013/19729-0, Universidade Estadual Paulista (Brazil). VM is a recipient of an FPI fellowship. We are thankful to L. Guinea for excellent technical support. This work was funded by grants SAF2013-40710-R/SAF2016-76462 AEI/FEDER, and by Ciberned.

## Abstract

Age is the main risk factor for Alzheimer’s disease (AD). With an increasingly aging population, development of affordable screening techniques to determine cognitive status will help identify population-at-risk for further follow-up. Because physical exercise is known to modulate cognitive performance, we used it as a functional test of cognitive health. Mice were submitted to treadmill running at moderate speed for 30 min, and their brain activity was monitored before and after exercise using electrocorticogram (ECG) recordings. After exercise, normal, but not APP/PS1 mice, a well established AD model, showed significantly increased ECG theta rhythm. At the same time normal, but not AD mice, showed signifi-

cantly enhanced performance in a spatial memory test after exercise. Therefore, we postulate that a running bout coupled to pre- and post-exercise brain activity recordings will help identify individuals with cognitive alterations, by determining the presence or absence of exercise-specific changes in brain activity. Work in humans using a bout of moderate exercise plus electroencephalography, a clinically affordable procedure, is warranted.

## Introduction

With an increasingly larger proportion of aged people in modern societies, cognitive loss in the aging population is becoming a paramount problem for public health agencies. Hence, an urgent need for early identification of individuals at risk of developing cognitive loss is widely recognized [1]. Current clinical practice to determine the presence of cognitive problems relies entirely on psychometric tests that are reliable but laborious, and require well-trained personnel [2, 3]. Furthermore, these tests are useful to detect early signs of cognitive disturbances, already when deficits are present [3]. Intense focus on this problem has resulted in the appearance of new diagnostic techniques based on biochemical parameters in cerebro-spinal fluid (CSF) and in brain imaging. The first approach is problematic because CSF samples are not easy to obtain. The second one is expensive and requires state-of-the-art facilities. In both cases, highly trained professionals are a must. On top of that, any of these procedures have yet been implemented for early diagnosis, prior to the appearance of cognitive disturbances.

As exemplified by cardiovascular screening programs, preventive screening procedures of the general population are an optimal way to detect populations-at-risk, but difficult to support

## Análises adicionais

Status: no artigo anterior não foram publicados os dados e as análises do grupo de camundongos com deficiência de IGF-1. No entanto, estes dados foram analisados e foi publicado um resumo expandido incluindo os três grupos de camundongos – Anexo 10.

**Referência:** STEIN, A.M.; NUÑES, A.; TORRES-ALÉMAN, I. Diferentes respostas no ritmo theta após sessão de exercício aeróbio na doença de Alzheimer e deficiência de IGF-1. Anais CIEFMH – Congresso Internacional de Educação Física e Motricidade humana, v.1, 2017.

### DIFERENTES RESPOSTAS NO RITMO THETA APÓS SESSÃO DE EXERCÍCIO AERÓBIO NA DOENÇA DE ALZHEIMER E DEFICIÊNCIA DE IGF-1

Angelica Miki Stein<sup>1,2</sup>, Angel Nuñez<sup>2,3</sup>, Ignacio Torres-Aléman<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Atividade física e Envelhecimento, Unesp – Campus Rio Claro/ SP – Brasil;

<sup>2</sup>Instituto Cajal, Madri – Espanha; <sup>3</sup> Escola de Medicina, Universidad Autonoma, Madri, Espanha

#### Resumo

O objetivo deste estudo foi verificar a resposta do exercício aeróbio na atividade elétrica encefálica em ratos selvagens, ratos modelos pré sintomáticos da DA, e ratos com deficiência de IGF-1. Para mensurar a atividade das ondas delta, theta, alpha, beta e gamma foram utilizados registros de electrocorticograma (ECG) antes e depois da sessão de exercício. Todos os animais passaram por uma cirurgia para implantes de eletrodo de aço inoxidável no córtex parietal, usando implantes telemétricos DSI. Após o mínimo de 4 dias de recuperação, os ratos foram submetidos a sessões de exercício aeróbio realizadas em esteira ergométrica, com velocidade de 9 metros/ min, durante 15 e/ou 30 min. Para análise estatística, foi utilizada a Anova One Way no momento baseline e após a sessão de exercício. Foram observadas diferenças significativas na banda theta entre os três grupos. Desta forma, conclui-se que a resposta na banda theta é diferente na condição usual e no modelo pré sintomático de DA e, ainda pode ser dependente dos níveis de IGF-1.

**Palavras-chave:** doença de Alzheimer, exercício aeróbio, electrocorticograma, telemetria.

#### Abstract

The aim of this study was to verify the aerobic exercise response on electrical cortical activity in wild type mice, a presyntomatic AD mice and mice with IGF-1 deficiency. To measure delta, theta, alpha, beta and gamma band it was used electrocorticogram registers (ECG) before and after aerobic exercise. All animals were submitted a surgery to implant a transmitter device on parietal cortex, using a DSI Implantable Telemetry device. After that, mice remain in their cages a minimum of 4 days to recover. Next this period, all mice were submitted to aerobic exercise session on a treadmill, with 9 meters/ min, during 15 and/or 30 minutes. In statistical analyses, it was used Anova One Way to compare the groups on baseline and after exercise. Differences were observed on theta band between three groups. Thus, it is concluded that the response in theta band is different in usual condition and AD pre syntomatic model and, may be dependent of IGF-1 levels.

**Key words:** Alzheimer's disease, aerobic exercise, electrocorticogram, telemetry.

# CAPÍTULO 6

*Considerações Gerais e Conclusões*



## 6.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS

Os objetivos desta tese foram: a) Analisar por meio de revisão sistemática estudos que verificassem a resposta ao exercício físico em níveis circulantes de IGF-1 e funções cognitivas na população idosa; b) Comparar a resposta aguda ao exercício aeróbio nos níveis de IGF-1 em idosos cognitivamente preservados e idosos com DA; c) Verificar o efeito do treinamento aeróbio nas funções cognitivas e nos níveis de IGF-1 de idosos com DA, comparando um Grupo Controle e um Grupo Treinamento; d) Comparar a resposta aguda ao exercício aeróbio na atividade encefálica em camundongos selvagens, modelos pré sintomáticos da DA e camundongos com deficiência de IGF-1.

Na elaboração desta tese, a pergunta central era se o exercício aeróbio poderia influenciar na resposta cognitiva e nos níveis de IGF-1 na DA, uma vez que vários estudos têm demonstrado que programas de exercício físico podem ser efetivos no tratamento da DA, podem melhorar a função cognitiva e um dos mecanismos putativos nesta relação são os fatores neurotróficos, entre eles o IGF-1. Neste sentido, no Capítulo 2 foi realizada uma busca na literatura sobre artigos que elucidassem o efeito de protocolos de treinamento na função cognitiva e nos níveis circulantes de IGF-1 em idosos. Desta forma, sete artigos foram incluídos na revisão sistemática e revelaram que não há um consenso acerca dos efeitos do treinamento na relação entre melhora cognitiva e alteração dos níveis de IGF-1. A dificuldade em estabelecer esta relação se deu por vários motivos, como: diferentes amostras, diferentes protocolos de exercício, diferentes respostas - independentes do tipo de exercício, intensidade, frequência e duração - além de medidas cognitivas variadas.

O Capítulo 3 buscou investigar se uma população de idosos cognitivamente preservados e idosos com DA que têm desempenhos cognitivos diferentes, poderiam responder de forma distinta ao exercício aeróbio agudo. Na comparação destes grupos, diferentes respostas nos níveis circulantes de IGF-1 foram observadas, sobretudo idosos com DA tem um aumento nestes níveis, indicando uma possível resistência de IGF-1 e/ou uma resposta compensatória induzida pelo exercício físico.

Adicionalmente a estes resultados, o Capítulo 4 buscou investigar a resposta ao exercício físico aeróbio de forma crônica nos níveis de IGF-1 e nas funções cognitivas de idosos com DA. Para tanto, houve a comparação entre dois grupos: Controle *versus* Treinamento. Os achados deste capítulo demonstraram que o treinamento aeróbio foi efetivo para incremento da capacidade aeróbia, mas não para a cognição ou regulação dos níveis de IGF-1. Porém, ao analisar os resultados das funções cognitivas, houve uma manutenção destas, bem como a

redução de 1 possível caso de insulino-resistência, indicando certo efeito positivo oriundo do treinamento.

Diferentemente dos capítulos anteriores, no Capítulo 5, foi adotado o modelo animal e a inserção de outro biomarcador: o eletrocorticograma. Houve a comparação da atividade encefálica em três grupos de camundongos: selvagens, pré sintomáticos da DA e com deficiência de IGF-1. Paralelamente, foi realizado um experimento para verificar o desempenho cognitivo após uma sessão de exercício aeróbio em esteira ergométrica. Os três grupos de camundongos tiveram respostas distintas no eletrocorticograma: o grupo de camundongos selvagens teve aumento na banda theta, o grupo APP/PS1 não sofreu nenhuma modificação significativa, e o grupo LID teve diminuição na banda theta. Em relação ao desempenho cognitivo, o grupo de camundongos selvagens demonstrou desempenho cognitivo superior ao grupo de camundongos APP/PS1 e em relação aos seus pares sedentários – sem realizar exercício agudo. Neste estudo, foi reforçado o papel do exercício agudo para melhora do desempenho cognitivo e para modificações na atividade encefálica, sendo que o IGF-1 pode ter alguma influência nesta relação.

O desenho experimental da tese permitiu verificar a relação entre exercício físico aeróbio, função cognitiva e níveis circulantes de IGF-1 e DA, salvo limitações como número amostral e medidas indiretas do funcionamento cognitivo nos capítulos 3 e 4. Outro viés metodológico consistiu na elaboração dos grupos Controle e Treinamento, no qual a amostra foi dividida por conveniência e, parte desta já participava do PRO-CDA. No capítulo 5 em particular, o número amostral do grupo de camundongos LID foi pequeno para as medidas de ECG e não foi possível realizar o teste do Y Maze neste grupo, por isso não foi comparado o desempenho cognitivo nos três grupos de camundongos.

De maneira geral, esta tese traz estudos originais e inéditos acerca de um suposto mecanismo relacionado ao exercício físico e à função cognitiva. Conjuntamente, foi verificado que o IGF-1 pode ter alguma influência sobre o funcionamento cognitivo (Capítulos 2, 3 e 5), o protocolo de exercício aeróbio promoveu efeitos positivos na cognição e no controle de quadros de insulino-resistência (Capítulo 4), antes mesmo do diagnóstico da DA o exercício físico agudo somado a um biomarcador podem ser auxiliares no diagnóstico diferencial da doença (Capítulo 5).

## 6.2 CONCLUSÕES

Como conclusão, os principais achados desta tese, foram:

a) não existe um protocolo de exercício físico único capaz de modificar os níveis de IGF-1 e provocar melhora cognitiva – diferentes protocolos com tipos de exercício diferentes, frequência, intensidade e duração provocaram diferentes respostas nestas variáveis – sendo que, tanto o exercício aeróbio como resistido parecem influenciar positivamente esta relação;

b) Idosos cognitivamente preservados e idosos com DA respondem de maneira diferente ao exercício aeróbio agudo nos níveis de IGF-1, sendo que idosos com DA têm um aumento nos níveis circulantes de IGF-1 e idosos cognitivamente preservados apresentam manutenção nestes níveis, indicando uma possível resistência na utilização deste fator neurotrófico e ou uma resposta compensatória induzida pelo exercício físico;

c) O protocolo de treinamento aeróbio adotado neste estudo não foi efetivo para melhora cognitiva, nem para modificações nos níveis de IGF-1 em idosos com DA, porém pôde ser benéfico para a função executiva e o controle de quadro de insulino-resistência;

d) Camundongos selvagens, camundongos pré-sintomáticos da DA e camundongos com deficiência de IGF-1 respondem de maneira diferente ao exercício aeróbio agudo na atividade encefálica, sendo que o exercício agudo se mostrou efetivo no desempenho cognitivo.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADLARD, P.A.; PERREAU, V.M.; POP, V.; COTMAN, C.W. Voluntary exercise decreases amyloid load in a transgenic model of Alzheimer's disease. **The Journal of Neuroscience**, v. 25, n.17, 2005.

Alzheimer's Association. **2012 Alzheimer's Disease Facts And Figures**. Alzheimer's & Dementia, v. 8, n. 2, p. 1 -72, 2012.

Alzheimer's Disease Education & Referral Center (ADEAR). Alzheimer's disease: fact sheet. **National Institute on Aging National Institutes of Health U.S. Department of Health and Human Services, NIH...Turning Discovery Into Health®**, n. 11 - 6437, 2011.

Alzheimer's disease international. **World Alzheimer Report 2013**. Alzheimer's Disease International, London, Copyright © Alzheimer's Disease International, 2013

American College of Sports Medicine (ACSM). **Diretrizes do ACSM para os testes de esforço e sua prescrição**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003.

ANDERSEN, C. K.; WITTUP-JENSEN, K. U.; LOLK, A.; ANDERSEN, K.; KRAG-SORENSEN, P. Ability to perform activities of daily living is the main factor affecting quality of life in patients with dementia. **Health and Quality of Life Outcomes**. doi:10.1186/1477-7525-2-52, 2004.

ANDRADE, L.P.; COELHO, F.G.M.; BARBIERI, F.A.; ORCIOLI-SILVA, D.; SIMIELI, L. Alterações motoras na doença de Alzheimer. In: COELHO, F.G.M.; GOBBI, S.; COSTA, J.L.R.; GOBBI, L.T.B. **Exercício físico no envelhecimento saudável e patológico: da teoria à prática**. Curitiba (PR): Editora CRV, 2013, p. 201-213.

ARCOVERDE, C.; DESLANDES, A.; MORAES, H.; ALMEIDA, C.; ARAUJO, N.B.; DE VASQUES, P.E., et al. Treadmill training as an augmentation treatment for Alzheimer's disease: a pilot randomized controlled study. **Arquivos de neuro-psiquiatria**, v. 72, n.3, p.190-6, 2014.

ATALAIA-SILVA, K. C.; LOURENÇO, R. A. Tradução, adaptação e validação de construto do Teste do Relógio aplicado entre idosos no Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 42, p. 930-937, 2008.

BAKER, L. D.; FRANK, L. L.; FOSTER-SCHUBERTC, K.; GREEN, P. S.; WILKINSON, C.W.; McTIERNANC, A.; et al. Aerobic Exercise Improves Cognition for Older Adults with Glucose Intolerance, A Risk Factor for Alzheimer's Disease. **Journal of Alzheimer's disease**, v. 22, n. 2, p. 569-579, 2010b.

BAKER, L.D.; FRANK, L.L.; FOSTER-SCHUBERTC, K.; GREEN, P.S.; WILKINSON, C.W.; MCTIERNANC, A.; PLYMATE, S.R.; FISHEL, M.A.; WATSON, G.S.; CHOLERTON, B.A.; DUNCAN, G.E.; MEHTA, P.D.; CRAFT, S. Effects of Aerobic Exercise on Mild Cognitive Impairment: A Controlled Trial. **Archives of Neurology**, v. 67, p. 71-79, 2010a.

BARNES, D.E; YAFFE, K. The projected effect of risk factor reduction on Alzheimer's disease prevalence. **Lancet Neurology**, 10: 819-28, 2011.

BARTKE, A.; CHANDRASHEKAR, V.; DOMINICI, F.; TURYN, D.; KINNEY, B.; STEGER, R.; KOPCHICK, J.J. Insulin-like growth factor 1 (IGF-1) and aging: controversies and new insights. **Biogerontology**, v. 4, n.1, p.1-8, 2003.

BAXTER, R.C. Insulin-like growth factor (IGF)-binding proteins: interactions with IGFs and intrinsic bioactivities. **American journal of physiology, Endocrinology and metabolism**, v. 278, n.6, p. E967–E976, 2000.

BEATO, R. G.; NITRINI, R.; FORMIGONI, A. P.; CARAMELLI P. Brazilian version of the Frontal Assessment Battery (FAB). **Dementia e Neuropsychologia**, v.1 p.59-65, 2007.

BEAUCHET, O.; ANNWEILER, C.; CALLISAYA, M.L.; DeCOCK, A.M.; HELBOSTAD, J.I.; KRESSING, R.W.; SRIKANTH, V.; STEINMETZ, J.P.; BLUMEN, H.M.; VERGHESE, J.; ALLALI, G. Poor gait performance and prediction of dementia: results from a meta-analysis. **Journal of the American Medical Directors Association**, v. 17, p. 482-490, 2016.

BELLAR, D.; GLICKMAN, E.L.; JUVANCIC-HELTZEL, J.; GUNSTAD, J. Serum insulin like growth factor-1 is associated with working memory, executive function and selective attention in a sample of healthy, fit older adults. **Neuroscience**, v.178, p. 133-137, 2011.

BENILOVA, I.; KARRAN, E.; STROOPER, B.D. The toxic A $\beta$  oligomer and Alzheimer's disease: an emperor in need of clothes. **Nature Neuroscience**, v.15, p. 349-357, 2012.

BLOOR, C.M. Angiogenesis during exercise and training. **Angiogenesis**, v.8, p.263-271, 2005.

BORG, G.A.V. Physiological bases of perceived exertion. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v.14, n.3, p.377-87, 1982.

BRUCKI, S. M. D.; MALHEIROS, S. M. F.; OKAMOTO, I. H.; BERTOLUCCI, P. H. F. Dados normativos para o uso do teste de fluência verbal categoria animais em nosso meio. **Arquivos de Neuropsiquiatria**, v.55, p. 56-61, 1997.

BRUCKI, S. M. D.; NITRINI, R.; CARAMELLI, P.; BERTOLUCCI, P. H. F.; OKAMOTO, J. H. Suggestions for the utilization of the mini-mental state examination in Brazil. **Arquivos de Neuropsiquiatria**, v.61, n.3-B, p.777-781, 2003.

BYUN, K.; HYODO, K.; SUWABE, K.; OCHI, G.; SAKAIRI, Y.; KATO, M.; DAN, I.; SOYA, H. Positive effect of acute mild exercise on executive function via arousal-related prefrontal activations: an fNIRS study. **Neuroimage**, v. 98, p. 336-45, 2014.

CARRO, E.; NUÑEZ, A.; BUSIGUINA, S.; TORRES-ALEMAN, I. Circulating Insulin-like growth factor I mediates effects of exercise on the brain. **The Journal of Neuroscience**, v.20, n.8, p. 2926-2933, 2000.

CARRO, E.; TREJO, J. L.; GERBER, A.; LOETSCHER, H.; TORRADO, J.; METZGER, F.; TORRES-ALEMAN, I. Therapeutic actions of insulin-like growth factor I on APP/PS2 mice with severe brain amyloidosis. **Neurobiology of Aging**, v. 27, p. 1250–1257, 2006b.

CARRO, E.; TREJO, J. L.; SPUCH, C.; BOHL, D.; HEARD, J. M.; TORRES- ALEMAN, I. Blockade of the insulin-like growth factor I receptor in the choroid plexus originates Alzheimer's-like neuropathology in rodents: new cues into the human disease? **Neurobiology of Aging**, v. 27, p.1618–1631, 2006a.

CARRO, E.; TORRES-ALEMAN. The role of insulin-like growth factor I in the molecular and cellular mechanism underlying the pathology of Alzheimer's disease. **European Journal of Pharmacology**, v. 490, p. 127-133, 2004.

CASSILHAS, R.C.; LEE, K. S.; FERNANDES, J.; OLIVEIRA, M. G.; TUFIK, S.; MEEUSEN, R.; DE MELLO, M. T. Spatial memory is improved by aerobic and resistance exercise through divergent molecular mechanisms. **Neuroscience**, 202, 309-317, 2012.

CASSILHAS, R. C.; VIANA, V.R.; GRASSMANN, V.; SANTOS, R.T.; SANTOS, R. F; TUFIK, S.; MELLO, M. T. The impact of resistance exercise on the cognitive function of the elderly. **Medicine and science in sports and exercise**, v. 39, p. 1401–1407, 2007.

CHRISTOFOLETTI, G.; OLIANI, M. M.; CORAZZA, D. I.; STELLA, F.; GOBBI, S.; BUCKEN GOBBI, L. T.; BORGES, G. Influencia de la actividad física en la enfermedad de Alzheimer: un caso clínico. **Revista Iberoamericana de Fisioterapia y Kinesiología**, v. 12, n. 2, p. 96-100, 2009.

CLEMMONS, D.R. Metabolic Actions of IGF-1 in Normal Physiology and Diabetes. **Endocrinology and metabolism clinics of North America**, v. 41, n. 2, p. 425–443, 2012.

COELHO, F.G.M.; GALDUROZ-SANTOS, R.F.; GOBBI, S.; STELLA, F. Atividade física sistematizada e desempenho cognitivo com demência de Alzheimer: uma revisão sistemática. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, v. 31, p. 163-170, 2009.

COELHO, F. G. M.; ANDRADE, L. P.; PEDROSO, R. V.; SANTOS-GALDUROZ, R. F.; GOBBI, S.; COSTA, J. L. R.; GOBBI, L. T. B. Multimodal exercise intervention improves frontal cognitive functions and gait in Alzheimer's disease: A controlled trial. **Geriatrics and Gerontology International**, v. 13, p. 198-203, 2013.

COELHO, F. G. M.; VITAL, T. M.; STEIN, A. M.; ARANTES, F. J.; RUEDA, A. V.; CAMARINI, R.; TEODOROV, E.; SANTOS-GALDUROZ, R. F. Acute Aerobic Exercise Increases Brain Derived Neurotrophic Factor Levels in Elderly with Alzheimer s Disease. **Journal of Alzheimer's Disease**, v. 39, n. 2, p. 401-408, 2014.

COLCOMBE, S.J.; ERICKSON, K.I.; SCALF, P.E.; KIM, J.S.; PRAKASH, R.; McAULEY, E.; ELAVSKY, S.; MARQUEZ, D.X.; HU, L.; KRAMER, A. Aerobic exercise training increases brain volume in aging humans. **Journal of gerontology**, v.61<sup>a</sup>, n.11, p.1166-1170, 2006.

COLCOMBE, S.J.; KRAMER, A.F.; ERICKSON, K.I.; SCALF, P.; McAULEY, E.; COHEN, N.J.; WEBB, A.; JEROME, G.J.; MARQUEZ, D.X.; ELAVSKY, S. Cardiovascular fitness, cortical plasticity, and aging. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, 101, p. 3316-3321, 2004.

COTMAN, C.W.; BERCHTOLD, N.C.; CHRISTIE, L. Exercise builds brain health: key roles of growth factor cascades and inflammation. **Trends in Neurosciences**, London, v.20, n.9, p. 464-472, 2007.

CRAIG-SCHAPIRO, R.; FAGAN, A.M.; HOLTZMAN, D.M. Biomarkers of Alzheimer's disease. **Neurobiology of disease**, v.35, n.2, p. 128-140, 2009.

CUMMINGS, J.L.; MEGA, M.; GRAY, K.; ROSENBERG-THOMPSON, S.; CARUSI, D. A.; GORNBEIN, J. The neuropsychiatric inventory: comprehensive assesment of psychopatology in dementia. **Neurology**, v.44, p. 2308-2314, 1994.

DAWSON, G.; SEABROOK, G. ZHENG, H.; SMITH, D.; GRAHAM, S.; O'DOWD, G.; BOWERY, S.; BOYCE, S.; TRUMBAUER, M.; CHEN, H.; VAN DER PLOEG, L.; SIRINATHSINGHI, D.. Age-related cognitive deficits, impaired long-term potentiation and reduction in synaptic marker density in mice lacking the  $\beta$ -amyloid precursor protein. **Neuroscience**, v. 90, p. 1-13, 1999

DE LA MONTE, S.M.; TONG, M.; NGUYEN, V. A.; SETSHEDI, M.; LONGATO, L.; WAND, J. Ceramide-Mediated Insulin Resistance and Impairment of Cognitive-Motor Functions. **Journal of Alzheimer's disease**, v. 21, n. 3, p. 967-984, 2010.

DESLANDES, A.; MORAES, H.; FERREIRA, C.; VEIGA, H.; SILVEIRA, H.; MOUTA, R.; et al. Exercise and mental health: many reasons to move. **Neuropsychobiology**, v. 59, p.191-198, 2009.

D'ERCOLE, A.J.; APPLEWHITE, G.T.; UNDERWOOD, L.E. Evidence that somatomedin is synthesized by multiple tissues in the fetus. **Development Biology**, v.75, n.2, p. 315-328, 1980.

DING, Q.; AKHAVAN, M.; YING, Z.; GOMEZ-PINILLA, F. Insulin-like growth fator I interfaces with brain-derived neurotrophic fator-mediated synaptic plasticity to modulate aspects of exercise-induced cognitive function. **Cellular neuroscience**, v. 40, n.3, p. 823-833, 2006.

DRACHMAN, D.A. The amyloid hypothesis, time to move on: Amyloid is the downstream result, not cause of Alzheimer's disease. **Alzheimer's & Dementia**, v. 10, p.372-380, 2014.

DUBOIS, B; SLACHEVSKY A.; LITVAN, I.; PILLON B. The BAF: A Frontal Assessment Battery at bedside. **Neurology**, v.55, p.1621-1626, 2000.

DURON, E.; FUNALOT, B.; BRUNEL, N.; COSTE, J.; QUINQUIS, L.; VIOLLET, C.; BELMIN, J.; JOUANNY, P.; PASQUIER, F.; TRELUYER, J.M.; EPELBAUM, J.; BOUC, Y.L.; HANON, O. Insulin-like growth fator-I and Insulin-like growth fator binding protein-3 in Alzheimer's disease. **The journal of clinical endocrinology and metabolism**, v. 97, n.12, p. 4673-4681, 2012.

DUZEL, E.; VAN PRAAG, H.; SENDTNER, M. Can physical exercise in old age improve memory and hippocampal function? **Brain: a jornal of Neurology**, v. 139, p. 662-673, 2016.

FARINA, N.; RUSTED, J.; TABEL, N. The effect of exercise interventions on cognitive outcome in Alzheimer's disease: a systematic review. **International Psychogeriatrics**, v. 26,

n.1, p. 9-18, 2014.

FIRTH, S.M.; BAXTER, R.C. Cellular actions of the insulin-like growth factor binding proteins. **Endocrine Reviews**, v. 23, n.6, p. 824–854, 2002.

FOLSTEIN, M.F.; FOLSTEIN, S.E.; MCHUGH, P.R. Mini-mental state. A practical method for grading the cognitive patients for the clinician. **Journal Psychiatric Research**, v. 12, n. 3, p.189-98, 1975.

FORLENZA, O. V. Tratamento farmacológico da Doença de Alzheimer. **Revista de Psiquiatria Clínica**, v. 32, n. 3, p. 137-148, 2005.

FOSTER, P. P.; ROSENBLATT, K. P.; KULJIS, R. O. Exercise-induced cognitive plasticity, implications for mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. **Frontiers in Neurology**, v. 2, n. 28, 2011.

FRATIGLIONI, L., LAUNER, L. J., ANDERSEN, K., BRETELER, M. M., COPELAND, J. R., DARTIGUES, J. F., LOBO, A., MARTINEZ-LAGE, J., SOININEN, H., HOFMAN, A. Incidence of dementia and major subtypes in Europe: a collaborative study of population-based cohorts. **Neurology**, v.54, S10-S5, 2000.

FREUDE, S.; HETTICH, M.M.; SCHUMANN, C.; STÖHR, O.; KOCH, L.; KÖHLER, C.; UDELHOVEN, M.; LEESER, U.; MÜLLER, M.; KUBOTA, N.; KADOWAKI, T.; KRONE, W.; SCHRÖDER, H.; BRÜNING, J.C.; SCHUBERT, M. Neuronal IGF-1 resistance reduces A $\beta$  accumulation and protects against premature death in a model of Alzheimer's disease. **The FASEB Journal**, v. 23, n. 10, p. 3315-3324, 2009.

FRYSTYK, J. Free insulin-like growth factors – mensuraments and relationships to growth hormone secretion and glucose homeostasis. **Growth Hormone & IGF Research**, London, v. 14 p. 337-375, 2004.

GARCÍA-MESA, Y.; LÓPEZ-RAMOS, J.C.; GIMÉNEZ-LLORT, L.; REVILLA, S.; GUERRA, R.; GRUART, A.; LAFERLA, F.M.; CRISTÒL, R.; DELGADO-GARCÍA, J.M.; SANFELIU, C. Physical exercise protects against Alzheimer's disease in 3xTg-AD mice. **Journal of Alzheimer's disease**, v.24, p. 421-454, 2011.

GARUFFI, M.; COSTA, J.L R.; HERNÁNDEZ, S.S.S.; VITAL, T.M.; STEIN, A.M.; SANTOS, J.G.; STELLA, F. Effects of resistance training on the performance of activities of daily living in patients with Alzheimer's disease. **Geriatrics & Gerontology International**, p. no-no, 2013.

GARUFFI, M.; GOBBI, S.; HERNANDEZ, S.S.S.; VITAL, T.M.; STEIN, A.M.; PEDROSO, R.V.; CORAZZA, D.I.; ANDRADE, L.P.; ANDREATTO, C.A.A.; COSTA, J.L.R.; STELLA, F. Atividade física para promoção de saúde de idosos com doença de Alzheimer e seus cuidadores. *Revista brasileira de atividade física e saúde*, v.16, n.1,p.80-84, 2011.

GASPARINI, L.; XU, H. Potential roles of insulin and IGF-1 in Alzheimer's disease. **Trends in neurosciences**, v.26, n.8, p.404-406, 2003.

GAZZANIGA, M.S.; IVRY, R.B.; MANGUN, G.R. **Neurociência Cognitiva: A Biologia da Mente**. 2ª edição – Porto Alegre: Artmed, 2006, 728p.



GHIGO, E.; NICOLOSI, M.; ARVAT, E.; MARCONE, A.; DANELON, F.; MUCCI, M.; FRANCESCHI, M.; SMIRNE, S.; CAMMANI, F. Growth hormone secretion in Alzheimer's disease: studies with growth hormone-releasing hormone alone and combined with pyridostigmine or arginine. **Dementia**, v. 4, n. 6, p. 315-320, 1993.

GIORDANO, R.; FORNO, D.; ZINNA, D.; GHIGO, E.; ARVAT, E. Human Ageing and the Growth hormone/ Insulin-Like growth factor-I (GH/IGF-I) Axis – The impact of growth factors on dementia. **The Open Endocrinology Journal**, v.6, p.49-61, 2012.

GROOT, C., HOOGHIEMSTRA, A. M., RAIJMAKERS, P. G. H. M., VAN BERCKEL, B. N. M., SCHELTENS, P., SCHERDER, E. J. A., et al. (2015). The effect of physical activity on cognitive function in patients with dementia: A meta-analysis of randomized control trials. **Ageing Research Reviews**, v. 25, p. 13–23. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2015.11.005>

GRONDOW, J.H. Biomarkers of Alzheimer disease. **Archives of neurology**, v. 56, p. 281-283, 1999.

HARRIS, L.K.; Westwood, M. Biology and significance of signalling pathways activated by IGF-II. **Growth Factors**, v.30, n.1, p. 1–12, 2012.

HERNANDEZ, S. S. S.; COELHO, F. G. M.; GOBBI, S.; STELLA, F. Efeitos de um programa de atividade física nas funções cognitivas, equilíbrio e risco de quedas em idosos com demência de Alzheimer. **Revista Brasileira de Fisioterapia**, v. 14, n. 1, p. 68-74, 2010.

HERNANDEZ, S. S. S. **Efeito do treinamento com pesos na apatia, funções cognitivas frontais e funcionalidade motora em pacientes com doença de Alzheimer**. 2011. 135f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Motricidade) - Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro. 2011.

HERNANDEZ, S.S.S.; SANDRESCHI, P.F.; SILVA, F.C.; ARANCIBIA, B.A.; SILVA, R.; GUTIERRES, P.J.; ANDRADE, A. What are the benefits of exercise for Alzheimer's disease? A systematic review of the past 10 years. **Journal of aging and physical activity**, v. 23, n.4, p.659-668, 2015.

HEUSER, I.J.E.; BARONTI, F.; MARIN, C.A.; MA, N.; MERRIAM, G.R.; CHASE, T.N.; MOURADIAN, M.M. Growth hormone secretion in Alzheimer's disease: 24-hour profile of basal levels and response to stimulation and suppression studies. **Neurobiology of aging**, v. 13, p. 255-260, 1992.

HOAGLIN, D.C.; IGLEWICZ, B.; TUKEY, J.W. Performance of some resistant rules for outlier labeling. **Journal of the American Statistical Association**, v. 81, p. 991-999, 1986.

HOFFMANN, K.; SOBOL, N.A.; FREDERIKSEN, K.S.; BEYER, N.; VOGEL, A.; VESTERGAARD, K.; BRAENDGAARD, H.; GOTTRUP, H.; LOLK, A.; WERMUTH, L.; JACOBSEN, S.; LAUGESEN, L.P.; GERGELYFFY, R.G.; HOGHI, P.; BJERREGAARD, E.; ANDERSEN, B.B.; SIERSMA, V.; JOHANNSEN, P.; COTMAN, C.W.; WALDEMAR, G.; HASSEBALCH, S.G. Moderate-to-High intensity physical exercise in patients with Alzheimer's disease: a randomized controlled trial. **Journal of Alzheimer's disease**, v.50, p.443-453, 2016.

ISAKSSON, O.G.; LINDAHL, A.; NILSSON, A.; ISGAARD, J. Mechanism of the stimulatory effect of growth hormone on longitudinal bone growth. **Endocrine Reviews**, v.8, n.4, p.426–438, 1987.

JONES, F.; HARRIS, P.; WALLER, H.; COGGINS, A. Adherence to an exercise prescription scheme: The role of expectations, self-efficacy, stage of change and psychological well-being. **British Journal of Health Psychology**, v. 10, p. 359-378, 2005.

JUNG, H.J.; SUH, Y. Regulation of IGF-1 signaling by microRNAs. **Frontiers in genetics**, v.5, n.472, p.1-13, 2015.

KRAMER, A. F.; ERICKSON, K. I. Effects of physical activity on cognition, well-being, and brain: Human interventions. **Alzheimer's & Dementia**, v. 3, n. 2, p. S45-S51, 2007.

KRAMER, A.F.; ERICKSON, K.I.; COLCOMBE, S.J. Exercise, cognition, and the aging. **Journal of applied physiology**, v. 101, p. 1237-1242, 2006.

KULJIŠ, R.O.; SALKOVIC-PETRIŠIĆ, M. Dementia, diabetes, Alzheimer's disease, and insulin resistance in the brain: progress, dilemmas, new opportunities, and a hypothesis to tackle intersecting epidemics. **Journal of Alzheimer's Disease**, v. 25, n.1, p. 29-41, 2011.

LAFENETRE, P.; LESKE, O.; WAHLE, P.; HEUMANN, R. The beneficial effects of physical activity on impaired adult neurogenesis and cognitive performance. **Frontiers in Neuroscience**, v. 5, p. 1-8, 2011.

LeROITH, D.; WERNER, H.; BEITNER-JOHNSON, D.; ROBERTS, C.T. Jr. Molecular and cellular aspects of the insulin-like growth factor I receptor. **Endocrine reviews**, v. 16, n.2, p. 143-163, 1995.

LEZAK, M. D. **Neuropsychological Assessment (3a. Ed.)**. Oxford: University Press. 1995.

LICHT, C.M.M.; VAN TURENHOUT, L.C.; DEIJEN, J.B.; KOPPEL, L.L.J.; VAN MECHELEN, W.V.; TWISK, J.W.R.; DRENT, M.L. The association between IGF-1 polymorphisms, IGF-1 serum levels, and cognitive functions in healthy adults: the Amsterdam growth and health longitudinal study. **International Journal of Endocrinology**, v.2014, doi:10.1155/2014/181327, 2014.

LIMA, R.A.; SILVESTRE, C.M.; FREITAS, M.; SMETHURST, W.S.; SANTOS, C.M.; VIRGILLO, M.; BARROS, G. Nível de atividade física em idosos com doença de Alzheimer mediante aplicação do IPAQ e de pedômetros. **Revista Brasileira de atividade física & saúde**, v. 15, n. 3, p. 180-185, 2010.

LINDHOLM, D.; CARROLI, P.; TZIMAGIORGIS, G.; THOENEN, H. Autocrine-paracrine regulation of hippocampal neuron survival by IGF-1 and the neurotrophins BDNF, NT-3 and NT-4. **European Journal of Neuroscience**, v.8, p. 1452-1460, 1996.

LLORENS-MARTÍN, M.; TORRES-ALÉMAN, I.; TREJO, J.L. Growth factor as mediators of exercise actions on the brain. **Neuromolecular medicine**, v. 10, n.2, p.99-107, 2008.

LOBO A.; LAUNER L. J.; FRATIGLIONI L.; ANDERSEN K.; DI CARLO A. *et al.* Prevalence of dementia and major subtypes in Europe: A collaborative study of population-based cohorts. **Neurology**, v. 54, n. 11, p. S4-S9, 2000.

LOPES, L.C.; ARAÚJO, L.M.Q.; CHAVES, M.L.F.; IMAMURA, M.; OKAMOTO, I.H.; RAMOS, A.M.; SATOMI, E.; STEIN, A.T.; CENDOROGLO, M.S.; SOUZA, A.M.C.; APOLINÁRIO, D.; ANDRADA, N.C. Doença de Alzheimer: prevenção e tratamento. **Diretrizes clínicas na saúde suplementar**. Associação médica brasileira e Associação nacional da saúde suplementar, p. 1-20, 2011

LOPEZ-LOPEZ, C.; LeROITH, D.; TORRES-ALEMAN, I. Insulin-like growth factor I is required for vessel remodeling in the adult brain. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 101, n. 26, p. 9833-8, 2004.

MACHADO, F.; NUNES, P. V.; VIOLA, L. F.; SANTOS, F.; FORLENZA, O. V.; YASSUDA, M. Quality of life and Alzheimer's disease: Influence of participation at a rehabilitation center. **Dementia & Neuropsychologia**, v. 3, n. 3, p. 241-247, 2009.

MAASS, A.; DÜZEL, S.; BRIGADSKI, T.; GOERKE, M.; BECKE, A.; SOBIERAY, U.; NEUMANN, K.; LÖVDEN, M.; LINDENBERGER, U.; BÄCKMAN, BRAUN-DULLAEUS, R.; AHRENS, D.; HEINZE, H.J.; MÜLLER, N.G.; LESSMAN, V.; SENDTNER, M.; DÜZEL, E. Relationships of peripheral IGF-1, VEGF and BDNF levels to exercise-related changes in memory, hippocampal perfusion and volumes in older adults. **Neuroimage**, v. 131, p.142-154, 2016.

McCURRY, S. M.; GIBBONS L. E.; LOGSDON R. G.; VITIELLO M. V.; TERI, L. Nighttime insomnia treatment and education for Alzheimer's disease: A randomized, controlled trial. **Journal of the American Geriatrics Society**, v. 53, n. 5, p. 793 – 802, 2005.

MITTAL, K.; MANI, R.J.; KATARE, D.P. Type 3 Diabetes: Cross talk between differentially regulated proteins of type 2 diabetes mellitus and Alzheimer's disease. **Scientific reports**, 2016;6:25589. DOI: 10.1038/srep25589, 2016.

MOLONEY, A.M.; GRIFFIN, R.J.; TIMMONS, S.; O'CONNOR, R.; RAVID, R.; O'NEILL. Defects in IGF-1 receptor, insulin receptor and IRS-1/2 in Alzheimer's disease indicate possible resistance to IGF-1 and insulin signalling. **Neurobiology of aging**, v. 31, p. 224-243, 2010.

MONTAÑO, M.B.M.M.; RAMOS, L.R. Validade da versão em português da Clinical Dementia Rating (CDR). **Revista de Saúde Pública**, v.39, n.6, 2005.

MONTE, S.D.L.; WANDS, J.R. Alzheimer's disease is type 3 diabetes – evidence reviewed. **Journal of Diabetes Science and Technology**, v. 2, n.6, p. 1101-113, 2008.

MORRIS, J. The Clinical Dementia Rating (CDR): current version and scoring rules. **Neurology**, v.43, n.11, p. 2412-2414, 1993.

NAKAGAWA, T.; ONO-KISHINO, M.; SUGARU, E.; YAMANAKA, M.; TAJI, M.; NOGUCHI, H. Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) regulates glucose and energy metabolism in diabetic mice. **Diabetes/ Metabolism research and reviews**, v.18, p.185-191.

NAMAZI, K. H.; ZADOROZNY, C. A.; PAULLETTA, B. G. The Influences of Physical Activity on Patterns of Sleep Behavior of Patients with Alzheimer's disease. **International Journal of Aging and Human Development**, v. 40, p. 145-153, 1995.

NASCIMENTO, C.M.C.; PEREIRA, J.R.; ANDRADE, L.P.; GARUFFI, M.; TALIB, L.L.; FORLENZA, O.V.; CANCELA, J.M.; COMINETTI, M.R.; STELLA, F. Physical exercise in MCI elderly promotes reduction of pro-inflammatory cytokines and improvements on cognition and BDNF peripheral levels. **Current Alzheimer Research**, v.11, p.799-805, 2014.

NASCIMENTO, E. (2000). **Adaptação, validação e normatização do teste WAIS-III para um contexto brasileiro**. Tese de Doutorado Não-Publicada. Programa de Pós-Graduação do Instituto de Psicologia da Universidade de Brasília, Brasília.

NATION, D.A.; HONG, S.; JAK, A.J.; DELANO-WOOD, L.; MILLS, P.J.; BONDI, M.W.; DIMSDALE, J.E. Stress, exercise, and Alzheimer's disease: A neurovascular Pathway. **Medical Hypotheses** V.76, n.6, p.847-854, 2011.

PALLESCHI, L.; VETTA, F.; GENARO, E.; IDONE, G.; SOTTOSANTI, G.; GIANNI, W.; MARIGLIANO, V. Effect of aerobic training on the cognitive performance of elderly patients with senile dementia of Alzheimer Type. **Archives of Gerontology and Geriatrics** (Supl 5), p.47-50, 1996.

PEDROSO, R.V.; COELHO, F.G.M.; GALDURÓZ, R.F.S.; COSTA, J.L.R.; GOBBI, S.; STELLA, F. Balance, executive functions and falls in elderly with Alzheimer's Dementia: A longitudinal study. **Archives of Gerontology and Geriatrics**, v. 54, p. 348-351, 2012.

PERL, D.P. Neuropathology of Alzheimer's disease. **The Mount Sinai journal of medicine**, v. 77, n.1, p.32-42, 2010.

PHILLIPS, C.; AKIF BAKTIR, M.; DAS, D.; LIN, B.; SALEHI, A. The link between physical activity and cognitive dysfunction in Alzheimer disease. **Journal of the American Physical Therapy Association**, v. 95, p. 1046-1060, 2015.

PRIOR, B.M.; LLOYD P.G.; YANG, H.T.; TERJUNG, R.L. Exercise-induced vascular remodeling. *Exercise and Sports Sciences Reviews*, v.31, p.26-33, 2003.

PRIOR, B.M.; YANG, H.T.; TERJUNG, R.L. What makes vessels grow with exercise training? **Journal of applied physiology**, v.97, p. 1119-1128, 2004.

PRADO, A.K.G.; BARRETO, M.C.; GOBBI, S. Envelhecimento orgânico e a funcionalidade motora. In: COELHO, F.G.M.; GOBBI, S.; COSTA, J.L.R.; GOBBI, L.T.B. **Exercício físico no envelhecimento saudável e patológico: da teoria à prática**. Curitiba (PR): Editora CRV, 2013, p. 15 – 47.

RAHE, J.; BECKER, J.; FINK, G.R.; KESSLER, J.; KUKOLJA, J.; RAHN, A.; ROSEN, J.B.; SZABADOS, F.; WIRTH, B.; KALBE, E. Cognitive training with and without additional physical activity in healthy older adults: cognitive effects, neurobiological mechanisms, and prediction of training success. **Frontiers in Aging Neuroscience**, v.7, n.187, p. 1-15, 2015.

RINDERKNECHT, E.; HUMBEL, R.E. The amino acid sequence of human insulin-like growth factor I and its structural homology with proinsulin. **The Journal of biological chemistry**, v. 253, n.8, p. 2769-2776, 1978.

ROLLAND, Y.; RIVAL, L.; PILLARD, F.; et al. Feasibility of regular physical exercise for patients with moderate to severe Alzheimer disease. **The journal of nutrition, health & aging**, v. 4, n. 2, p. 109-13, 2000.

ROSEN, C.J.; POLLAK, M. Circulating IGF-1: new perspectives for a new century. **Trends in endocrinology and metabolism**, v. 10, n.4, 136-141, 1999.

ROSEN, C.J.; KURLAND, E.S.; VERAULT, D.; ADLER, R.A.; RACKOFF, P.J.; CRAIG, W.Y.; WITTE, S.; ROGERS, J.; BILEZIKIAN, J.P. Association between serum insulin-like growth factor-I (IGF-I) and a simple sequence repeat in IGF-1 gene: implications for genetic studies of bone mineral density. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 83, n.7, p. 2286-2290, 1998.

RUIZ DE ALMODOVAR, C.; LAMBRECHTS, D.; MAZZONE, M.; CARMELIET, P. Role and therapeutic potential of VEGF in the nervous system. *Physiological Reviews*, v.89, n.2, p.607-648, 2009.

SÁEZ, J.M.G. Growth hormone and Insulin-Like growth factor-I in Alzheimer's disease. **The Open Endocrinology Journal**, v.6, p.80-90, 2012.

SALMON, W.D. Jr.; DAUGHADAY, W.H. A hormonally controlled serum factor which stimulates sulfate incorporation by cartilage in vitro. **The Journal of laboratory and clinical medicine**, v. 49, n.6, p. 825-836, 1957.

SANTANA-SOSA, E.; BARRIOPEDRO, M. I.; LOPEZ-MOJARES, L. M.; PEREZ, M.; LUCIA, A. Exercise training is beneficial for Alzheimer's patients. **International Journal of Sports Medicine**, v. 29, n.10, p. 845-850, 2008.

SANTOS, J.G.; STEIN, A.M.; PEDROSO, R.V.; HERNANDEZ, S.S.S. Exercício físico e a doença de Alzheimer: Programa de Cinesioterapia Funcional e Cognitiva para idosos com Doença de Alzheimer (PROCDA). In: COELHO, F.G.M.; GOBBI, S.; COSTA, J.L.R.; GOBBI, L.T.B. **Exercício físico no envelhecimento saudável e patológico: da teoria à prática**. Curitiba (PR): Editora CRV, 2013, p. 215-230.

SCAZUFCA, M., CERQUEIRA, A.T.A.R., MENEZES, P.R., PRINCE, M., VALLADA, H.P., MIYAZAKI, M.C.O.S, MIYAZAKI, N.A.M., DOMINGOS, N.A.M., ANTUNES, E.H., MACEDO, G.C., ALMEIDA, S.A., MATSUDA, C.M.C.B. Investigações epidemiológicas sobre demência nos países em desenvolvimento. **Revista de Saúde Pública**, v.36, n. 6, 773-8, 2002.

SCHLECHTER, N.L.; RUSSELL, S.M.; SPENCER, E.M.; NICOLL, C.S. Evidence suggesting that the direct growth -promoting effect of growth hormone on cartilage in vivo is mediated by local production of somatomedin. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 83, p. 7932-7934, 1986

SCHWARZ, A. J.; BRASEL, J. A.; HINTZ, R. L.; MOHAN, S.; COOPER, D. M. Acute effect of brief low- and high-intensity exercise on circulating insulin-like growth factor (IGF) I, II, and IGF binding protein-3 and its proteolysis in young healthy men. **The Journal of clinical endocrinology & Metabolism**, v 81, p. 3492–3497, 1996.

SHIN, IL-S.; CARTER, M.; MASTERMAN, D.; FAIRBANKS, L.; CUMMINGS, J. L. Neuropsychiatric symptoms and quality of life in Alzheimer Disease. **The American Journal of Geriatric Psychiatry**, v. 13, n. 6, p. 469-475, 2005.

SJOGREN, K.; LIU, J.L.; BLAD, K.; SKRTIC, S.; VIDAL, O.; WALLENIUS, V.; LeROITH, D.; TÖRNELL, J.; ISAKSSON, O.G.; JANSSON, J.O.; OHLSSON, C. Liver-derived insulin-like growth factor I (IGF-1) is the principal source of IGF-1 in blood but is not required for postnatal body growth in mice. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 8, n. 96, p. 7088-7092, 1999

SOLOMON, A.; DOBRANICI, L.; KAREHOLT, I.; TUDOSE, C.; LAZARESCU, M. Comorbidity and the rate of cognitive decline in patients with Alzheimer dementia. **International Journal of Geriatric Psychiatry**, v. 26, p. 1244-1251, 2011.

SPIELMAN, L.J.; LITTLE, J.P.; KLEGERIS, A. Inflammation and insulin/IGF-1 resistance as the possible link between obesity and neurodegeneration. **Journal of Neuroimmunology**, v. 273, p. 8-21, 2014.

STEIN, A.M.; COSTA, J.L.R.; VITAL, T.M.; HERNANDEZ, S.S.S.; GARUFFI, M.; TEIXEIRA, C.V.L.; STELLA, F. Nível de atividade física, sono e qualidade de vida de pacientes com doença de Alzheimer. **Revista Brasileira de atividade física & saúde**, v.17, n.3, p. 200-205, 2012.

STEIN, A. M.; HERNANDEZ, S. S. S.; VITAL, T. M.; GARUFFI, M. Treinamento com pesos na doença de Alzheimer. In: Coelho FGM, Gobbi S, Costa JLR, Gobbi LTB. **Exercício físico no envelhecimento saudável e patológico: da teoria à prática**. Curitiba (PR): Editora CRV, 2013, p.247 – 260.

STEIN, A.M.; PEDROSO, R.V. Physical exercise and its effects on Alzheimer's disease. In: Watson RR. **Physical activity and the aging brain: Effects of exercise on neurological function**. Elsevier, 2017, p. 141-150.

STELLA, F. Funções cognitivas e envelhecimento. In: PY, L.; PACHECO, J. L.; SÁ, J. L. M.; GOLDMA, S. **Tempo de Envelhecer: percursos e dimensões psicossociais**. 2 ed. Rio de Janeiro, p. 283-312, 2006.

STELLA, F.; CANONICI, A. P.; GOBBI, S.; SANTOS-GALDURÓZ, R. F.; CAÇÃO, J. C.; GOBBI, L. T. B. Attenuation of neuropsychiatric symptoms and caregiver burden in Alzheimer's disease by motor intervention: a controlled Trial. **Clinics**, v. 6, n.8, p. 1353 – 1360, 2011.

STEYN, F.J.; TOLLE, V.; CHEN, C.; EPELBAUM, J. Neuroendocrine regulation of growth hormone secretion. **Comprehensive physiology**, v. 6, p. 687-735, 2016.

SONNTAG, W.E.; RAMSEY, M.; CARTER, CS. Growth hormone and insulin-like growth factor-I (IGF-I) and their influence on cognitive aging. **Ageing Research Reviews**, v.4, n.2, p. 195-212, 2005.

SUNDERLAND, T.; HILL, J. L.; MELLOW, A. M.; LAWLOR, B. A.; GUNDERSHEIMER, J.; NEWHOUSE, P. A. et al. Clock drawing in Alzheimer's disease. A novel measure of dementia severity. **Journal of the American Geriatrics Society**, v.37, n.8, p.725-729, 1989.

TALBOT, K.; WANG, H.Y.; KAZI, H.; HAN, L.Y.; BAKSHI, K.P.; STUCKY, A.; FUINO, R.L.; KAWAGUCHI, K.R.; SAMOYEDNY, A.J.; WILSON, R.S.; ARVANITAKIS, Z.; SCHNEIDER, J.A.; WOLF, B.A.; BENNETT, D.A.; TROJANOWSKI, J.Q.; ARNOLD, S.E. Demonstrated brain insulin resistance in Alzheimer's disease patients is associated with IGF-1 resistance, IRS-1 dysregulation, and cognitive decline. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 122, n.4, p. 1316-1338, 2012.

TATSCH, M. F.; BOTTINO, C.M.C.; AZEVEDO, D.; HOTOTIAN, S.R.; MOSCOSO, M.A.; FOLQUITTO, J.C.; SCALCO, A.Z.; LOUZÃ, M.R. Neuropsychiatric Symptoms in Alzheimer Disease and Cognitively Impaired, Nondemented Elderly From a Community Based Sample in Brazil: Prevalence and Relationship With Dementia Severity. **American Journal of Geriatric Psychiatry**, v. 14, n. 5, p. 438-445, 2006.

TERI, L.; McCURRY, S. M.; BUCHNER, D. M.; LOGSDON, R. G.; LaCROIX, A. Z.; KUKULL, W. A.; BARLOW, W. E.; LARSON, E. B. Exercise and activity level in Alzheimer's disease: A potential treatment focus. **Jornal rehabilitation research and development**, v. 35, n.4, p. 411-9, 1998.

TREJO, J. L.; CARRO, E.; TORRES-ALEMAN, I. Circulating insulin-like growth factor I mediates exercise-induced increases in the number of new neurons in the adult hippocampus. **The Journal of Neuroscience** , v. 21, p. 1628–1634, 2001.

TSAI, C.L.; WANG C.H.; PAN, C.Y.; CHEN, F.C. The effects of long-term resistance exercise on the relationship between neurocognitive performance and GH, IGF-1, and homocysteine levels in the elderly. **Frontiers in Behavioral Neuroscience**, v. 9, n.23, 2015.

TRUEBA-SÁIZ, A. Neurotrophic uncoupling of IGF-1 in Alzheimer's disease: translation into early diagnosis and involvement of lifestyle risk factors. 2015. 187f. Tese (Doutorado em Neurociências) – Universidad Autónoma de Madrid, Madrid. 2015.

TRUEBA-SÁIZ, A.; CAVADA, C.; FERNANDEZ, A.M.; LEON, T.; GONZÁLEZ, D.A.; FORTEA ORMAECHEA, J.; LLÉO, A.; DEL SER, T.; NUÑES, A; TORRES-ALEMAN, I. Loss of sérum IGF-1 input to the brain as an early biomarker of disease onset in Alzheimer mice. **Translational Psychiatry**, p. 1–6, 2013.

UM, H.S.; KANG, E.B.; KOO, J.H.; KIM, H.T.; LEE, J.; KIM, E.J.; YANG, C.H.; AN, G.Y.; CHO, I.H.; CHO, J.Y. Treadmill exercise represses neuronal cell death in an aged transgenic mouse of Alzheimer's disease. **Neuroscience Research**, v.69, p. 161-173, 2011.

United Nations. **World population aging, 1950–2050**. New York: United Nations; 2002.

VAN DAM, P.S.; ALEMAN, A.; DE VRIES, W.R.; DEIJEN, J.B.; VAN DER VEEN, E.A.; DE HAAN, E.H.; KOPPESCHAAR, H.P. Growth hormone, insulin-like growth factor I and cognitive function in adults. **Growth hormone & IGF Research**, v.10, p. S69-73, 2000.

VANZELLA, C.; NEVES, J.D.; VIZUETE, A.F.; ARISTIMUNHA, D.; KOLLING, J.; LONGONI, A.; GONÇALVES, C.A.S.; WYSE, A.T.S.; ALEXANDRE NETTO, C. Treadmill running prevents age-related memory deficit and alters neurotrophic factor and oxidative damage in the hippocampus of Wistar rats. **Behavioural brain research**, v. 334, p. 78-85, 2017.

VARDY, E.R.; RICE, P.J.; BOWIE, P.C.; HOLMES, J.D.; GRANT, P.J.; HOOPER, N.M. Increased circulating insulin-like growth factor-1 in late onset Alzheimer's disease. **Journal of Alzheimer's disease**, v. 12, n.4, p. 285-290, 2007.

VAYNMAN, S.; YING, Z.; WU, A.; GOMEZ-PINILLA, F. Coupling energy metabolism with a mechanism to support brain-derived neurotrophic factor-mediated synaptic plasticity. **Neuroscience**, v.139, p.1221-1234.

VENTURELLI, M.; SCARSINI, R.; SCHENA, F. Six-month walking program changes cognitive and ADL performance in patients with Alzheimer. **American journal of Alzheimer's disease and other dementias**, v. 26, n.5, 381-388, 2011.

VITAL, T.M.; COELHO, F.G.M.; ANDRADE, L.P.; NASCIMENTO, C.M.C.; COSTA, J.L.R. Doença de Alzheimer. In: COELHO, F.G.M.; GOBBI, S.; COSTA, J.L.R.; GOBBI, L.T.B. **Exercício físico no envelhecimento saudável e patológico: da teoria à prática**. Curitiba (PR): Editora CRV, 2013, p. 185-200.

VITAL, T.M.; HERNÁNDEZ, S.S.S.; PEDROSO, R.V.; TEIXEIRA, C.V.L.; GARUFFI, M.; STEIN, A.M.; COSTA, J.L.R.; STELLA, F. Effects of weight training on cognitive functions in elderly with Alzheimer's disease. **Dementia & Neuropsychologia**, v.6, n.4, p.253-259, 2012.

VOORRIPS, L.; RAVELLI, A.; DONGELMANS, P.; DEURENBERG, P.; VAN STAVEREN, W. A physical activity questionnaire for elderly. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 23, n. 8, p. 974-979, 1991.

VOSS, M.W.; ERICKSON, K.I.; PRAKASH, R.S.; CHADDOCK, L.; KIM, J.S.; ALVES, H.; SZABO, A.; PHILLIPS, S.M.; WÓJCICKI, T.R.; MAILEY, E.L.; OLSON, E.A.; GOTHE, N.; VIEIRA-POTTER, V.J.; MARTIN, S.A.; PENCE, B.D.; COOK, M.D.; WOODS, J.A.; McAULEY, E.; KRAMER, A.F. Neurobiological markers of exercise-related brain plasticity in older adults. **Brain, Behavior, and Immunity**, v. 28, p. 90-99, 2013.

VREUGDENHIL, A.; CANNELL, J.; DAVIES, A.; RAZAY, G. A community-based exercise programme to improve functional ability in people with Alzheimer's disease: a randomized controlled trial. **Scandinavian journal of caring sciences**, v. 26, n.1, p.12-19, 2012.

WECHSLER, D. **WAIS-III: escala de inteligência Wechsler para adultos**: Manual. Tradução de M. C. V. M. Silva; Adaptação e padronização de uma amostra brasileira E. Nascimento. 1 ed. São Paulo: Casa do Psicólogo, 2004.



WESTWOOD, A.J.; BEISER, A.; DeCARLI, C.; HARRIS, T.B.; CHEN, T.C.; HE, X.; ROUBENOFF, R.; PIKULA, A.; AU, R.; BRAVERMAN, L.E.; WOLF, P.A.; VASAN, R.S.; SESHADRI, S. Insulin-like growth factor-1 and risk of Alzheimer dementia and brain atrophy. **Neurology**, v.6, p. 1613-1619, 2014.

WINSTON, B.W.; NI, A.; ARORA, R.C. Insulin-like growth factors, **Insulin-like growth factors**, p. 339-346, 2006.

WOOD, R.E.; SANDERSON, B.E.; ASKEW, C.D.; WALKER, P.J.; GREEN, S.; STEWART, I.B. Effect of training on the response of plasma vascular endothelial growth factor to exercise in patients with peripheral arterial disease. **Clinical Science**, v. 111, p. 401-409, 2006.

WHO - World Health Organization. **World report on ageing and health**. World Health Organization, 2015.

YAARI, R.; BLOOM, J. C. Alzheimer's Disease. **Seminars in neurology**, v. 27, p. 32-41, 2007.

YAKAR, S.; LIU, J.L.; STANNARD, B.; BUTLER, A.; ACCILI, D.; SAUER, B.; LeROITH, D. Normal growth and development in the absence of hepatic insulin-like growth factor-I. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 96, n.13, p. 7324-7329, 1999.

YE, P.; D'ERCOLE, J. Insulin-like growth factor I (IGF-I) regulates IGF binding protein-5 gene expression in the brain. **Endocrinology**, v. 139, n.1, p. 65-71, 1998.

YESAVAGE, J. A; BRINK, T. L.; ROSE, T. L.; LUM, O.; HUANG, V.; ADEY, M.; LEIRER, V. O. Development and validation of a geriatric depression screening scale: A preliminary report. **Journal of Psychiatric Research**, v.17, p.37-49, 1983.

# **Anexos**

## Anexo 1 – Mini Exame do Estado Mental

### MINI-EXAME DO ESTADO MENTAL

(Folstein, Folstein & McHugh, 1.975)

Paciente: \_\_\_\_\_

Data da Avaliação: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ Avaliador: \_\_\_\_\_

#### ORIENTAÇÃO

- Dia da semana (1 ponto) .....( )
- Dia do mês (1 ponto) .....( )
- Mês (1 ponto) .....( )
- Ano (1 ponto) .....( )
- Hora aproximada (1 ponto) .....( )
- Local específico (apartamento ou setor) (1 ponto) .....( )
- Instituição (residência, hospital, clínica) (1 ponto) .....( )
- Bairro ou rua próxima (1 ponto) .....( )
- Cidade (1 ponto) .....( )
- Estado (1 ponto) .....( )

#### MEMÓRIA IMEDIATA

- Fale 3 palavras não relacionadas. Posteriormente pergunte ao paciente pelas 3 palavras. Dê 1 ponto para cada resposta correta .....( )
- Depois repita as palavras e certifique-se de que o paciente as aprendeu, pois mais adiante você irá perguntá-las novamente.

#### ATENÇÃO E CÁLCULO

- (100 - 7) sucessivos, 5 vezes sucessivamente (1 ponto para cada cálculo correto) .....( )
- (alternativamente, soletrar MUNDO de trás para frente)

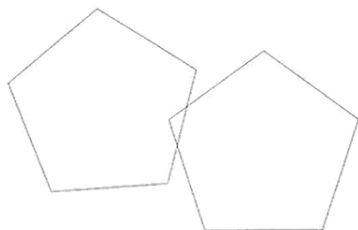
#### EVOCAÇÃO

- Pergunte pelas 3 palavras ditas anteriormente (1 ponto por palavra) .....( )

#### LINGUAGEM

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

SCORE: (\_\_\_\_/30)



## Anexo 2 – Bateria de Avaliação Frontal

### Appendix. Frontal Assessment Battery (Brazilian version; Bateria de Avaliação Frontal – FAB).

#### 1. Similaridades (conceituação)

*“De que maneira eles são parecidos?”*

*“Uma banana e uma laranja”.*

(Caso ocorra falha total: “eles não são parecidos” ou falha parcial: “ambas têm casca”, ajude o paciente dizendo: “tanto a banana quanto a laranja são...”; mas credite 0 para o item; não ajude o paciente nos dois itens seguintes).

*“Uma mesa e uma cadeira”.*

*“Uma tulipa, uma rosa e uma margarida”.*

**Escore** (apenas respostas de categorias [frutas, móveis, flores] são consideradas corretas).

- Três corretas: 3
- Duas corretas: 2
- Uma correta: 1
- Nenhuma correta: 0

#### 2. Fluência lexical (flexibilidade mental)

*“Diga quantas palavras você puder começando com a letra ‘S’, qualquer palavra exceto sobrenomes ou nomes próprios”.*

Se o paciente não responder durante os primeiros 5 segundos, diga: “por exemplo, sapo”. Se o paciente fizer uma pausa de 10 segundos, estimule-o dizendo: “qualquer palavra começando com a letra ‘S’”. O tempo permitido é de 60 segundos.

**Escore** (repetições ou variações de palavras [sapato, sapateiro], sobrenomes ou nomes próprios não são contados como respostas corretas).

- Mais do que nove palavras: 3
- Seis a nove palavras: 2
- Três a cinco palavras: 1
- Menos de três palavras: 0

#### 3. Série motora (programação)

*“Olhe cuidadosamente para o que eu estou fazendo”.*

O examinador, sentado em frente ao paciente, realiza sozinho, três vezes, com sua mão esquerda a série de Luria “punho-borda-palma”.

*“Agora, com sua mão direita faça a mesma série, primeiro comigo, depois sozinho”.*

O examinador realiza a série três vezes com o paciente, então diz a ele/ela: “Agora, faça sozinho”.

**Escore**

- Paciente realiza seis séries consecutivas corretas sozinho: 3
- Paciente realiza pelo menos três séries consecutivas corretas sozinho: 2
- Paciente fracassa sozinho, mas realiza três séries consecutivas corretas com o examinador: 1
- Paciente não consegue realizar três séries consecutivas corretas mesmo com o examinador: 0

#### 4. Instruções conflitantes (sensibilidade a interferência)

*“Bata duas vezes quando eu bater uma vez”.*

Para ter certeza de que o paciente entendeu a instrução, uma série de três tentativas é executada: 1-1-1.

*“Bata uma vez quando eu bater duas vezes”.*

Para ter certeza de que o paciente entendeu a instrução, uma série de três tentativas é executada:

2-2-2.

O examinador executa a seguinte série: 1-1-2-1-2-2-2-1-1-2.

**Escore**

- Nenhum erro: 3
- Um ou dois erros: 2
- Mais de dois erros: 1
- Paciente bate como o examinador pelo menos quatro vezes consecutivas: 0

#### 5. Vai-não vai (controle inibitório)

*“Bata uma vez quando eu bater uma vez”*

Para ter certeza de que o paciente entendeu a instrução, uma série de três tentativas é executada: 1-1-1.

*“Não bata quando eu bater duas vezes”.*

Para ter certeza de que o paciente entendeu a instrução, uma série de três tentativas é executada: 2-2-2.

O examinador executa a seguinte série: 1-1-2-1-2-2-2-1-1-2.

**Escore**

- Nenhum erro: 3
- Um ou dois erros: 2
- Mais de dois erros: 1
- Paciente bate como o examinador pelo menos quatro vezes consecutivas: 0

#### 6. Comportamento de preensão (autonomia ambiental)

*“Não pegue minhas mãos”*

O examinador está sentado em frente ao paciente. Coloca as mãos do paciente, com as palmas para cima, sobre os joelhos dele/dela. Sem dizer nada ou olhar para o paciente, o examinador coloca suas mãos perto das mãos do paciente e toca as palmas de ambas as mãos do paciente, para ver se ele/ela pega-as espontaneamente. Se o paciente pegar as mãos, o examinador tentará novamente após pedir a ele/ela: “Agora, não pegue minhas mãos”.

**Escore**

- Paciente não pega as mãos do examinador: 3
- Paciente hesita e pergunta o que ele/ela deve fazer: 2
- Paciente pega as mãos sem hesitação: 1
- Paciente pega as mãos do examinador mesmo depois de ter sido avisado para não fazer isso: 0

### **Anexo 3 – Teste do desenho do Relógio**

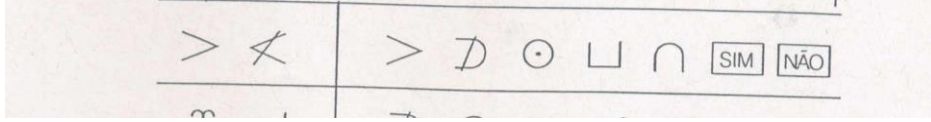
#### **Ficha utilizada para a coleta do Teste do Desenho do Relógio**

Instruções do teste: Um papel e lápis são colocados na frente do paciente e o mesmo é instruído para desenhar a face de um relógio com todos os números das horas nesta face. Após o término do desenho o paciente é solicitado para desenhar os ponteiros do relógio marcando 2 horas e 45 minutos.

#### **TESTE DO DESENHO DO RELÓGIO**

**Anexo 4 – Teste de Fluência Verbal Semântica****FLUÊNCIA VERBAL:**

**Anexo 5 – Ilustração do Subteste Procurar Símbolos**



## Anexo 6 – Escala Geriátrica de depressão

### ESCALA GERIÁTRICA DE DEPRESSÃO (GDS 30)

1	Você está satisfeito com sua vida?	SIM	<u>NÃO</u>
2	Abandonou muitos de seus interesses e atividades?	<u>SIM</u>	NÃO
3	Sente que sua vida está vazia?	<u>SIM</u>	NÃO
4	Sente-se frequentemente aborrecido?	<u>SIM</u>	NÃO
5	Você tem muita fé no futuro?	SIM	<u>NÃO</u>
6	Tem pensamentos negativos?	<u>SIM</u>	NÃO
7	Na maioria do tempo está de bom humor?	SIM	<u>NÃO</u>
8	Tem medo que algo mal vá lhe acontecer?	<u>SIM</u>	NÃO
9	Sente-se feliz na maioria do tempo?	SIM	<u>NÃO</u>
10	Sente-se frequentemente desamparado adoentado?	<u>SIM</u>	NÃO
11	Sente-se frequentemente intranquilo?	<u>SIM</u>	NÃO
12	Prefere ficar em casa em vez de sair e fazer coisas novas?	<u>SIM</u>	NÃO
13	Preocupa-se muito com o futuro?	<u>SIM</u>	NÃO
14	Acha que tem mais problemas de memória que os outros?	<u>SIM</u>	NÃO
15	Acha bom estar vivo?	SIM	<u>NÃO</u>
16	Fica frequentemente triste?	<u>SIM</u>	NÃO
17	Sente-se útil?	SIM	<u>NÃO</u>
18	Preocupa-se muito com o passado?	<u>SIM</u>	NÃO
19	Acha a vida muito interessante?	SIM	<u>NÃO</u>
20	Para você é difícil começar novos projetos?	<u>SIM</u>	NÃO
21	Sente-se cheio de energia?	SIM	<u>NÃO</u>
22	Sente-se sem esperança?	<u>SIM</u>	NÃO
23	Acha que os outros tem mais sorte que você?	<u>SIM</u>	NÃO
24	Preocupa-se com coisas sem importância?	<u>SIM</u>	NÃO
25	Sente frequentemente vontade de chorar?	<u>SIM</u>	NÃO
26	É difícil para você concentrar-se?	<u>SIM</u>	NÃO
27	Sente-se bem ao despertar?	SIM	<u>NÃO</u>
28	Prefere evitar reuniões sociais?	<u>SIM</u>	NÃO
29	É fácil para você tomar decisões?	SIM	<u>NÃO</u>
30	O seu raciocínio está tão claro quanto antigamente?	SIM	<u>NÃO</u>



## Anexo 7 – Escore clínico de demencia

**CDR Clinical Dementia Rating**  
**ESTADIAMENTO CLÍNICO DAS DEMÊNCIAS**

	SEM DEMÊNCIA CDR 0	DEMÊNCIA QUESTIONÁVEL CDR 0,5	DEMÊNCIA MÉDIA CDR 1	DEMÊNCIA MODERADA CDR 2	DEMÊNCIA SEVERA CDR 3
<b>MEMÓRIA</b>	Sem perda de memória ou pequenos e ocasionais esquecimentos	Pequenos mas freqüentes esquecimentos; lembrança parcial de acontecimentos; 'esquecimento benigno'	Moderada perda da memória, mais marcadamente para acontecimentos recentes, interferindo nas atividades do cotidiano	Severa perda de memória; lembra-se apenas de assuntos intensamente vivenciados, informações novas rapidamente esquecidas	Severa perda de memória; somente fragmentos permanecem
<b>ORIENTAÇÃO</b>	Orientação perfeita	Totalmente orientado, exceto por pequenas dificuldades relacionadas com o tempo (horário)	Moderada dificuldade com orientação temporal; orientado com relação ao local do exame; pode haver desorientação geográfica para outros locais	Severa dificuldade relacionada com o tempo; freqüentemente desorientado com relação ao tempo e espaço	Total desorientação tempo-espacial, reconhece apenas as pessoas mais íntimas
<b>JULGAMENTO E DISCERNIMENTO</b>	Resolve bem os problemas do cotidiano: bom discernimento	Alguma dificuldade na resolução de problemas, semelhanças e diferenças. Alguma dificuldade na resolução de problemas, semelhanças e diferenças.	Moderada dificuldade em resolver problemas por si mesmo; dificuldades no discernimento de semelhanças e diferenças	Importante dificuldade em resolver problemas com independência; discernir entre semelhanças e diferenças; crítica e julgamento comprometidos	Incapaz de resolver problemas
<b>PARTICIPAÇÃO SOCIAL</b>	Independência no desempenho profissional, nas compras, finanças e nas atividades sociais	Alguma dificuldade nessas atividades	Apresenta dependência nessas atividades; apesar de poder participar de algumas; aparenta não apresentar anormalidades à primeira vista	Sem interesse em manter atividades fora de casa; aparenta estar bem para sair e manter atividades fora de casa	Aparenta não ter condições de desempenhar atividades fora de casa
<b>AFAZERES DOMÉSTICOS E PASSATEMPOS</b>	Vive em família, passatempos e interesses intelectuais mantidos	Vive em família, passatempos e interesse intelectual levemente afetado	Suave mas definitiva dificuldade com atividades domésticas; deixa de realizar atividades; abandona as tarefas/passatempos mais difíceis	Apenas atividades simplificadas; interesses muito restritos	Atividade doméstica praticamente inexistente
<b>CUIDADOS PESSOAIS</b>	Totalmente capaz e independente	Totalmente capaz e independente	Precisa ser incentivado/instruído	Necessita de assistência para vestir-se e assear-se	Requer muita ajuda para seus cuidados pessoais; freqüentemente incontinente

## Anexo 8 – Questionário Baecke modificado para idosos

### TRABALHOS DOMÉSTICOS

A Sra/Sr. realiza algum trabalho doméstico leve? (tirar o pó, lavar louça, consertar roupas, etc.).

- 0- Nunca (ou menos de uma vez por mês)
- 1- Às vezes (somente quando não há parceiro ou ajudante)
- 2- Frequentemente (às vezes ajudado pelo parceiro ou ajudante)
- 3- Sempre (sozinho ou com ajuda)

A Sra/Sr. faz algum trabalho doméstico pesado? (lavar pisos e janelas, carregar sacos de lixo, etc.).

- 0- Nunca (ou menos de uma vez por mês)
- 1- Às vezes (somente quando não há parceiro ou ajudante)
- 2- Frequentemente (às vezes ajudado pelo parceiro ou ajudante)
- 3- Sempre (sozinho ou com ajuda)

Para quantas pessoas a Sra. realiza trabalhos domésticos, incluindo a Sra. mesma? (Preencher 0 se a Sra. respondeu nunca nas questões 1 e 2).

Quantos cômodos a Sra. limpa, incluindo cozinha, quarto, garagem, porão, banheiro, sótão, etc.?

- 0- Nunca realiza serviços domésticos
- 1- Um a seis cômodos
- 2- Sete a nove cômodos
- 3- Dez ou mais cômodos

Se limpa cômodos, em quantos andares? (Preencher 0 se a Sra. respondeu nunca na questão 4).

O Sra/Sr. cozinha ou ajuda no preparo?

- 1- Nunca
- 2- Às vezes (uma ou duas vezes por semana)
- 3- Frequentemente (três a cinco vezes por semana)
- 4- Sempre (mais que cinco vezes)

Quantos lances de escada a Sra. sobe por dia? (um lance de escada equivale a dez degraus)

- 0- Nunca subo escadas
- 1- Um a cinco lances
- 2- Seis a dez lances
- 3- Mais de dez lances

Se o Sr/Sra. vai a algum lugar em sua cidade, qual o tipo de transporte usado?

- 0- Nunca sai
- 1- Carro
- 2- Transporte público
- 3- Bicicleta
- 4- Caminho

Quantas vezes a Sra/Sr. sai para fazer compras?

0- Nunca ou menos de uma vez por semana

1- Uma vez por semana

2- Duas a quatro vezes por semana

3- Todos os dias

Se a Sra/Sr sai para fazer compras, qual o tipo de transporte usado?

0 - Nunca sai

1- Carro

2- Transporte público

3- Bicicleta

4- Caminho

### **ATIVIDADES ESPORTIVAS**

A Sra/Sr. pratica esportes?

Nome\_\_\_\_\_

Intensidade\_\_\_\_\_

Horas/semana\_\_\_\_\_

Períodos do ano\_\_\_\_\_

### **ATIVIDADES DE TEMPO LIVRE**

A Sra/Sr. pratica algum outro exercício físico?

Nome\_\_\_\_\_

Intensidade\_\_\_\_\_

Horas/semana\_\_\_\_\_

Períodos do ano\_\_\_\_\_

**Anexo 9 – Artigo publicado (Capítulo 5)**

STEIN, A.M.; MUNIVE, V.; FERNANDEZ, A.M.; NUÑEZ, A.; TORRES-ALEMAN. Acute exercise does not modify brain activity and memory performance in APP/PS1 mice. **Plos One**, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0178247>, 2017.

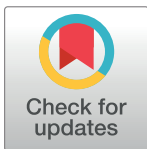
RESEARCH ARTICLE

# Acute exercise does not modify brain activity and memory performance in APP/PS1 mice

Angelica Miki Stein<sup>1,2,3</sup>, Victor Munive<sup>1,2</sup>, Ana M. Fernandez<sup>1,2</sup>, Angel Nuñez<sup>4</sup>, Ignacio Torres Aleman<sup>1,2\*</sup>

**1** Cajal Institute, Madrid, Spain, **2** Ciberneted, Madrid, Spain, **3** Universidade Estadual Paulista, São Paulo, Brazil, **4** School of Medicine, Autonomía University of Madrid. Madrid, Spain

\* [torres@cajal.csic.es](mailto:torres@cajal.csic.es)



## Abstract

Age is the main risk factor for Alzheimer’s disease (AD). With an increasingly aging population, development of affordable screening techniques to determine cognitive status will help identify population-at-risk for further follow-up. Because physical exercise is known to modulate cognitive performance, we used it as a functional test of cognitive health. Mice were submitted to treadmill running at moderate speed for 30 min, and their brain activity was monitored before and after exercise using electrocorticogram (ECG) recordings. After exercise, normal, but not APP/PS1 mice, a well established AD model, showed significantly increased ECG theta rhythm. At the same time normal, but not AD mice, showed significantly enhanced performance in a spatial memory test after exercise. Therefore, we postulate that a running bout coupled to pre- and post-exercise brain activity recordings will help identify individuals with cognitive alterations, by determining the presence or absence of exercise-specific changes in brain activity. Work in humans using a bout of moderate exercise plus electroencephalography, a clinically affordable procedure, is warranted.

## OPEN ACCESS

**Citation:** Miki Stein A, Munive V, Fernandez AM, Nuñez A, Torres Aleman I (2017) Acute exercise does not modify brain activity and memory performance in APP/PS1 mice. PLoS ONE 12(5): e0178247. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0178247>

**Editor:** Sergio Pellis, University of Lethbridge, CANADA

**Received:** March 22, 2017

**Accepted:** May 10, 2017

**Published:** May 22, 2017

**Copyright:** © 2017 Miki Stein et al. This is an open access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

**Data Availability Statement:** All relevant data are within the paper and its Supporting Information file.

**Funding:** AMS was supported by Capes PDSE 99999.010743/2014-06 and Fapesp 2013/19729-0, Universidade Estadual Paulista (Brazil). VM is a recipient of an FPI fellowship. We are thankful to L. Guinea for excellent technical support. This work was funded by grants SAF2013-40710-R/SAF2016-76462 AEI/FEDER, and by Ciberneted.

## Introduction

With an increasingly larger proportion of aged people in modern societies, cognitive loss in the aging population is becoming a paramount problem for public health agencies. Hence, an urgent need for early identification of individuals at risk of developing cognitive loss is widely recognized [1]. Current clinical practice to determine the presence of cognitive problems relies entirely on psychometric tests that are reliable but laborious, and require well-trained personnel [2, 3]. Furthermore, these tests are useful to detect early signs of cognitive disturbances, already when deficits are present [3]. Intense focus on this problem has resulted in the appearance of new diagnostic techniques based on biochemical parameters in cerebro-spinal fluid (CSF) and in brain imaging. The first approach is problematic because CSF samples are not easy to obtain. The second one is expensive and requires state-of-the-art facilities. In both cases, highly trained professionals are a must. On top of that, any of these procedures have yet been implemented for early diagnosis, prior to the appearance of cognitive disturbances.

As exemplified by cardiovascular screening programs, preventive screening procedures of the general population are an optimal way to detect populations-at-risk, but difficult to support

**Competing interests:** The authors have declared that no competing interests exist.

with available diagnostic procedures even by public health systems of developed countries. Therefore, development of affordable and more objective tests would make much more feasible this goal. From this perspective, for the present study we chose clinical procedures of wide use such as a bout of exercise (for cardiovascular screening) and electroencephalographic recording (for neurological testing) and combined them to develop an easy-to-implement procedure. As a single bout of exercise has been shown to improve cognition both in humans [4, 5], and rodents [6], and physical fitness helps predict cognitive loss [7, 8], we reasoned that cognitive status could be determined using exercise as an stimulus.

At the same time, exercise acutely modulates brain activity in humans [9], and rodents [10]. Brain activity can be monitored by a number of different techniques, but electroencephalography (EEG) is probably the most extended and used. For many years, EEG recordings have been extensively applied to AD patients with the idea of using this technique as a diagnostic tool. Three major effects of AD on EEG have been observed: slowing of the EEG, reduced complexity of the EEG signals, and perturbations in EEG synchronization [11, 12]. A major disadvantage of this technique for AD diagnosis is that the EEG changes observed in AD patients are shared by other pathologies such as different types of dementia, mild cognitive impairment [13], and encephalopathy [14]. Moreover, EEG recordings have been performed in AD patients because AD is associated with an elevated risk for seizures. It is known that people with AD are 10 times more likely to develop epilepsy than the age-matched general population (for a review see [15]). However, only 1.5% of AD patients develop seizures. With the idea of gaining additional support to the use of EEG as a diagnostic procedure in AD, and based on these prior observations, we speculated that the pro-cognitive actions of acute exercise could be lost in AD patients and could be reflected in specific alterations in the EEG pattern. For this reason, and as an initial proof-of-concept experiment, we combined exercise with electrocorticographic recordings in control and APP/PS1 mice to determine possible differences between the two groups. The results show that an exercise-based test aids to identify cognitive deterioration using electrical activity recordings of the brain as a read-out.

## Materials and methods

### Animals

Male adult C57BL/6J mice (19–23 g, 4–6 months old; Harlan Laboratories, Spain) and in-bred APP/PS1 mice of the same age and genetic background [16] were housed in standard cages (48 × 26 cm<sup>2</sup>) with 5 animals per cage. Mice were kept in a room with controlled temperature (22°C) under a 12-12h light-dark cycle; fed with a pellet rodent diet and water ad libitum. All experimental protocols were performed during the light cycle. Animal procedures followed European guidelines (2010/63/EU) and were approved by the local Bioethics Committee (Madrid Government). The presence of brain amyloid deposits was confirmed by immunocytochemistry in APP/PS1 mice (S1A Fig).

### Electrocorticogram recordings in freely moving animals

Adult WT and APP/PS1 mice were anesthetized with isoflurane (2–3% for induction) mixed with O<sub>2</sub> (0.5–1 L/min) and placed in a stereotaxic device. The skin was cut along midline and a craniotomy was made (0.5 mm diameter) on the parietal cortex (AP: -2, L: 4; V: 1 mm, from the bone surface). A stainless steel macro-electrode of <0.5 MOhms was placed without disrupting the meninges to register the electrical cortical activity (ECG), using a DSI Implantable Telemetry device (Data Sciences International). After surgery to implant the transmitter device, mice remain in their cages a minimum of 4 days to recover. Animals were then placed in the treadmill chamber 15 or 30 minutes for familiarization. Animals were recorded after

familiarization. ECG baseline was registered during 5 minutes (pre-running control period) and another 5 minutes immediately after running. Animals run 15 minutes the first two days and 30 minutes the following 2 days. Signals were stored in a PC using DSI software and filtered off-line between 0.3–50 Hz with Spike 2 software (Cambridge Electronic Design, Cambridge, UK). ECG segments of 5 minutes were analyzed by Spike 2 software, using the Fast Fourier Transform algorithm to obtain the power spectra. The mean power density was calculated for 5 different frequency bands that constitute the global EEG: delta band (0.3–4 Hz), theta band (4–8 Hz), alpha band (8–12 Hz), beta band (12–30 Hz) and gamma band (30–50 Hz). The total power of the five frequency bands were considered 100%, and the percentage of each frequency band was calculated.

## Recordings in anesthetized animals

Experiments were performed on 6 urethane anesthetized (1.6 g/kg ip) adult WT mice. Animals were placed in a Kopf stereotaxic device in which surgical procedures and recordings were performed. Supplemental doses of anesthetic were given to maintain areflexia. Local anesthetic (lidocaine 1%) was applied to all skin incisions and pressure points. An incision was made exposing the skull, and small holes were drilled in the skull over the parietal cortex (coordinate as above) and over the CA1 hippocampal area (AP: -1.5, L: 2; V: 2 mm). ECG and hippocampal field potential (HFP) were recorded with tungsten macroelectrodes (<1 MOhms World Precision Instruments, Sarasota, FL). Recordings were filtered (0.3–50 Hz), amplified via an AC preamplifier (DAM80; World Precision Instruments), and fed into a personal computer (sample rate 200 Hz) for off-line analysis with Spike 2 software. The mean power density was calculated from 5 minutes of spontaneous activity or when theta rhythm was evoked by sensory stimulation (stroking the fur on the animal's back). The percentage of theta rhythm was calculated in the ECG and HFP. Cross-correlations between the theta rhythm recorded in the ECG and the HFP were calculated for 5 minutes of spontaneous activity or during sensory stimulation. Previously, recordings were digital filtered between 4–8 HZ (theta frequency band) to isolate the theta rhythm.

## Treadmill running

Before submitting animals to treadmill running, they were handled daily and familiarized with the apparatus (Letica, Italy) to minimize novelty stress. The electrical shock system that encourages the animals to run was disconnected to avoid pain stress. The exercise group ran for 15 and 30 min in separate days and at a moderate speed: the first two minutes speed was gradually increased to reach a final steady speed of 9 m/min. The control group remained for the same time in the treadmill without running. We chose this mild intensity exercise regime for two reasons: 1) to avoid changes in stress hormones that could interfere with post-exercise behavioral assessment and 2) to avoid fatigue as the protocol is intended to be translated into clinical testing. Additional groups of animals were used for behavioral testing (see below).

## Y-maze

Working memory was assessed by recording spontaneous exploring behaviour in a Y-maze [17]. The maze was made of black-painted wood and each arm was 25 cm long, 14 cm high, 5 cm wide and positioned at equal angles. Before treadmill running, and after the animals had remained in the treadmill apparatus for ~30 minutes to adapt to the novel environment, they were placed at the end of one of the arms of the maze and allowed to move freely during a 5 min session with one of the arms randomly blocked. Thereafter they were allowed to recover for 90 minutes before running for 30 minutes in the treadmill. After running, they were placed

again in the maze with all three arms opened (see [S1B Fig](#)). Number of entries in the “new” arm were scored and compared to those to the “old” arms. The whole session was recorded by video and analyzed later using Ethovision. Arm entry was considered to be completed when the hind paws of the mouse were completely placed inside the arm. An alternative, shorter, inter-trial test of 60 min was also used in another group of animals to determine whether sedentary mice could learn a less demanding procedure.

**Blood lactate.** Lactate was measured in blood before and after running to determine exercise intensity. Blood was collected from the tail vein using a small puncture with a surgical knife. First drop of blood was discarded and the second one was used to determine lactate levels using a blood lactate analyzer and reagent strips by Lactate Plus® (Tanner, Fuller, Ross, 2012). Because the ECG device inserted on the head of the animals may cause physical alterations, we determine lactate both in sham operated and ECG-operated mice; lactate values were found to be similar and pooled together.

### A $\beta$ immunocytochemistry

Immunocytochemical assays were run as described before [16]. Animals were deeply anesthetized with pentobarbital (50 mg/kg) and perfused transcardially with 4% paraformaldehyde in 0.1 M phosphate buffer, pH 7.4 (PB). Coronal 50- $\mu$ m-thick brain sections were cut in a vibratome and collected in PBS. Sections were incubated with 100% methanol and 0.03% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> to eliminate endogenous peroxidase followed by incubation overnight at 4°C with primary antibody in PB- 1% bovine albumin- 1% Triton X-100. For immunocytochemistry of A $\beta$  plaques, a pre-treatment of 70% formic acid was used before incubation with anti-human A $\beta$  antibody (1:50, Dako clone 6F/3D). After several washes in PB, sections were incubated with a biotin-coupled secondary antibody (1:500, Pierce) followed by ABC amplification system (1:250, Pierce) using diaminobenzidine as chromogen. Sections were dehydrated and mounted with DEPEX. Omission of primary antibody was used as control. Panoramic pictures were obtained with a Leica (Germany) microscope using the stitching tool.

### Statistics

Statistical analysis was performed using GraphPad Prism 5 software (San Diego, CA, USA) and SPSS. All results are shown as mean  $\pm$  s.e.m. After normal distribution was confirmed using the Saphiro-Wilk test, we used the paired Student's *t*-test when comparing pre- and post-exercise data, the *t*-test for independent variables when comparing the two experimental groups, and one-way analysis of variance followed by Bonferroni's test when comparing multiple groups. Probability values <0.05 were considered significant.

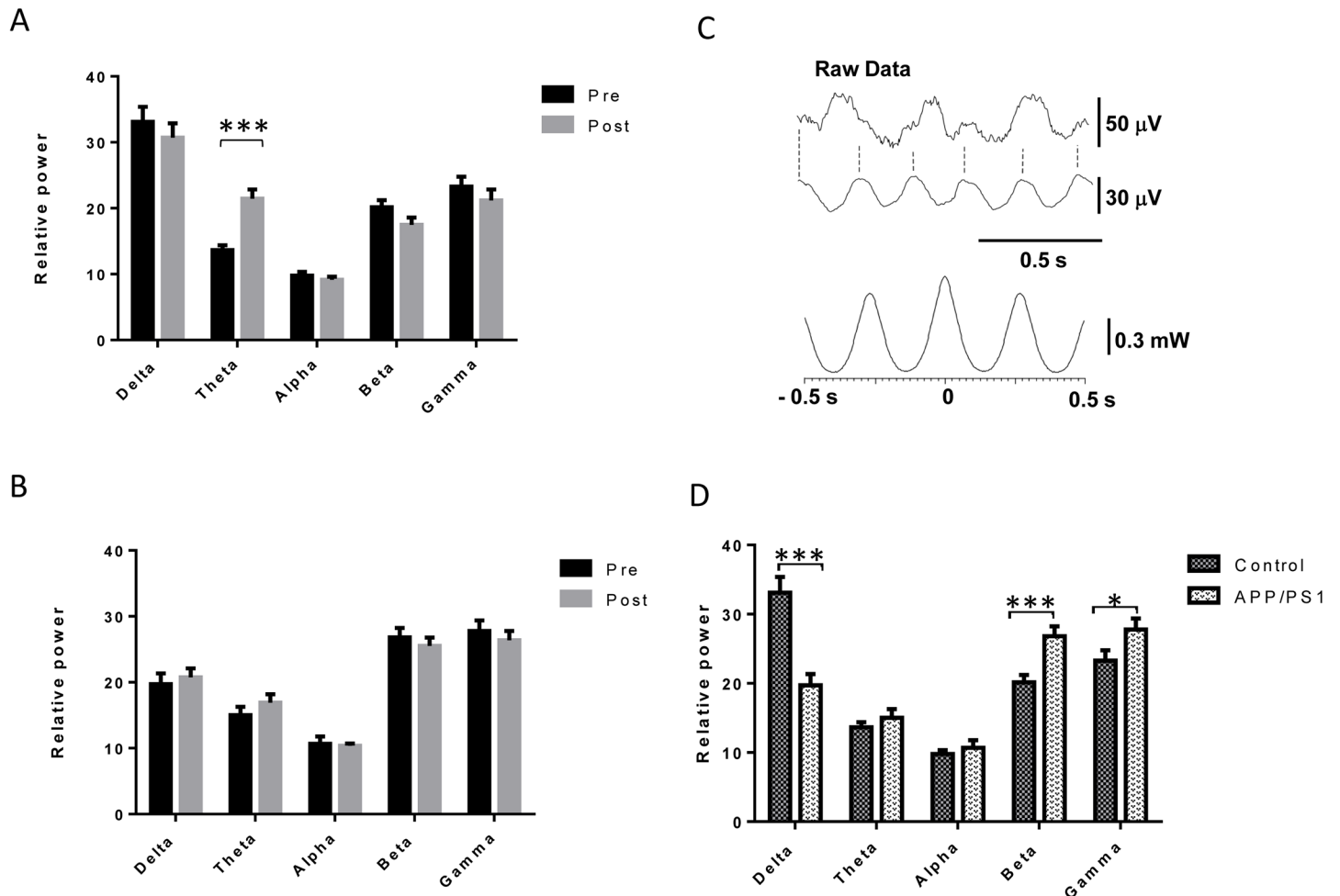
## Results

### Exercise modifies electrocorticogram activity and improves cognitive function in control but not AD mice

Each animal run in independent sessions and in separate days for 15 and for 30 minutes, at moderate speed in the treadmill. For each running session, electrocorticogram recordings (ECG) were carried out in the parietal cortex in freely moving conditions before and after exercise. As shown in [Fig 1](#), control, but not AD mice showed a significant increase in the theta frequency band of the ECG after exercise.

WT mice increased theta frequencies after 15 min or 30 min of exercise (13.8% in control to 22.7%,  $p < 0.001$  vs. pre-exercise; or to 18.8%,  $p < 0.001$ , vs. pre-exercise, respectively). No statistical differences were observed between the percentage of frequency bands after 15 or 30





**Fig 1. Differences in baseline and post-exercise electrocorticogram activity in APP/PS1 mice.** **A**, A bout of moderate exercise specifically increases theta frequencies in the electrocorticogram (ECG) of wild type mice ( $T = -5.72$ ;  $df = 33$ ;  $*p < 0.05$ ;  $n = 9$ ). **B**, No changes are seen in APP/PS1 mice ( $n = 9$ ) after exercise. Pre: 5 min ECG recordings before exercise; Post: 5 min ECG recordings after exercise. Results are the mean of pooling together ECG recordings performed by each mouse after 15 and 30 min of exercise in independent days. **C**, Electrophysiological simultaneous recordings of the ECG (upper record) and of the hippocampal CA1 region (lower record) when theta rhythm was evoked by sensory stimulation (Raw Data). Dashed vertical lines indicate the correspondence of positive peaks of hippocampal theta rhythm with positive peaks in the ECG. Lower plot shows the CC of the hippocampal theta rhythm respect to ECG activity after digital filtering between 4–8 Hz. Periodic peaks implies phase-locking of both theta rhythms. **D**, Baseline ECG recordings in wild type and APP/PS1 mice show differences in various frequency bands (Delta:  $t = 4.8$ ;  $df = 68,56$ ; Beta:  $t = -3.76$ ;  $df = 72$ ; Gamma:  $t = -2.04$ ;  $df = 72$ ;  $*p < 0.05$ ;  $***p < 0.001$ ;  $n = 9$  per group). Results shown are mean  $\pm$  S.E.M.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0178247.g001>

min of exercise and for this reason the results were pooled together in the figures. In contrast, APP/PS1 mice did not alter the proportion of frequency bands after 15 or 30 min of exercise. The power of the theta frequency band was  $3.2 \pm 1.2\%$  ( $p > 0.05$ ,  $n = 9$ ) and  $2.1 \pm 1.1\%$  ( $p > 0.05$ ,  $n = 9$ ) after 15 and 30 minutes of exercise, respectively.

In WT mice, exercise induced an increase of theta waves in the parietal ECG. The origin of theta waves may be the hippocampus where an increase of theta rhythm after exercise has been demonstrated [18]. To test if theta waves recorded in the ECG are generated in the hippocampus, ECG and hippocampal field potentials (HFP) were recorded simultaneously under control conditions and during sensory stimulation in urethane anesthetized WT mice ( $n = 6$ ). In control conditions, theta rhythm represented 8.3% and 11.5% of the ECG and HFP, respectively. These percentages increased up to 15.5% and 20.9%, respectively, during sensory

**Table 1. Blood lactate changes in wild type (WT) controls and AD (APP/PS1) mice after 15 and 30 minutes of moderate running exercise.**

	Pre-exercise (mean $\pm$ sd)	15 min (mean $\pm$ sd)	30 min (mean $\pm$ sd)
WT	1.92 $\pm$ 0.93	3.28 $\pm$ 0.86	2.77 $\pm$ 1.43
APP/PS1	2.61 $\pm$ 0.24	2.94 $\pm$ 0.25	2.72 $\pm$ 0.26

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0178247.t001>

stimulation of the animal's back. Raw data showed theta activity in the HFP during sensory stimulation while the ECG showed theta oscillations between larger delta waves evoked by the anesthetic (Fig 1C, Raw Data). Moreover, cross-correlation (CC) of theta rhythm recorded in the ECG and HFP showed that theta rhythms during sensory stimulation were in phase because the CC showed periodic peaks around the zero reference (Fig 1C, lower plot). Thus, the fact that both theta rhythms changed similarly in both conditions strongly suggests that the theta rhythm recorded in the parietal cortex reflect, at least in part, the hippocampal theta rhythm.

In control conditions (before exercise), WT mice ( $n = 9$ ) showed a 34.4% of delta waves, 13.9% of theta, 9.7% of alpha, 19.4% of beta and 22.6% of gamma frequency bands. However, APP/PS1 mice ( $n = 9$ ) showed a significant decrease of the percentage of delta waves (19.5%;  $p < 0.001$ ) and an increase of beta (26.9%;  $p < 0.001$ ) and gamma (27.9%;  $p = 0.04$ ) frequencies. Theta and alpha frequencies did not change in APP/PS1 mice (15.0% and 10.7%, respectively) respect to values of WT animals, suggesting that the cortical activity is faster in APP/PS1 mice at rest (Fig 1D).

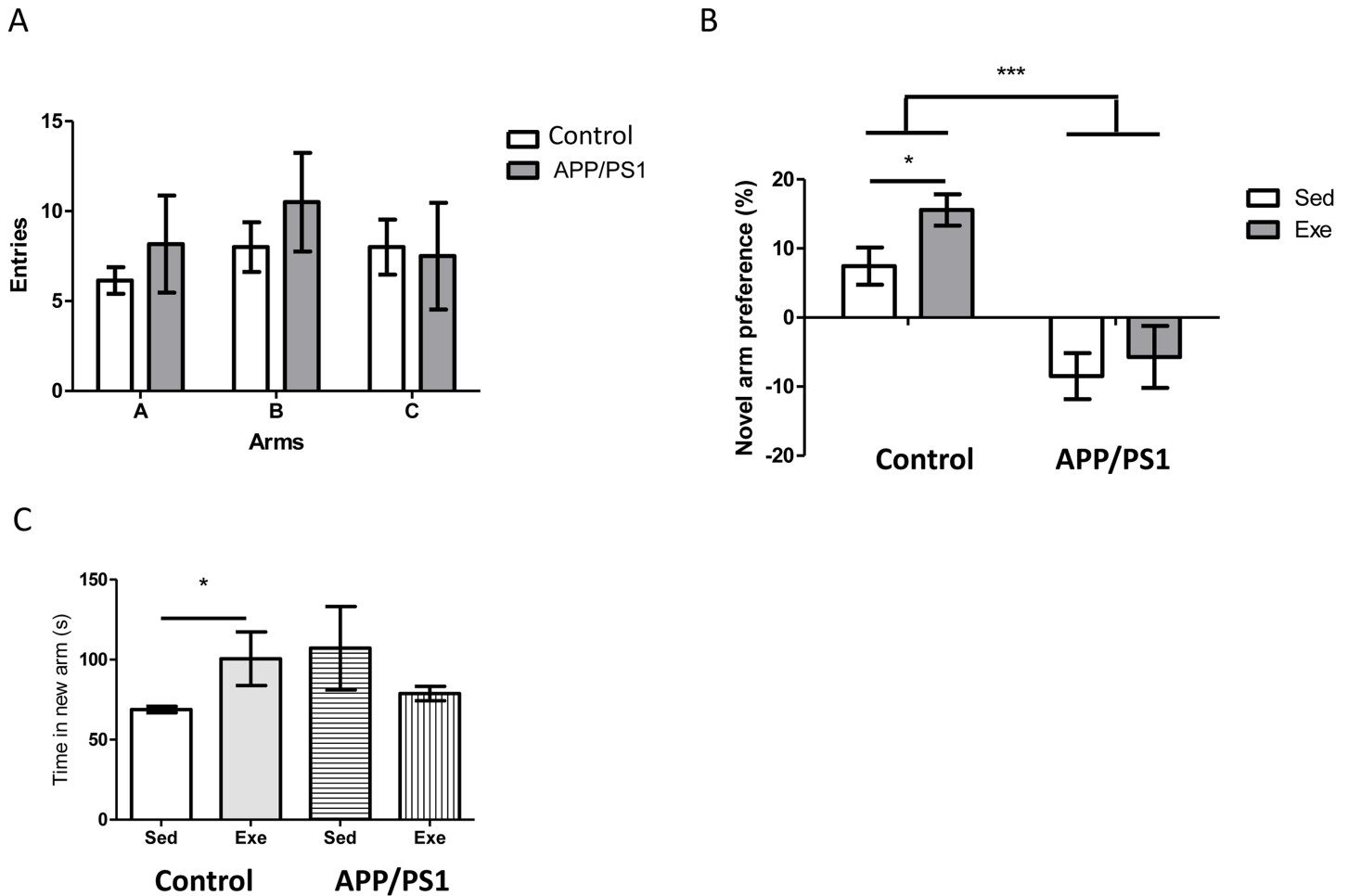
Interestingly, as reported in human patients [19], blood lactate levels in APP/PS1 mice were higher at rest, but did not increase after running, whereas in control mice a moderate increase was seen (Table 1).

We submitted another group of exercised mice (30 minutes) to a Y maze, a test that measures spatial working memory [20]. The sedentary group remained in the treadmill without running, for the same time. Under the relatively prolonged inter-trial conditions used in this test, control exercised mice entered the novel arm significantly more times and spent more time in it than the sedentary group, indicating that exercise enhanced working memory (Fig 2). Importantly, both sedentary and exercised mice were able to learn in the Y maze to the same extent when using a shorter inter-trial time (S1C Fig). However, while both control and APP/PS1 mice behaved similarly in the acquisition phase of the Y maze (Fig 2A), after exercise the latter did not improve their performance in the Y maze (Fig 2B and 2C).

## Discussion

In this proof-of-concept study we have taken advantage of the cognitive-promoting actions of exercise [21, 22], its association to cognitive fitness [7, 8], and its effects on brain activity [23], to show that normal mice improve cognitive skills in the Y maze after exercise. In parallel, mice showed exercise-induced changes in the ECG pattern, specifically in the theta wave. Conversely, APP/PS1 mice did not improve memory skills after exercise and did not show changes in theta after exercise. Collectively, these data indicate that exercise-induced increases in theta—an ECG frequency associated to attention [24], and memory [25], result in improved memory in healthy mice, but not in APP/PS1 mice, a well-established model of AD-like amyloidosis and cognitive deterioration.

Most studies on the effect of exercise on the EEG have reported increased activity in the alpha frequency band, which may reflect a state of decreased cortical activation in comparison with states with high cognitive activity that increase beta and gamma and reduce alpha



**Fig 2. Y maze performance after exercise.** **A**, Both control and APP/PS1 mice performed similar in the acquisition phase of the Y maze before exercise, showing a similar rate of entries in each of the three arms of the maze. **B**, However, while control mice significantly improved their performance after exercise in the Y maze, as determined by increased preference for the novel arm, APP/PS1 did not. **C**, Improved performance was corroborated by increased time spent in the novel arm only in control mice. Sed: sedentary; Exe: exercised (n = 6 per group; one-way ANOVA (exercise x genotype interaction): F = 28.78, df = 17; \*\*\*p<0.0001 control vs APP/PS1; post-hoc t-test: \*p<0.05 vs sedentary).

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0178247.g002>

frequency bands [26, 27]. However, new evidence suggests that regular physical activity can impact cortical function and facilitate plasticity. Aerobic exercise has the capacity to induce short-term neuroplasticity within the human motor cortex, as assessed through cortical circuits evoked by transcranial magnetic stimulation [28]. Our findings agree with these results indicating that the hippocampal theta rhythm -involved in rodents in many plasticity processes such as LTP [29], increases after exercise. APP/PS1 mice did not increase the power of the theta frequency band after exercise, suggesting that plasticity processes may be reduced. Accordingly, the EEG of AD patients shows an increase in slow frequencies (11–12).

Exercise is nowadays one of the most promoted approaches for prevention and treatment of Alzheimer’s disease [30]. In all cases, based on pre-clinical studies, chronic exercise of various intensities has been considered the appropriate regime. However, our results extend its utility as a potential diagnostic tool when used acutely. We consider that this wide utility of exercise is based on its ample neuroprotective actions, including increased brain perfusion, neurotrophic input and metabolic fitness [31–36]. All these beneficial actions, necessary to preserve normal levels of brain activity, may be partially diminished during aging, leading to

gradual cognitive deterioration. We postulate that a bout of exercise unveils this gradual loss of exercise neuroprotection before cognitive deterioration develops. This is reflected in an abnormal pattern of brain activity recorded in the ECG in response to exercise; namely, no changes in theta activity.

Brain activity patterns previously reported using ECG in AD mice had shown general abnormalities [15] together with progressive changes along aging in all spectral frequencies [37], or specifically in theta and delta bands [38]. Other reports also indicate the existence of specific changes in theta and gamma activities [39–42], or in the whole ECG pattern [43]. These varied observations are probably due to the different types of AD mouse models used. However, collectively these data suggest that AD animal models exhibit altered cortical excitability and hippocampal dysrhythmicity. Our findings in APP/PS1 animals show cortical hyperexcitability because they exhibited a decrease of delta power and an increase in faster frequency bands at rest. These results are in agreement with the presence of seizure activity in AD animal models [44] and with the already mentioned fact that people with AD are more likely to develop epilepsy [45]. Our observations add to the growing potential translatability of rodent studies to humans using electrophysiological recordings [46].

Indeed, with the idea of translating these observations to the clinical practice, our results indicate the feasibility of an easy-to-carry-out test to determine cognitive health in the general population based on accessible diagnostic tools. Similar translation studies from rodents [47] to humans [48] has proven successful for exercise as a protective measure against AD. Therefore, a simple diagnostic procedure derived from our observations and others [49], would consist in submitting test subjects to moderate exercise in conjunction with recording EEG activity before and after exercise. Individuals not showing changes after exercise in EEG activity will be categorized as “at-risk” and should undergo further testing. On-going studies in healthy volunteers and cognitively deteriorated subjects will help clarify the possible translation of this test to the clinic.

## Supporting information

**S1 Fig. A**, A $\beta$  immunostaining of control (WT) and APP/PS1 (AD) show the presence of small deposits (A $\beta$  plaques) only in the latter. **B**, Time line of experimental procedure for Y maze plus exercise used in the experiments shown in Fig 2. **C**, Both sedentary (white bars) and exercised (grey bars) wild type mice learn the Y maze task as indicated by increased entries to the novel arm of the maze when using a shorter (60 min) inter-trial time ( $F = 15.774$ ;  $df = 30$ ;  $***p < 0.001$ ;  $n = 9$  per group). (JPG)

## Author Contributions

**Conceptualization:** ITA.

**Data curation:** AMS VM AN.

**Formal analysis:** AMS VM AN.

**Funding acquisition:** AMS AN ITA.

**Investigation:** AMS VM AN AMF.

**Methodology:** AN ITA.

**Project administration:** ITA.

**Resources:** AN ITA.

**Software:** AN.

**Supervision:** AN ITA.

**Validation:** AMS VM AN AMF ITA.

**Visualization:** AMS VM AN AMF ITA.

**Writing – original draft:** ITA.

**Writing – review & editing:** AMS VM AN AMF ITA.

## References

1. Shah H, Albanese E, Duggan C, Rudan I, Langa KM, Carrillo MC, et al. Research priorities to reduce the global burden of dementia by 2025. *Lancet Neurol.* 2016; 15(12):1285–94. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(16\)30235-6](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(16)30235-6) PMID: 27751558
2. Dubois B, Hampel H, Feldman HH, Scheltens P, Aisen P, Andrieu S, et al. Preclinical Alzheimer's disease: Definition, natural history, and diagnostic criteria. *Alzheimers Dement.* 2016; 12(3):292–323. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2016.02.002> PMID: 27012484
3. Scheltens P, Blennow K, Breteler MM, de Strooper B, Frisoni GB, Salloway S, et al. Alzheimer's disease. *Lancet.* 2016; 388(10043):505–17. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(15\)01124-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(15)01124-1) PMID: 26921134
4. Winter B, Breitenstein C, Mooren FC, Voelker K, Fobker M, Lechtermann A, et al. High impact running improves learning. *Neurobiol Learn Mem.* 2007; 87(4):597–609. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2006.11.003> PMID: 17185007
5. Kamijo K, Hayashi Y, Sakai T, Yahiro T, Tanaka K, Nishihira Y. Acute effects of aerobic exercise on cognitive function in older adults. *J Gerontol B Psychol Sci Soc Sci.* 2009; 64(3):356–63. <https://doi.org/10.1093/geronb/gbp030> PMID: 19363089
6. Siette J, Reichelt AC, Westbrook RF. A bout of voluntary running enhances context conditioned fear, its extinction, and its reconsolidation. *Learn Mem.* 2014; 21(2):73–81. PubMed Central PMCID: PMC3895230. <https://doi.org/10.1101/lm.032557.113> PMID: 24429425
7. Muller J, Chan K, Myers JN. Association Between Exercise Capacity and Late Onset of Dementia, Alzheimer Disease, and Cognitive Impairment. *Mayo Clin Proc.* 2017; 92(2):211–7. <https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2016.10.020> PMID: 28082018
8. Boyle PA, Buchman AS, Wilson RS, Leurgans SE, Bennett DA. Association of muscle strength with the risk of Alzheimer disease and the rate of cognitive decline in community-dwelling older persons. *Arch Neurol.* 2009; 66(11):1339–44. PubMed Central PMCID: PMC2838435. <https://doi.org/10.1001/archneurol.2009.240> PMID: 19901164
9. Enders H, Cortese F, Maurer C, Baltich J, Protzner AB, Nigg BM. Changes in cortical activity measured with EEG during a high-intensity cycling exercise. *J Neurophysiol.* 2016; 115(1):379–88. PubMed Central PMCID: PMC4760484. <https://doi.org/10.1152/jn.00497.2015> PMID: 26538604
10. Vissing J, Andersen M, Diemer NH. Exercise-induced changes in local cerebral glucose utilization in the rat. *J Cereb Blood Flow Metab.* 1996; 16(4):729–36. <https://doi.org/10.1097/00004647-199607000-00025> PMID: 8964814
11. Jeong J. EEG dynamics in patients with Alzheimer's disease. *Clin Neurophysiol.* 2004; 115(7):1490–505. <https://doi.org/10.1016/j.clinph.2004.01.001> PMID: 15203050
12. van der HK, Vein AA, Reijntjes RH, Westendorp RG, Bollen EL, van Buchem MA, et al. EEG correlates in the spectrum of cognitive decline. *Clin Neurophysiol.* 2007; 118(9):1931–9. <https://doi.org/10.1016/j.clinph.2007.05.070> PMID: 17604688
13. Fonseca LC, Tedrus GM, Letro GH, Bossoni AS. Dementia, mild cognitive impairment and quantitative EEG in patients with Parkinson's disease. *Clin EEG Neurosci.* 2009; 40(3):168–72. <https://doi.org/10.1177/155005940904000309> PMID: 19715179
14. Faigle R, Sutter R, Kaplan PW. Electroencephalography of encephalopathy in patients with endocrine and metabolic disorders. *J Clin Neurophysiol.* 2013; 30(5):505–16. PubMed Central PMCID: PMC3826953. <https://doi.org/10.1097/WNP.0b013e3182a73db9> PMID: 24084183
15. Born HA, Kim JY, Savjani RR, Das P, Dabaghian YA, Guo Q, et al. Genetic suppression of transgenic APP rescues Hypersynchronous network activity in a mouse model of Alzheimer's disease. *J Neurosci.*

- 2014; 34(11):3826–40. PubMed Central PMCID: PMC3951689. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5171-13.2014> PMID: 24623762
16. Fernandez AM, Jimenez S, Mecha M, Davila D, Guaza C, Vitorica J, et al. Regulation of the phosphatase calcineurin by insulin-like growth factor I unveils a key role of astrocytes in Alzheimer's pathology. *Mol Psychiatry*. 2012; 17(7):705–18. <https://doi.org/10.1038/mp.2011.128> PMID: 22005929
  17. Sarter M, Bodewitz G, Stephens DN. Attenuation of scopolamine-induced impairment of spontaneous alteration behaviour by antagonist but not inverse agonist and agonist beta-carbolines. *Psychopharmacology (Berl)*. 1988; 94(4):491–5.
  18. Rivas J, Gaztelu JM, Garcia-Austt E. Changes in hippocampal cell discharge patterns and theta rhythm spectral properties as a function of walking velocity in the guinea pig. *Exp Brain Res*. 1996; 108(1):113–8. PMID: 8721159
  19. Mancuso M, Filosto M, Bosetti F, Ceravolo R, Rocchi A, Tognoni G, et al. Decreased platelet cytochrome c oxidase activity is accompanied by increased blood lactate concentration during exercise in patients with Alzheimer disease. *Exp Neurol*. 2003; 182(2):421–6. PMID: 12895452
  20. Paul C-M, Magda G, Abel S. Spatial memory: Theoretical basis and comparative review on experimental methods in rodents. *Behavioural Brain Research*. 2009; 203(2):151–64. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2009.05.022> PMID: 19467271
  21. Byun K, Hyodo K, Suwabe K, Ochi G, Sakairi Y, Kato M, et al. Positive effect of acute mild exercise on executive function via arousal-related prefrontal activations: an fNIRS study. *Neuroimage*. 2014; 98:336–45. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2014.04.067> PMID: 24799137
  22. Dimitrova J, Hogan M, Khader P, O'Hora D, Kilmartin L, Walsh JC, et al. Comparing the effects of an acute bout of physical exercise with an acute bout of interactive mental and physical exercise on electrophysiology and executive functioning in younger and older adults. *Aging Clin Exp Res*. 2016.
  23. Brummer V, Schneider S, Abel T, Vogt T, Struder HK. Brain cortical activity is influenced by exercise mode and intensity 1. *Med Sci Sports Exerc*. 2011; 43(10):1863–72. <https://doi.org/10.1249/MSS.0b013e3182172a6f> PMID: 21364475
  24. Sellers KK, Yu C, Zhou ZC, Stitt I, Li Y, Radtke-Schuller S, et al. Oscillatory Dynamics in the Frontoparietal Attention Network during Sustained Attention in the Ferret. *Cell Rep*. 2016; 16(11):2864–74. PubMed Central PMCID: PMC5024719. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2016.08.055> PMID: 27626658
  25. Klimesch W. EEG alpha and theta oscillations reflect cognitive and memory performance: a review and analysis. *Brain Res Brain Res Rev*. 1999; 29(2–3):169–95. PMID: 10209231
  26. Steriade M, Llinas RR. The functional states of the thalamus and the associated neuronal interplay. *Physiol Rev*. 1988; 68(3):649–742. PMID: 2839857
  27. Crabbe JB, Dishman RK. Brain electrocortical activity during and after exercise: a quantitative synthesis. *Psychophysiology*. 2004; 41(4):563–74. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8986.2004.00176.x> PMID: 15189479
  28. Lulic T, El-Sayes J, Fassett HJ, Nelson AJ. Physical activity levels determine exercise-induced changes in brain excitability. *PLoS One*. 2017; 12(3):e0173672. PubMed Central PMCID: PMC5344515. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0173672> PMID: 28278300
  29. Vertes RP. Hippocampal theta rhythm: a tag for short-term memory. *Hippocampus*. 2005; 15(7):923–35. <https://doi.org/10.1002/hipo.20118> PMID: 16149083
  30. Forbes D, Thiessen EJ, Blake CM, Forbes SC, Forbes S. Exercise programs for people with dementia. *Cochrane Database Syst Rev*. 2013; 12:CD006489.
  31. Patten AR, Sickmann H, Hryciw BN, Kucharsky T, Parton R, Kernick A, et al. Long-term exercise is needed to enhance synaptic plasticity in the hippocampus 1. *Learn Mem*. 2013; 20(11):642–7. <https://doi.org/10.1101/lm.030635.113> PMID: 24131795
  32. Pedersen BK, Pedersen M, Krabbe KS, Bruunsgaard H, Matthews VB, Febbraio MA. Role of exercise-induced brain-derived neurotrophic factor production in the regulation of energy homeostasis in mammals. *Exp Physiol*. 2009; 94(12):1153–60. <https://doi.org/10.1113/expphysiol.2009.048561> PMID: 19748969
  33. Ropelle ER, Flores MB, Cintra DE, Rocha GZ, Pauli JR, Morari J, et al. IL-6 and IL-10 Anti-Inflammatory Activity Links Exercise to Hypothalamic Insulin and Leptin Sensitivity through IKK+ and ER Stress Inhibition. *PLoS Biol*. 2010; 8(8):e1000465. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1000465> PMID: 20808781
  34. Stranahan AM, Lee K, Becker KG, Zhang Y, Maudsley S, Martin B, et al. Hippocampal gene expression patterns underlying the enhancement of memory by running in aged mice. *Neurobiol Aging*. 2008.
  35. Takimoto M, Hamada T. Acute exercise increases brain region-specific expression of MCT1, MCT2, MCT4, GLUT1, and COX IV proteins. *J Appl Physiol (1985)*. 2014; 116(9):1238–50.



36. Trejo JL, Carro E, Torres-Aleman I. Circulating insulin-like growth factor I mediates exercise-induced increases in the number of new neurons in the adult hippocampus. *J Neurosci*. 2001; 21(5):1628–34. PMID: [11222653](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11222653/)
37. Jyoti A, Plano A, Riedel G, Platt B. Progressive age-related changes in sleep and EEG profiles in the PLB1Triple mouse model of Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*. 2015; 36(10):2768–84. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2015.07.001> PMID: [26239174](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26239174/)
38. Jyoti A, Plano A, Riedel G, Platt B. EEG, activity, and sleep architecture in a transgenic AbetaPPswe/PSEN1A246E Alzheimer's disease mouse. *J Alzheimers Dis*. 2010; 22(3):873–87. <https://doi.org/10.3233/JAD-2010-100879> PMID: [20858963](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20858963/)
39. Siwek ME, Muller R, Henseler C, Trog A, Lundt A, Wormuth C, et al. Altered theta oscillations and aberrant cortical excitatory activity in the 5XFAD model of Alzheimer's disease. *Neural Plast*. 2015; 2015:781731. PubMed Central PMCID: PMC4398951. <https://doi.org/10.1155/2015/781731> PMID: [25922768](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25922768/)
40. Ittner AA, Gladbach A, Bertz J, Suh LS, Ittner LM. p38 MAP kinase-mediated NMDA receptor-dependent suppression of hippocampal hypersynchronicity in a mouse model of Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol Commun*. 2014; 2:149. PubMed Central PMCID: PMC4212118. <https://doi.org/10.1186/s40478-014-0149-z> PMID: [25331068](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25331068/)
41. Goutagny R, Gu N, Cavanagh C, Jackson J, Chabot JG, Quirion R, et al. Alterations in hippocampal network oscillations and theta-gamma coupling arise before Abeta overproduction in a mouse model of Alzheimer's disease. *Eur J Neurosci*. 2013; 37(12):1896–902. <https://doi.org/10.1111/ejn.12233> PMID: [23773058](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23773058/)
42. Rubio SE, Vega-Flores G, Martinez A, Bosch C, Perez-Mediavilla A, del Rio J, et al. Accelerated aging of the GABAergic septohippocampal pathway and decreased hippocampal rhythms in a mouse model of Alzheimer's disease. *FASEB J*. 2012; 26(11):4458–67. <https://doi.org/10.1096/fj.12-208413> PMID: [22835830](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22835830/)
43. Schneider F, Baldauf K, Wetzel W, Reymann KG. Behavioral and EEG changes in male 5xFAD mice. *Physiol Behav*. 2014; 135:25–33. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2014.05.041> PMID: [24907698](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24907698/)
44. Palop JJ, Chin J, Roberson ED, Wang J, Thwin MT, Bien-Ly N, et al. Aberrant excitatory neuronal activity and compensatory remodeling of inhibitory hippocampal circuits in mouse models of Alzheimer's disease. *Neuron*. 2007; 55(5):697–711. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2007.07.025> PMID: [17785178](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17785178/)
45. Born HA. Seizures in Alzheimer's disease. *Neuroscience*. 2015; 286:251–63. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2014.11.051> PMID: [25484360](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25484360/)
46. Platt B, Welch A, Riedel G. FDG–PET imaging, EEG and sleep phenotypes as translational biomarkers for research in Alzheimer's disease. *Biochemical Society Transactions*. 2011; 39(4):874–80. <https://doi.org/10.1042/BST0390874> PMID: [21787316](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21787316/)
47. Huttenrauch M, Brauss A, Kurdakova A, Borgers H, Klinker F, Liebetanz D, et al. Physical activity delays hippocampal neurodegeneration and rescues memory deficits in an Alzheimer disease mouse model. *Transl Psychiatry*. 2016; 6:e800. <https://doi.org/10.1038/tp.2016.65> PMID: [27138799](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27138799/)
48. Hoffmann K, Sobol NA, Frederiksen KS, Beyer N, Vogel A, Vestergaard K, et al. Moderate-to-High Intensity Physical Exercise in Patients with Alzheimer's Disease: A Randomized Controlled Trial. *J Alzheimers Dis*. 2015; 50(2):443–53.
49. Hyodo K, Dan I, Kyutoku Y, Suwabe K, Byun K, Ochi G, et al. The association between aerobic fitness and cognitive function in older men mediated by frontal lateralization 1. *Neuroimage*. 2016; 125:291–300. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2015.09.062> PMID: [26439424](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26439424/)

**Anexo 10 – Resumo expandido publicado (Capítulo 5)**

STEIN, A.M.; NUÑES, A.; TORRES-ALÉMAN, I. Diferentes respostas no ritmo theta após sessão de exercício aeróbio na doença de Alzheimer e deficiência de IGF-1. Anais CIEFMH – Congresso Internacional de Educação Física e Motricidade humana, v.1, 2017.



# DIFERENTES RESPOSTAS NO RITMO THETA APÓS SESSÃO DE EXERCÍCIO AERÓBIO NA DOENÇA DE ALZHEIMER E DEFICIÊNCIA DE IGF-1

Angelica Miki Stein<sup>1,2</sup>, Angel Nuñez<sup>2,3</sup>, Ignacio Torres-Aléman<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Laboratório de Atividade física e Envelhecimento, Unesp – Campus Rio Claro/ SP – Brasil; <sup>2</sup> Instituto Cajal, Madri – Espanha; <sup>3</sup> Escola de Medicina, Universidad Autonoma, Madri, Espanha

## Resumo

O objetivo deste estudo foi verificar a resposta do exercício aeróbio na atividade elétrica encefálica em ratos selvagens, ratos modelos pré sintomáticos da DA, e ratos com deficiência de IGF-1. Para mensurar a atividade das ondas delta, theta, alpha, beta e gamma foram utilizados registros de eletrocorticograma (ECG) antes e depois da sessão de exercício. Todos os animais passaram por uma cirurgia para implantes de eletrodo de aço inoxidável no córtex parietal, usando implantes telemétricos DSI. Após o mínimo de 4 dias de recuperação, os ratos foram submetidos a sessões de exercício aeróbio realizadas em esteira ergométrica, com velocidade de 9 metros/ min, durante 15 e/ou 30 min. Para análise estatística, foi utilizada a Anova One Way no momento baseline e após a sessão de exercício. Foram observadas diferenças significativas na banda theta entre os três grupos. Desta forma, conclui-se que a resposta na banda theta é diferente na condição usual e no modelo pré sintomático de DA e, ainda pode ser dependente dos níveis de IGF-1.

**Palavras-chave:** doença de Alzheimer, exercício aeróbio, eletrocorticograma, telemetria.

## Introdução

Em estudo anterior, foi demonstrado que injeções do fator de crescimento semelhante à insulina-1 (IGF-1) são capazes de modificar a atividade elétrica encefálica, sendo que a maioria dos ritmos aumentou após a inserção de IGF-1. Entretanto, houve respostas diferentes no modelo animal testado, sendo que camundongos modelo para doença de Alzheimer (APP/PS1) não tiveram mudanças significativas na atividade elétrica após a inserção deste fator de crescimento<sup>1</sup>. Em relação a doença de Alzheimer – tipo de demência mais comum entre idosos - os níveis de IGF-1 parecem estar alterados, sendo que este desempenha papel fundamental na neurogênese, desenvolvimento e diferenciação de neurônios no encéfalo, bem como depuração da proteína beta-amiloide e à hiperfosforilação da tau<sup>2</sup>. Sabe-se que o exercício físico é capaz de otimizar a síntese e uso de IGF-1 no organismo, podendo ser um biomarcador e alvo terapêutico nesta doença. Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar a resposta na atividade elétrica encefálica após uma sessão de exercício aeróbio em modelo animal para DA e deficiência de IGF-1.

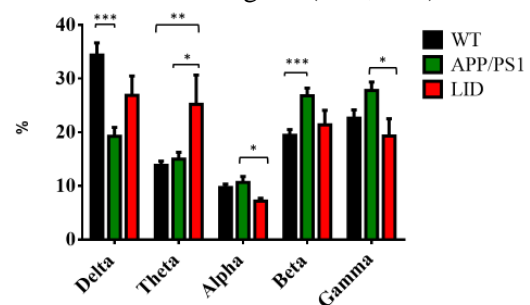
## Materiais e métodos

## Abstract

The aim of this study was to verify the aerobic exercise response on electrical cortical activity in wild type mice, a presynptomatic AD mice and mice with IGF-1 deficiency. To measure delta, theta, alpha, beta and gamma band it was used electrocorticogram registers (ECG) before and after aerobic exercise. All animals were submitted a cirurgy to implant a transmitter device on parietal córtex, using a DSI Implantable Telemetry device. After that, mice remain in their cages a minimus of 4 days to recover. Next this period, all mice were submitted to aerobic exercise session on a treadmill, with 9 meters/ min, during 15 and/or 30 minutes. In statistical analyses, it was used Anova One Way to compare the groups on baseline and after exercise. Differences were observed on theta band between three groups. Thus, it is concluded that the response in theta band is different in usual condition and AD pre syntopmatic model and, may be dependent of IGF-1 levels.

**Key words:** Alzheimer's disease, aerobic exercise, electrocorticogram, telemetry.

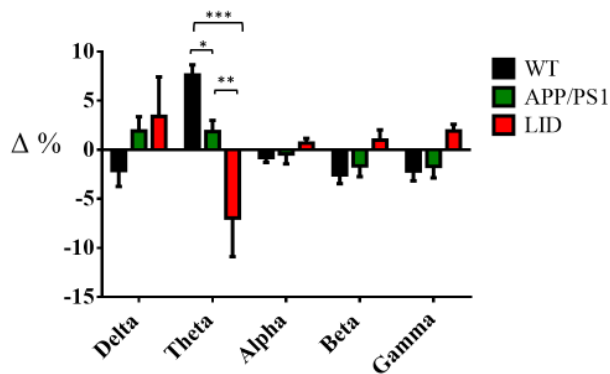
Foram utilizados 3 grupos de modelo animal: 1) Grupo de camundongos selvagens (WT; n=9); 2) Grupo de camundongos modelo para doença de Alzheimer (APP/PS1; n=9); 3) Grupo de camundongos com deficiência de IGF-1 no fígado (LID; n=5).



**Fig 1.** Média e erro padrão para cada banda obtida no ECG dos grupos no momento *baseline*.

Para tanto, os animais foram anestesiados com isoflurano (2-3% para indução), O<sub>2</sub> (0.5 – 1L/min) e colocados no estereotáxico. A pele foi cortada ao longo da linha média e uma craniotomia foi feita (0,5 mm de diâmetro) no córtex parietal (AP: -2, L: 4; V: 1 mm). Um macro-eletrodo de aço inoxidável de <0,5 MΩ foi colocado sem interromper as meninges para registrar a atividade elétrica cortical (ECG), usando implantes telemétricos da marca DSI (Data Sciences International) no crânio de cada animal sem romper as meninges. Após

o mínimo de 4 dias de recuperação, os camundongos realizaram a primeira sessão de exercício aeróbio, sendo registrado o ECG durante o período de 5 minutos, nos momentos antes (*baseline*) e imediatamente ao término da sessão (Pós exercício). As sessões consistiram em exercício aeróbio realizado em esteira ergométrica, a uma velocidade de 9 metros/ minuto por 15 minutos e/ou 30 minutos, em 4 dias alternados, sendo 2 dias utilizados para registro de cada uma das durações.



**Fig. 2** – Média e erro padrão para cada banda obtido no ECG dos grupos no momento Pós exercício.

Sinais da atividade elétrica foram armazenados em um computador utilizando o software DSI e filtrados *off-line* entre 0.3-50 Hz utilizando o programa Spike 2 (Cambridge Electronic Design, Cambridge, UK). Os ritmos das ondas foram considerados nas densidades: banda delta (0,3 – 4 Hz), banda theta (4-8 Hz), banda alpha (8-12 Hz), banda beta (12-30 Hz) e banda gamma (30-50 Hz). O total das 5 bandas foi considerado 100% e foi calculado o percentual relativo de cada uma para análise. Foi utilizado a análise de variância (Anova), seguido do post hoc de Bonferroni para comparação dos grupos no momento *baseline*. Para comparar a resposta pós exercício foi calculado o valor delta ( $\Delta$ = valores pós – valores pré) para cada onda, em todos os grupos e em seguida foi utilizada a Anova para comparação dos grupos.

## Resultados e Discussão

Foram observadas diferenças significativas no momento *baseline* entre os três grupos para as bandas delta; theta; alpha; beta e gamma - Fig.1. Portanto, após as diferenças observadas no momento *baseline* optou-se pelo cálculo dos valores delta para comparação dos grupos após a sessão de exercício. Após a sessão de exercício aeróbio, foi observado que houve diferenças significativas em relação à banda theta (WT x APP/PS1,  $p= 0,04^*$ ; WT x LID,  $p= 0,00^{***}$ ; APP/PS1 x LID,  $p=0,00^{**}$ ) – Fig. 2. Neste sentido, foi observado que o grupo WT teve um incremento na banda theta, enquanto o grupo APP/PS1 teve um ligeiro incremento nesta variável e o grupo LID apresentou decréscimos na mesma.

Estudos tem demonstrado que a ativação do ritmo theta tem sido relacionada a atividade hipocampal, portanto após a sessão de exercício físico pode ser esperada resposta cognitiva benéfica <sup>3,4</sup>. Além disso, a sessão de exercício, juntamente aos registros de ECG e/ou eletroencefalograma podem ser auxiliares no diagnóstico da DA, reforçando a proposta de utilização de biomarcadores na identificação da presença da DA e de diagnóstico diferencial <sup>1</sup>. Tais recursos são interessantes, uma vez que são mais acessíveis que os exames diagnósticos utilizados nos dias de hoje, como tomografia e ressonância magnética <sup>5</sup>.

## Conclusão

Desta forma, pode-se concluir que a resposta da atividade elétrica encefálica é diferente na presença de DA, podendo ser dependente de IGF-1, sendo que o exercício físico é uma das formas de otimizar o uso deste fator de crescimento. Após uma sessão de exercício aeróbio é usual uma mudança na atividade elétrica encefálica, sendo esperado além desta alteração, melhor desempenho da função cognitiva.

## Referências

1. Trueba-Sáiz A, Cavada C, Fernandez AM, Leon T, González DA, Fortea Ormaechea J, et al. Loss of serum IGF-1 input to the brain as an early biomarker of disease onset in Alzheimer mice. *Transl Psychiatry*. 2013; 3: 1–6.
2. Foster PP, Rosenblatt KP, Kuljis, RO. Exercise-induced cognitive plasticity, implications for mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Front Neurol*. 2011; 2(28): 1-15.
3. Klimesch W. EEG alpha and theta oscillations reflect cognitive memory performance: a review and analysis. *Brain Res Brain Res Rev*. 1999; 29: 169-95.
4. Park, JL, Fairweather MM, Donaldson DI. Making the case for mobile cognition: EEG and sports performance. *Neurosci Biobehav Rev*. 2015; 52:117-130.
5. Caramelli P, Teixeira AL, Buchpiguel CA, Lee HW, Livramento JA, Fernandez LL, Anghinah R. Diagnóstico de doença de Alzheimer no Brasil: exames complementares. *Dement Neuropsychol*. 2011; 5: 11-20.

### Nota dos autores

- Angelica Stein é aluna de doutorado do Programa Ciências da Motricidade, da Unesp, campus Rio Claro/SP, Brasil e realizou doutorado sanduíche no Instituto Cajal, Madri – Espanha. CAPES PDSE 99999.010743/2014-06.

- Angel Nuñez é professor na Escola de Medicina, na Universidad Autonoma e colaborador do Laboratório de Neuroendocrinologia do Instituto Cajal.

- Ignacio Torres-Alemán é coordenador do Laboratório de Neuroendocrinologia e pesquisador do Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Instituto Cajal, Madri, Espanha.

### Contato

Angelica Miki Stein

E-mail: [angelica.stein@yahoo.com.br](mailto:angelica.stein@yahoo.com.br)

Agradecimentos: CAPES; FAPESP 2013/19729-0; Ciberneted.

# Apêndices

## Apêndice 1 – Anamnese Estruturada



### ANAMNESE

**Avaliador:** \_\_\_\_\_ **Data:** \_\_\_\_\_

Paciente: \_\_\_\_\_

Data de nascimento: \_\_/\_\_/\_\_\_\_

Idade: \_\_\_\_\_ anos

Sexo:  Masculino  Feminino

Escolaridade: \_\_\_\_\_

Estado Civil:  Casado  Solteiro  Viúvo  Separado

Profissão: \_\_\_\_\_

Naturalidade: \_\_\_\_\_

Filhos:  Não  Sim – Quantos? \_\_\_\_\_

Religião: \_\_\_\_\_

Endereço: \_\_\_\_\_ nº \_\_\_\_\_ Complemento: \_\_\_\_\_

Bairro: \_\_\_\_\_ Cidade: \_\_\_\_\_

Telefones: \_\_\_\_\_

Tempo de Doença: \_\_\_\_\_

Pratica Atividade Física:  Não  Sim – Quantas vezes por semana: \_\_\_\_\_

Há quanto tempo: \_\_\_\_\_ Qual tipo? \_\_\_\_\_

Médico Responsável pelo Paciente: \_\_\_\_\_

Cuidador: \_\_\_\_\_ Data de nasc: \_\_/\_\_/\_\_\_\_

Tem mais algum outro cuidador? \_\_\_\_\_ Nasc: \_\_/\_\_/\_\_\_\_

Grau de Parentesco: \_\_\_\_\_

Tempo de Cuidado: \_\_\_\_\_

Endereço: \_\_\_\_\_ nº \_\_\_\_\_ Complemento: \_\_\_\_\_

**CONDIÇÕES CLÍNICAS****Óculos:** Utiliza óculos para corrigir problemas de visão? Não  Sim – Qual tipo de problema? \_\_\_\_\_**Audição:** Utiliza aparelho para corrigir problemas de audição? Não  Sim – Em qual ouvido? \_\_\_\_\_**Cirurgias:** Realizou alguma cirurgia? Não  Sim – Aonde? \_\_\_\_\_**Artrite:**  Não  Sim**Artrose:**  Não  Sim**Osteoporose:**  Não  Sim**Reumatismo:**  Não  Sim**Fraqueza:**  Não  Sim**Labirintite:**  Não  Sim**Enjôo:**  Não  Sim**Vertigens:**  Não  Sim**Cãibras:**  Não  Sim – Onde? \_\_\_\_\_**Diabetes:**  Não  Sim – Tipo? \_\_\_\_\_**Hipertensão não controlada:**  Não  Sim**Marcapasso:**  Não  Sim**Insuficiência Renal:**  Não  Sim**Asma /DPOC:**  Não  Sim**Doença Coronaria:**  Não  Sim – Qual? \_\_\_\_\_**Dores no peito:**  Não  Sim**Sintomas de Angina:**  Não  Sim**Depressão:**  Não  Sim – Desde quando tem o diagnóstico? \_\_\_\_\_**Colesterol alto:**  Não  Sim**Triglicérides alto:**  Não  Sim**Tem alguma restrição à prática de Atividade Física?**  Não  Sim –

Qual? \_\_\_\_\_

**Alguém da família tem diabetes?**  Não  Sim – Quem? \_\_\_\_\_**Alguém da família tem pressão alta?**  Não  Sim – Quem? \_\_\_\_\_**Tem algum animal de estimação?** Qual? \_\_\_\_\_ Quantos? \_\_\_\_\_**Quedas:**  Não  Sim – Há quanto tempo? \_\_\_\_\_

**Medicações:** \_\_\_\_\_

---

---

---

---

**Exames Complementares:** \_\_\_\_\_

---

---

---

---

**Tempo de Diagnóstico?** \_\_\_\_\_

**Quais foram os primeiros sintomas?** \_\_\_\_\_

---

---

---

---

---

---

---

---

**Histórico de doença na família** \_\_\_\_\_

---

---

---

---

---

**Porque resolveu procurar médico?** \_\_\_\_\_

---

---

---

**O que levou a procurar o grupo de DA na UNESP?** \_\_\_\_\_

---

---

---

---

**Por qual meio de comunicação (rádio, TV, Cartaz, amigos, médico, internet) soube do PRO-CDA?** \_\_\_\_\_

---

---

## Apêndice 2 - Ficha para coleta do teste incremental

### Teste Incremental

Nome do(a) participante: \_\_\_\_\_

Data: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_ Avaliador: \_\_\_\_\_

Estágio	Inclinação	Tempo	FC	Lactato	PSE	PA
Repouso	_____	_____			_____	

Observações: \_\_\_\_\_

---



---



---



---



---

### **Apêndice 3 – Termo de Consentimento livre e esclarecido**

#### **TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (idosos cognitivamente preservados)**

(Conselho Nacional de Saúde, Resolução 196/96).

Olá, eu, Angelica Miki Stein, RG 40.562.373-2, aluna do Curso de Pós graduação pelo programa de Ciências da Motricidade Humana, tendo como orientadora a Prof. Dra. Ruth Ferreira Santos-Galduróz, convido o(a) Sr(a) para participar de uma pesquisa que pretende analisar os aspectos cognitivos e bioquímicos de idosos, assim como pretende analisar a influência do exercício físico sobre tais aspectos. O desenvolvimento desta pesquisa é importante para analisar estratégias que atenuem a curva de declínio cognitivo, bem como verificar se o exercício físico pode induzir um aumento da proteína IGF-1 e viscosidade sanguínea, sendo esperado que esses fatores beneficiem a saúde mental. Além disso, o desenvolvimento dessa pesquisa pretende contribuir para o trabalho de cuidadores e profissionais da área de saúde no sentido de auxiliar no tratamento da Doença de Alzheimer.

Assim, o objetivo dessa pesquisa é analisar o efeito de uma única sessão de exercício aeróbio nos níveis séricos do IGF-1 e viscosidade sanguínea e traçar um perfil das funções cognitivas de idosos hígidos.

Caso o(a) Sr(a) aceite participar desta pesquisa, responderá 8 questionários, sendo que destes cinco relacionados a aspectos cognitivos, um para verificar sintomas depressivos, um questionário para avaliar o nível de atividade física, além de uma anamnese para coleta de dados gerais (idade, escolaridade, tempo de doença, etc). Todas as avaliações serão realizadas nas dependências da UNESP. Além disso, o senhor(a) fará uma coleta sanguínea, em jejum de 8 horas para colesterol total e frações, glicemia, insulina e hemograma completo a ser realizada no Hemodiag Laboratórios de Análises Clínicas Ltda, localizado na Avenida 11, número 125, Bairro Saúde, Rio Claro-SP. Em outro dia será feita outra coleta sanguínea para analisar o lactato e verificar IGF-1 e viscosidade sanguínea, que será realizada nas dependências da UNESP por uma enfermeira. O laboratório poderá ser alterado, caso o (a) Sr(a) tenha residência fora da cidade de Rio Claro-SP, sendo que a escolha do mesmo será realizada de maneira a seguir as características do Laboratório Hemodiag, buscando profissionais qualificados, especializados que proporcionarão semelhante segurança para tal coleta. Os questionários



também poderão ser realizados em outro ambiente, sendo que a pesquisadora será responsável por escolher ambientes semelhantes ao da UNESP para tais avaliações. Para os questionários (avaliação cognitiva), existe o risco do avaliado se sentir constrangido com alguma pergunta, no entanto, o senhor(a) terá o direito de não responder aos testes. Além disso, o ambiente para avaliação cognitiva é tranquilo e individualizado e a avaliação é realizada por um profissional de psicologia habilitado. No teste incremental realizado na esteira, existe o risco de quedas ou lesões músculo esqueléticas que serão minimizados pela presença de um profissional de educação física habilitado e com conhecimentos em primeiros socorros. Haverá também a disponibilidade de material de primeiros socorros. Além disso, os exercícios realizados na esteira serão de intensidade moderada, adequados para sua idade e condição física, e a frequência cardíaca será monitorada durante toda a atividade. Vale destacar que o profissional de educação física supervisionará e ministrará a atividade ficando ao lado do idoso durante toda a sessão de exercício na esteira, bem como serão utilizados equipamentos e instalações adequadas, levando em consideração a iluminação, piso e ventilação.

Para realização de tais procedimentos o senhor(a) deverá apresentar um exame médico constando a autorização do cardiologista e que se encontra apto para realizar exercícios físicos. Todas as avaliações não representarão custo financeiro para o(a) senhor(a).

Caso o senhor(a) aceite participar do estudo, será beneficiado com o conhecimento do seu estado cognitivo, e algumas variáveis bioquímicas descritas anteriormente. Além disso, o(a) Sr(a) estará ajudando a aumentar o conhecimento nesta área e conseqüentemente, beneficiar outros idosos.

O(A) Sr(a) poderá se recusar ou interromper a participação no estudo sem qualquer penalização, bem como lhe serão dados todos os esclarecimentos que desejar, em qualquer momento da pesquisa. Os resultados serão utilizados somente para fins de pesquisa e publicados em revistas e congressos nacionais e internacionais, sendo que sua identidade pessoal será mantida em sigilo.

A pesquisadora estará disponível para quaisquer esclarecimentos antes, durante ou até mesmo após o encerramento desta pesquisa.

Após a leitura do presente Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, se o senhor(a) estiver suficientemente esclarecido, convido-o a assinar este Termo em 2 vias, sendo que uma ficará com o senhor (a) e outra com a pesquisadora responsável.

**Título do Projeto:** Efeito agudo do exercício aeróbio na viscosidade sanguínea e IGF-1 na doença de Alzheimer

**Pesquisador Responsável:** Angelica Miki Stein

**Instituição:** Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho” – Campus de Rio Claro.

**Fone:** (19) 3526-4312      **Email:** [angelica.stein@yahoo.com.br](mailto:angelica.stein@yahoo.com.br)

**Orientador:** Ruth Ferreira Santos-Galduroz

**Cargo/Função:** Profa. Dra. Universidade Federal do ABC e credenciada no Programa de Pós-graduação em Ciências da Motricidade

**Instituição:** Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho” – Campus de Rio Claro.

**Fone:** (19) 3526-4312      **Email:** ruthfsantos@gmail.com

**I – Dados de identificação do participante da pesquisa (idoso):**

Nome do Participante:

\_\_\_\_\_

Documento de Identidade: \_\_\_\_\_ Data de Nascimento: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Sexo: ( ) F ( ) M

Telefone: \_\_\_\_\_, residente a

\_\_\_\_\_, bairro \_\_\_\_\_

**Assinatura do participante:** \_\_\_\_\_

Rio Claro, \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Visto:

\_\_\_\_\_  
Angelica Miki Stein  
Pesquisadora Responsável

\_\_\_\_\_  
Profa. Dra. Ruth Ferreira Santos-Galduróz  
Orientadora

#### **Apêndice 4 – Termo de consentimento livre e esclarecido**

##### **TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (cuidadores)**

Eu, Angelica Miki Stein, RG 40.562.373-2, aluna do Curso de Pós graduação em Ciências da Motricidade, tendo como orientadora a Prof. Dra. Ruth Ferreira Santos-Galduróz, convido o(a) Sr(a) - como cuidador e, seu familiar – idoso com doença de Alzheimer - para participarem de uma pesquisa de doutorado que pretende analisar os aspectos cognitivos e bioquímicos de idosos com doença de Alzheimer, assim como pretende analisar a influência do exercício físico sobre tais aspectos. O desenvolvimento desta pesquisa é importante para analisar estratégias que atenuem a curva de declínio cognitivo, bem como verificar se o exercício físico pode induzir um aumento da proteína IGF-1, sendo esperado que esse aumento seja benéfico a saúde mental. Além disso, o desenvolvimento dessa pesquisa pretende contribuir para o trabalho de cuidadores e profissionais da área de saúde no sentido de auxiliar no tratamento da Doença de Alzheimer.

Assim, o objetivo dessa pesquisa é analisar o efeito do exercício aeróbio nos níveis séricos do IGF-1 e viscosidade sanguínea e traçar um perfil das funções cognitivas de idosos com doença de Alzheimer. O programa de exercício físico consiste em caminhada em uma esteira ergométrica, três vezes por semana, durante 12 semanas.

Caso o(a) Sr(a) aceite participar desta pesquisa, responderá uma anamnese e questionários para avaliar o nível de atividade física e estagiamento da doença de Alzheimer. Todas as avaliações serão realizadas nas dependências da UNESP. Além disso, a pessoa sob seu cuidado fará duas coletas sanguíneas: uma em jejum de 12 horas para colesterol total e frações, glicemia, insulina e hemograma completo a ser realizada no Hemodiag Laboratórios de Análises Clínicas Ltda, localizado na Avenida 11, número 125, Bairro Saúde, Rio Claro-SP e outra coleta, em outro dia para analisar o lactato, verificar o IGF-1 que será realizada nas dependências da UNESP por uma enfermeira. O laboratório poderá ser alterado, caso o (a) Sr(a) e seu familiar tenham residência fora da cidade de Rio Claro-SP, sendo que a escolha do mesmo será realizada de maneira a seguir as características do Laboratório Hemodiag, buscando profissionais qualificados, especializados que proporcionarão semelhante segurança para tal coleta. Os questionários também poderão ser realizados em outro ambiente, sendo que a pesquisadora será responsável por escolher ambientes semelhantes ao da UNESP para tais avaliações.

Além disso, a pessoa sob seus cuidados responderá questionários para verificar algumas funções cognitivas. Para os questionários (avaliação cognitiva), existe o risco do avaliado se sentir constrangido com alguma pergunta, no entanto, será concedido a opção de não responder aos testes e/ou alguma pergunta específica. Além disso, o ambiente para avaliação cognitiva é tranquilo e individualizado e a avaliação é realizada por um profissional de psicologia habilitado. No teste incremental realizado na esteira, existe o risco de quedas ou lesões músculo esqueléticos que serão minimizados pela presença de um profissional de educação física habilitado e com conhecimentos em primeiros socorros. Haverá também a disponibilidade de material de primeiros socorros. Além disso, os exercícios realizados na esteira serão de intensidade moderada, adequados para idade e condição física do paciente, e a frequência cardíaca será monitorada durante toda a atividade. Vale destacar que o profissional de educação física supervisionará e ministrará a atividade ficando ao lado do idoso durante toda a sessão de exercício na esteira, bem como serão utilizados equipamentos e instalações adequadas, levando em consideração a iluminação, piso e ventilação. Em caso de acidente, se houver necessidade, o participante será transportado para o serviço público de saúde mais próximo das dependências da Unesp.

Para realização de tais procedimentos o senhor(a) deverá apresentar um exame médico do seu familiar constando a autorização do cardiologista e que o paciente se encontra apto para realizar exercícios físicos. Todas as avaliações não representarão custo financeiro para o(a) senhor(a).

Caso o senhor(a) aceitar participar do estudo, será beneficiado com o conhecimento do estado cognitivo do seu familiar, e algumas variáveis sanguíneas descritas anteriormente. Além disso, o(a) Sr(a) estará ajudando a aumentar o conhecimento nesta área e conseqüentemente, beneficiar outros idosos e cuidadores.

O(A) Sr(a) poderá se recusar ou interromper a participação no estudo sem qualquer penalização, bem como lhe serão dados todos os esclarecimentos que desejar, em qualquer momento da pesquisa. Além disso, o(a) senhor(a) não receberá qualquer remuneração para participar desta pesquisa. Os resultados serão utilizados somente para fins acadêmicos e publicados em revistas e congressos nacionais e internacionais, sendo que sua identidade e do seu familiar serão mantidas em sigilo.

A pesquisadora estará disponível para quaisquer esclarecimentos antes, durante ou até mesmo após o encerramento desta pesquisa, podendo o Sr(a). se esclarecer pessoalmente ou telefones abaixo.

Se o Sr(a). se sentir suficientemente esclarecido sobre essa pesquisa, seus objetivos, eventuais riscos e benefícios, convido-o(a) a assinar este Termo, elaborado em duas vias, sendo que uma ficará com o Sr(a). e outra com a pesquisadora.

**Título do Projeto:** Efeito do treinamento aeróbio nos níveis do fator de crescimento semelhante a insulina-1 e funções cognitivas na doença de Alzheimer

**Pesquisador Responsável:** Angelica Miki Stein

**Instituição:** Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho” – Campus de Rio Claro.

**Fone:** (19) 3526-4312 **Email:** [angelica\\_stein@yahoo.com.br](mailto:angelica_stein@yahoo.com.br)

**Orientador:** Ruth Ferreira Santos-Galduroz

**Cargo/Função:** Profa. Dra. Universidade Federal do ABC e credenciada no Programa de Pós-graduação em Ciências da Motricidade

**Instituição:** Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho” – Campus de Rio Claro.

**Fone:** (19) 3526-4312 **Email:** [ruthfsantos@gmail.com](mailto:ruthfsantos@gmail.com)

**Comitê de Ética em Pesquisa – Prédio da Administração**

**Fones:** 3526-9678 ou 3526-9605 ou 3526-4105

**I – Dados de identificação do participante da pesquisa (idoso):**

Nome do Participante:

Documento de Identidade: \_\_\_\_\_ Data de Nascimento: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Sexo: ( ) F ( ) M

Telefone: \_\_\_\_\_, residente a \_\_\_\_\_,  
bairro \_\_\_\_\_

**II – Dados de identificação do representante legal do idoso (cuidador):**

Nome do cuidador:

Documento de Identidade: \_\_\_\_\_ Data de Nascimento: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Sexo: ( ) F ( ) M

Natureza (grau de parentesco, cuidador, etc.) \_\_\_\_\_

Telefone: \_\_\_\_\_, residente a \_\_\_\_\_,  
bairro \_\_\_\_\_

**Assinatura do(a) responsável legal:** \_\_\_\_\_

Rio Claro, \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Visto:

---

Angelica Miki Stein  
Pesquisadora Responsável

---

Profa. Dra. Ruth Ferreira Santos-Galduróz  
Orientadora

## Apêndice 5 – DESCRIÇÃO DOS INSTRUMENTOS DE AVALIAÇÃO UTILIZADOS

### Protocolo de Avaliação

#### **Anamnese estruturada** – apêndice 1

- a) Dados sócio-demográficos: Idade, gênero, escolaridade, profissão e estado civil;
- b) Dados referentes ao estilo de vida: Tabagismo, etilismo, prática de atividade física;
- c) Dados clínicos: Doenças associadas, medicamentos em uso (nome e dose diária), estágio da DA e o tempo da doença.

#### **Avaliação Neuropsicológica**

**a) Mini-Exame do Estado Mental** – anexo 1 (MEEM; FOLSTEIN et al., 1975): Este é um instrumento composto por questões agrupadas em sete categorias, cada qual planejada com o objetivo de se avaliarem funções cognitivas específicas. São elas: orientação para tempo, orientação para local, registro de três palavras, atenção e cálculo, recordação das três palavras, linguagem e capacidade visuoespacial. Este teste foi validado para a população brasileira por Brucki et al. (2003).

Como o MEEM sofre influência da escolaridade, valores de referência foram propostos com objetivo de se identificarem os sujeitos com possíveis déficits cognitivos. Brucki et al. (2003) analisaram uma amostra brasileira e sugeriram os seguintes valores para estudos em nosso meio: para analfabetos, 20 pontos; de 1 a 4 anos de escolaridade, 25 pontos; de 5 a 8 anos, 26,5 pontos; de 9 a 11 anos, 28 pontos; e, para indivíduos com escolaridade superior a 11 anos, 29 pontos.

**b) Bateria de Avaliação Frontal** – anexo 2 (BAF; DUBOIS et al., 2000): Esta bateria é específica para avaliar funções executivas em pacientes com doenças neurodegenerativas e tem sido aplicada em pacientes com DA, demência fronto-temporal e doença de Parkinson. A bateria é composta de 6 *subtestes*: “Similaridades” (raciocínio abstrato), “Fluência Lexical” (flexibilidade mental), “Série Motora” (programação), “Instruções Conflitantes” (Sensibilidade à Interferência), “Vai – não vai” (controle inibitório) e “Comportamento de Preensão” (reflexo primitivo). Sua pontuação em uma escala de 0 a 18 pontos, e escores elevados significam melhor desempenho em funções frontais. A BAF encontra-se em estágio inicial de validação no Brasil, no entanto, a versão brasileira da BAF foi bem compreendida por idosos cognitivamente saudáveis e pode ser

considerada um instrumento viável para breve avaliação das funções executivas (BEATO et al., 2007).

**c) Teste do Desenho do Relógio** – anexo 3 (TDR; SUNDERLAND et al., 1989): Este teste compreende a tarefa de desenhar um relógio com a inserção de ponteiros marcando determinada hora (exemplo 2h 45), e destina-se a aferir funções executivas (planejamento, pensamento abstrato, sequência lógica e monitoramento do processamento executivo). O TDR foi traduzido, adaptado e validado no Brasil por Atalaia-Silva; Lourenço (2008).

**d) Teste de Fluência Verbal Semântica** – anexo 4 (TFVS; LEZAK, 1995): O teste de fluência verbal é caracterizado pela capacidade de nomeação pelo sujeito do maior número possível de animais durante um minuto. Este teste avalia memória semântica, linguagem e funções executivas. Neste trabalho foi utilizado o teste de fluência verbal-categoria animais que foi validado por Brucki et al. (1997).

**e) Procurar Símbolos** – anexo 5 - *Subteste* da Escala Wechsler de Inteligência para Adultos – III / WAIS-III (Wechsler Adult Intelligence Scale – III; WECHSLER, 2004): Este *subteste* avalia atenção e rapidez do processamento mental. É composto por séries de sequências de símbolos sendo que, em cada uma, são apresentados ao sujeito dois símbolos-modelos e cinco símbolos-respostas. Solicita-se ao sujeito associar sua resposta a um dos modelos correspondente e a realizar o maior número possível de sequências durante dois minutos. A bateria da WAIS-III, incluindo o *subteste* Procurar Símbolos, foi adaptada e validada no Brasil por Nascimento (2000). As análises das características psicométricas da escala revelaram índices elevados de fidedignidade e validade.

### **Avaliação dos Sintomas Depressivos**

Sabidamente os sintomas depressivos interferem na cognição do idoso. Para a identificação desta possível interferência, foi aplicada a Escala de Depressão Geriátrica (GDS) em ambos os grupos (idosos com DA e idosos preservados cognitivamente).

**f) Escala Geriátrica de Depressão (GDS-30)** – anexo 6 (YESAVAGE et al., 1983): Este instrumento é utilizado para a detecção de sintomas depressivos em pessoas idosas. Oferece medidas válidas e confiáveis para a avaliação de sintomas depressivos. É uma escala com 30 perguntas negativas/afirmativas, em que, o resultado de 10 ou mais pontos sugere a presença de sintomas depressivos clinicamente relevantes.

### **Avaliação clínica**

A classificação do grau de comprometimento do idoso tem por base o Escore de Avaliação Clínica de Demência, questionário este respondido pelos cuidadores dos idosos com DA, descrito a seguir.

#### **g) Escore de Avaliação Clínica de Demência (Clinical Dementia Rating - CDR) – anexo 7.**

Utilizado para classificar a gravidade da demência, o CDR avalia cognição e comportamento, além da influência das perdas cognitivas na capacidade do paciente para realizar adequadamente as atividades de vida diária. Esse instrumento divide-se 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 deve ser classificada em: 0 (nenhuma alteração); 0,5 (demência questionável); 1 (demência leve); 2 (demência moderada); e 3 (demência grave). A classificação final da escala é obtida pela análise dessas classificações por categorias, seguindo-se um conjunto de regras elaboradas e validadas por Morris (1993) e as normas estabelecidas pela validação da versão em português por Montañó e Ramos (2005).

### **Avaliação do Nível de Atividade Física**

O questionário abaixo foi respondido pelo cuidador em relação ao idoso com DA e pelos idosos cognitivamente preservados.

#### **h) Questionário Baecke Modificado para Idosos – anexo 8 (QBMI - VOORRIPS et al., 1991)**

É composto por 10 questões relacionadas às atividades básicas e instrumentais, utilização do tempo livre e prática de atividade física pelo idoso.

### **Avaliação Metabólica**

Para a avaliação dos níveis de colesterol total e frações, triglicérides, glicemia e insulina foi realizada uma coleta sanguínea intravenosa em jejum de 12 horas. Foram utilizadas as seguintes técnicas para análise do material: método enzimático (automatizado), inibição seletiva e enzimático (automatizado) e glicose-oxidase.

Os idosos deveriam seguir as seguintes instruções antes da realização da coleta sanguínea:

- Manter uma dieta e peso habituais por duas semanas antes do exame.
- Evitar a ingestão de bebida alcoólica 72 horas antes da coleta.



- Evitar exercícios físicos intensos nas 24 horas antes da coleta.
- Jejum de 12 horas.
- Coletar o sangue na posição sentada após 10 a 15 minutos (evitar permanecer deitado e sentar na hora da coleta de sangue), manter o torniquete no braço (elástico que aperta o braço para tornar as veias mais salientes) por um tempo inferior a 1 minuto.

### **Avaliação da Composição Corporal**

Foram coletados a estatura corporal, o peso corporal e circunferências da cintura e do quadril.

O Índice de Massa Corporal (IMC) foi calculado, sendo obtido por meio da divisão do peso corporal (kg) pela estatura (metros) elevada ao quadrado ( $\text{kg/estatura m}^2$ ). O IMC foi calculado para verificar o perfil da composição corporal do indivíduo.

As medidas de circunferência corporal também foram coletadas, sendo bem aceitas na estimativa de distribuição de gordura. As medidas frequentemente adotadas são as da cintura e do quadril, que fornecem a relação cintura/quadril (RC/Q).