UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE CIÊNCIAS - BAURU

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA MOTRICIDADE

IMPACTO DA ULTRAPASSAGEM DE UM OBSTÁCULO, DA CONCENTRAÇÃO DE FATOR NEUROTRÓFICO DERIVADO DO CÉREBRO E DO TRATAMENTO COM VITAMINA D NA MARCHA EM PESSOAS COM ESCLEROSE MÚLTIPLA

Aluno**: Felipe Balistieri Santinelli**

Orientador: **Prof. Dr. Fabio Augusto Barbieri**

Co-orientador: **Prof. Dr. Emerson Sebastião**

Dezembro
2020

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

FACULDADE DE CIÊNCIAS- CAMPUS BAURU

DEPARTAMENTO DE EDUCAÇÃO FÍSICA

LABORATÓRIO DE PESQUISA EM MOVIMENTO HUMANO (MOVI-LAB)

IMPACTO DA ULTRAPASSAGEM DE UM OBSTÁCULO, DA CONCENTRAÇÃO DE FATOR NEUROTRÓFICO DERIVADO DO CÉREBRO E DO TRATAMENTO COM VITAMINA D NA MARCHA EM PESSOAS COM ESCLEROSE MÚLTIPLA

Felipe Balistieri Santineli
Orientador: Prof. Dr. Fabio Augusto Barbieri
Co-orientador: Prof. Dr. Emerson Sebastião

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Motricidade - Interunidades, Universidade Estadual Paulista, "Júlio de Mesquita Filho", como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências da Motricidade.

Bauru

2020

Santinelli, Felipe Balistieri.
Impacto da ultrapassagem de um obstáculo, da concentração de fator neurotrófico derivado do cérebro e do tratamento com vitamina d na marcha em pessoas com esclerose múltipla / Felipe Balistieri Santinelli, 2020

118 p.

Orientador: Fabio Augusto Barbieri

Dissertação (Mestrado)- Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Ciências, Bauru, 2020

1. Esclerose Múltipla. 2. Locomoção. 3. Atividade cortical. 4. Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro. 5. Vitamina D.
I. Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Ciências. II. Título.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Bauru

ATA DA DEFESA PÚBLICA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO DE FELIPE BALISTIERI SANTINELLI, DISCENTE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA MOTRICIDADE, DA FACULDADE DE CIÊNCIAS - CÂMPUS DE BAURU.

Aos 10 dias do mês de dezembro do ano de 2020, às 09:00 horas, por meio de Videoconferência, realizou-se a defesa de DISSERTAÇÃO DE MESTRADO de FELIPE BALISTIERI SANTINELLI, intitulada **IMPACTO DO TRATAMENTO COM VITAMINA D E DA CONCENTRAÇÃO DE FATOR NEUROTRÓFICO DERIVADO DO CÉREBRO NOS PARÂMETROS ESPAÇO-TEMPORAIS E NA ATIVIDADE CORTICAL DURANTE A MARCHA EM PESSOAS COM ESCLEROSE MÚLTIPLA.**. A Comissão Examinadora foi constituida pelos seguintes membros: Prof. Dr. FABIO AUGUSTO BARBIERI (Orientador(a) - Participação Virtual) do(a) Departamento de Educação Física / UNESP - Faculdade de Ciências de Bauru - SP, Prof. Dr. FABIO SANTOS DE LIRA (Participação Virtual) do(a) Departamento de Educação Física / Faculdade de Ciências e Tecnologia de Presidente Prudente, DRa. ANA CRISTINA DE DAVID (Participação Virtual) do(a) EDUCAÇÃO FÍSICA / UNIVERSIDADE DE BRASILIA. Após a exposição pelo mestrando e arguição pelos membros da Comissão Examinadora que participaram do ato, de forma presencial e/ou virtual, o discente recebeu o conceito final: APROVADO. Nada mais havendo, foi lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pelo(a) Presidente(a) da Comissão Examinadora.

Prof. Dr. FABIO AUGUSTO BARBIERI

Agradecimentos

Primeiramente, gostaria de agradecer a Deus por me dar saúde, força e coragem para chegar até esse momento e me suportar pelos próximos desafios que virão.

À minha falecida mãe, Maria Tereza Balistieri Santinelli. Por juntamente à Deus, continuar me dando forças e me protegendo durante toda a minha vida. Sei que a senhora está num lugar muito melhor que o nosso mundo físico e deve estar muito orgulhosa e torcendo por mim.

Ao meu pai, Joel Santinelli. Por toda paciência, amor, companheirismo e suporte dado durante todo esse processo e também durante toda a minha vida. Com certeza uma parte desse trabalho é seu também, pai. Obrigado por sempre estar comigo, nos momentos bons e ruins, me dando suporte para que eu não desistisse e acreditando no meu potencial.

Aos meus irmãos, Gabriel e Thiago. Por estarem junto comigo, assim como o pai, nos momentos bons e ruins. Especialmente ao meu irmão Thiago, por ter dividido o apartamento 75B por mais de dois anos e ter sido um ombro e ouvido amigo nos piores momentos desse processo. Obrigado por sempre estarem comigo, irmãos.

À minha namorada, Isabela. Por estar comigo por mais da metade dessa caminhada do mestrado, me aguentando reclamar diversos dias e me apoiando nos piores momentos, especialmente durante esse ano de 2020.

Obrigado pelos beijos, abraços e todo amor que recebi de você durante todo esse tempo. Obrigado por estar comigo não só nos momentos ruins, mas também nos momentos de comemoração. Você é meu maior suporte e estarei aqui por você sempre.

Ao meu orientador, Fabio Augusto Barbieri. Por toda orientação dada, parceria e amizade ao longo desse caminho. Com certeza os puxões de orelha e broncas que levei me serviram para me ajudar a crescer como pessoa e como profissional. Hoje me sinto muito mais capacitado do que em 2018, quando comecei o mestrado. Espero que essa parceria perdure por muitos anos. Além de tudo, embora formalmente você é meu orientador, agradeço a amizade e suporte dado, não só profissionalmente, mas também pessoalmente.

Ao meu co-orientador, Emerson Sebastião. Por todo o conhecimento e pela enorme contribuição que você fez e faz ao meu trabalho. Você com certeza é essencial para que os trabalhos e o produto final dessa dissertação sejam de grande qualidade. Além disso, agradeço por dividir já algumas palestras para falar de esclerose múltipla. É sempre um prazer compartilhar com você esses momentos.

À FAPESP, pelo apoio financeiro, na forma de bolsa de estudo, para a realização desta dissertação (processo 2018/18078-0).

À CAPES, pelo apoio financeiro, na forma de bolsa de estudos, durante os primeiros meses de realização desta dissertação.

Aos meus companheiros de MOVI-LAB. Por todos os cafés que eu fiz pra vocês (eu juro que fiz e tenho provas), risadas e conversas. Já são 4 anos e meio com vocês e em sua grande maioria, muito felizes e de alegria. Vocês com certeza possuem um pedacinho aqui no meu coração.

Um agradecimento especial a minha equipe de coleta, Luiz, Marina, Julia, Vinicius, Vanessa e Julia Faustini. Obrigado por todo o suporte durante os 5-6 meses de coletas e pelas coletas até aos sábados. Vocês foram importantes e essenciais para que esse trabalho fosse realizado.

Aos participantes do estudo e em especial, aqueles com esclerose múltipla. Sei como é difícil ter uma doença como a esclerose, mas vocês foram essenciais para que esse trabalho acontecesse. Muitos vieram de cidades a centenas de quilômetros de Bauru para poder participar da coleta de dados. O meu muito obrigado a todos.

Aos laboratórios parceiros, LEFEx (Profa. Sandra), LAFIDE (Prof. Alessandro) e ao laboratório de materiais avançados (Prof. Paulo e Profa. Marcela). Por disponibilizar e abrir o espaço do laboratório de vocês para que partes das análises fossem realizadas. O meu muito obrigado.

À todas as pessoas, amigos, colegas e familiares, que de alguma participaram durante todo esse processo e da minha vida acadêmica. Com

certeza vocês contribuíram, com um tijolinho, para que eu chegasse aonde estou nesse momento.

Aos pacientes do projeto de extensão ATIVA Parkinson. Vocês com certeza me ajudaram a ser uma pessoa melhor, assim como um profissional melhor. Muito obrigado a todos vocês.

MOVI-LAB
LABORATORIO DE PESQUISA EM MOVIMENTO HUMANO

Resumo

A esclerose múltipla (EM) é uma doença neurodegenerativa, inflamatória e autoimune que afeta a bainha de mielina dos neurônios localizados no sistema nervoso central (SNC). Essa desmielinização sofrida pelos neurônios provocam déficits no andar e na atividade cortical, podendo estar relacionada com uma piora do andar, principalmente em ambientes mais complexos. Entretanto, os fatores neurofisiológicos dos déficits do andar nessa população não serem bem conhecidos, podendo a concentração do Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro (BDNF) e menor concentração de vitamina D, estarem correlacionados com os parâmetros motores e neurais do andar. Com isso, o objetivo desta dissertação foi investigar o impacto da presença de um obstáculo durante o andar, da concentração de BDNF e da vitamina D na atividade cortical e nos parâmetros espaço-temporais do andar em pessoas com EM. Para responder aos questionamentos da dissertação, três estudos foram propostos. Para o estudo 1, foram recrutadas 15 pessoas com EM e 15 pessoas neurologicamente saudáveis, que realizaram o andar em duas condições: com e sem a presença de um obstáculo de espuma de 15 cm de altura, correspondente a altura do meio-fio, em seu caminho. Os parâmetros espaço-temporais do andar e da atividade cortical adotados foram os mesmos para ambas as condições, exceto para a condição com obstáculo, onde foram calculados as distancias horizontais e verticais, em relação ao obstáculo, de ambos os pés. Os resultados revelaram que as pessoas com EM possuem déficits no andar em ambas as condições (e.g., menor comprimento do passo e menor velocidade do passo) e maior atividade cortical do que os seus pares sem a doença. Essas alterações ficam mais evidenciadas na presença de um obstáculo, além das pessoas com EM posicionar ambos os pés mais próximos ao obstáculo, sendo considerado uma estratégia mais arriscada. Para o estudo 2, 20 pessoas com EM e 18 controles foram recrutados. Coletas sanguíneas foram realizadas para verificação da concentração sanguínea de BDNF. Os participantes andaram somente sem a presença de um obstáculo, sendo obtidos os mesmos parâmetros do andar e da atividade cortical do estudo 1. Além disso, os participantes realizaram o teste de mobilidade funcional (*Timed-up-go*- TUG). Os resultados indicaram que o comprimento do passo, a velocidade do passo, o TUG e as bandas de frequência teta e beta da atividade cortical do córtex motor, foram correlacionados com a concentração de BDNF. Ainda, a análise da curva ROC indicou que a velocidade do passo, TUG e a banda beta do córtex motor são bons classificadores da EM. Por fim, no estudo 3, 16 pessoas neurologicamente saudáveis e 20 pessoas com EM foram recrutadas, sendo às pessoas com EM divididas em dois grupos: pessoas que suplementavam vitamina D (EMD- 10 indivíduos) e pessoas sem suplementação (EMsD- 10 indivíduos). O mesmo protocolo do estudo 2 foi empregado, sendo mensurado também a concentração sanguínea de vitamina D. O resultado mostrou que apenas o grupo EMsD apresentou deficiências nos parâmetros espaço-temporais do andar (e.g., menor comprimento do passo e menor velocidade do passo) quando comparado com o grupo controle. Apesar de ambos os grupos apresentarem maior atividade cortical do que o grupo controle, o grupo EMsD apresentou maior atividade em todas as regiões analisadas (frontal, motora, parietal e occipital) comparado ao grupo controle. Esses resultados sugerem que a vitamina D pode estar atuando na melhora dos parâmetros motores e neurais do andar em pessoas com EM.

Palavras-chave: Esclerose múltipla; Locomoção; Atividade Cortical; Fator neurotrófico derivado do cérebro; Vitamina D.

Abstract

Multiple sclerosis (MS) is a neurodegenerative, inflammatory and autoimmune disease that affects the myelin sheath of neurons located in the central nervous system (CNS). This demyelination suffered by neurons causes deficits in gait and in cortical activity, which may be related to a worsening of walking in a more complex environments (i.e., crossing an obstacle). However, the neurophysiological factors of gait impairments in this population are not well known, the concentration of the Brain Derived Neurotrophic Factor (BDNF) and a lower concentration of vitamin D may be correlated with the motor and neural parameters of the gait. Thereby, the objective of this dissertation was to investigate the impact of the presence of an obstacle, the concentration of BDNF and vitamin D on the cortical activity and the spatial-temporal gait parameters in people with MS during gait. To answer the questions of the dissertation, three studies were proposed, and a total of 40 people participated in the gait evaluations. For study one, 15 people with MS and 15 neurologically healthy people were recruited, which walked in two gait conditions: with and without the presence of a 15 cm high foam obstacle, corresponding to the height of the curb, in their path. The spatial-temporal gait parameters and cortical activity adopted were the same for both conditions, except for the condition with obstacle, where the horizontal and vertical distances were calculated related to the obstacle, of both feet. The results showed that people with MS present gait impairments in both conditions (e.g., lower step length and step velocity) and higher cortical activity than their healthy peers. These changes are more evident in the presence of an obstacle, with the people with MS positioning both feet closer to the obstacle, being considered a riskier strategy. For study two, 20 people with MS and 18 controls were recruited and blood samples were obtained to measure the serum concentration of BDNF. The participants walked only without the presence of an obstacle and the same gait and cortical activity parameters of the study 1 were obtained. In addition, the participants performed the functional mobility test (Timed-up-go- TUG). The results indicated that the step length, the step velocity, TUG and the theta and beta frequency bands of the cortical activity of the motor cortex, were correlated with the BDNF concentration. Still, the ROC curve analysis indicated that the step velocity, TUG and the beta band of the motor cortex are good classifiers of MS. Finally, in study three, 16 neurologically healthy people and 20 people with MS were recruited, with people with MS divided into two groups: people who supplemented vitamin D (MSD-10 individuals) and people without supplementation (MSwD-10 individuals). The same protocol as in study 2 was used and the vitamin D blood concentration was measured. The result showed that only the MSwD group showed gait impairments in the spatial-temporal gait parameters (e.g., lower step length and step velocity) when compared with the control group. Although both groups showed greater cortical activity than the control group, the MSwD group showed greater activity in all regions analyzed (frontal, motor, parietal and occipital) compared to the control group. These results suggest that vitamin D may be acting to improve the motor and neural parameters of gait in people with MS

Key words: Multiple sclerosis; Gait; Brain Derived Neurotrophic Factor; Electroencephalogram; Vitamin D.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Médias, desvios padrão e range das medidas antropométricas e clínicas dos participantes. 27

Tabela 2. Médias e desvios padrão, assim como os valores de F e p (em parêntesis) e o tamanho de efeito (TE) para todos os parâmetros do andar analisados. 29

Tabela 3. Médias, desvios padrão e amplitude das medidas antropométricas e clínicas dos participantes. 51

Tabela 4. Estatística descritiva e os valores de MANOVA e ANOVA da comparação de grupos dos parâmetros do andar e da atividade cortical. 52

Tabela 5. Valores da curva ROC sobre o desempenho dos classificadores da Esclerose Múltipla. 59

Tabela 6. Características gerais dos participantes. Metros (m); Kilogramas (Kg); Segundos (s); nanogramas (ng); mililitro (mL); Grupo Esclerose Múltiplas sem vitamina D (EMsD); Grupo Esclerose Múltipla com vitamina D (EMD); Grupo Controle (GC); 25-hydroxivitamina D (25(OH)D) * diferente do grupo EMD; # diferente do grupo GC. Valores estão reportados em média±desvio padrão 78

Tabela 7. Classificação das correlações entre a concentração de vitamina D e as avaliações clínicas, parâmetros do andar e atividade cortical para aqueles com EM. Em **negrito** está indicado correlação significante. 80

Tabela 8. Valores estatístico das variáveis da atividade cortical. Em **negrito** está representada as variáveis que apresentam diferenças significativas. 83

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Passos (ultrapassagem e de suporte) analisados na fase de ultrapassagem da condição com obstáculo..... 25

Figura 2. Médias e desvios padrão da atividade cortical de acordo com a região cortical e a banda. Delta (δ), teta (θ), alfa (α), beta (β) e gama (γ) em cada região de interesse (frontal, motora, parietal e occipital áreas) para as pessoas com Esclerose Múltipla (PcEM) e grupo controle (GC) durante as condições de baseline (pessoas sentadas), condição de andar livre e condição de ultrapassagem de obstáculo. # Diferença entre grupos; [g] Efeito principal de grupo; [c] diferença entre as condições; * interação grupo*condição. 32

Figura 3. Resumos dos achados do estudo. Na representação do cérebro, as cores representam cada região de interesse, sendo vermelho = córtex frontal; amarelo = córtex motor; azul = córtex parietal; verde = córtex occipital. Pessoas com Esclerose Múltipla (PcEM); Grupo Controle (GC); Condição do andar com ultrapassagem de obstáculo (O); andar sem ultrapassagem de obstáculo (Livre); Comprimento do passo (CP); Velocidade do passo (VP); Largura do Passo (LP); Duração do Passo (DP); Duplo Suporte (DS). 34

Figura 4. Desenho experimental do estudo. pessoas com Esclerose Múltipla (PcEM); Grupo Controle (GC); *falls efficacy Scale- International* (FES-I); Mini Exame do Estado Mental (MEEM); *Fatigue Severity Scale* (FSS); Questionário Internacional de Atividade Física (IPAQ); *Symbol digit Modality Test* (SDMT)..... 46

Figura 5. Concentração de Fator Neurotrófico derivado do Cérebro (BDNF) entre os grupos. Nano gramas por milímetro (ng/ml); * Diferença significativa entre os grupos. 53

Figura 6. Correlações entre as concentrações de Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro (BDNF) e das avaliações clínicas para as pessoas com Esclerose Múltipla (PcEM) e do

Grupo Controle (GC). *Expanded disability Status Scale* (EDSS); *Patients-Determined Disease Steps* (PDDS); *falls efficacy Scale- International* (FES-I); Mini Exame do Estado Mental (MEEM); *Fatigue Severity Scale* (FSS); Questionário Internacional de Atividade Física (IPAQ); *Symbol digit Modality Test* (SDMT)..... 54

Figura 7. Correlações entre as concentrações de Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro (BDNF) e os parâmetros do andar para as pessoas com Esclerose Múltipla (PcEM) e do Grupo Controle (GC). *Timed-up-go* (TUG); Centímetro (cm); Segundos (s); Porcentagem (%). 55

Figura 8. Correlações entre as concentrações de Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro (BDNF) e os parâmetros do andar para as pessoas com Esclerose Múltipla (PcEM) e do Grupo Controle (GC). teta (θ); alfa (α); beta (β). 57

Figura 9. Curva ROC dos classificadores da esclerose múltipla para as variáveis clínicas, parâmetros do andar e da atividade cortical. *Timed-up-go* (TUG); *falls efficacy Scale-International* (FES-I); Mini Exame do Estado Mental (MEEM); *Fatigue Severity Scale* (FSS); *Symbol digit Modality Test* (SDMT)..... 60

Figura 10. *Box plots* do: 1A- *Expanded disability status scale* (EDSS); 1B- *Patients Determined Disease Step Scale* (PDDS); 1C- Tempo de duração da doença; 1D- tempo da última recaída; 1E- representação do *Symbol digit modalities test* (SDMT);1F- Mini-Exame do Estado Mental (MEEM); 1G- *fatigue severity scale* (FSS); 1H- *Falls Efficacy Scale- International* (FESI). Os pontos representam os outliers da análise. * Grupo EMsD diferente do grupo EMD; # EMsD diferente do grupo GC. 79

Figura 11. Valores de média (em barras) e desvio padrão (em linha) dos parâmetros do andar. Grupo Esclerose Múltiplas sem vitamina D (EMsD); Grupo Esclerose Múltipla com vitamina D (EMD); Grupo Controle (GC). # Grupo EMsD diferente do GC. 81

Figura 12. Médias (em barras) e desvios padrão (em linha) do eletroencefalograma (EEG) nas bandas de frequências: teta (θ), alfa (α) e beta (β) nas áreas corticais frontal, motora, parietal e occipital. # Grupo EMsD diferente do GC; * Grupo EMD diferente do GC..... 84

Sumário

CAPÍTULO 1 1
INTRODUÇÃO GERAL 1
1. Introdução 2
1.1 Esclerose Múltipla 3
1.2 Locomoção, Atividade Cortical e Esclerose múltipla 5
1.3 Biomarcadores e Esclerose Múltipla 7
1.4 Efeito do tratamento com vitamina D na Esclerose múltipla 9
1.5 Objetivos e delineamento da dissertação 12
1.6 Referências 13
CAPÍTULO 2 19
Estudo 1- Características da atividade cortical e dos parâmetros do andar em pessoas com esclerose múltipla durante o andar sem e com ultrapassagem de obstáculo 20
RESUMO 20
2.1 Introdução 21
2.2 Material e métodos 22
2.2.1 Participantes 22
2.2.2 Avaliação do andar 23
2.2.3 Análise de dados 24
2.2.4 Análise estatística 26
2.3 Resultados 27
2.3.1 Parâmetros espaço-temporais do andar 27
2.3.2 Atividade cortical 30
2.4 Discussão 33
2.5 Conclusão 37
2.6 Referências 38
CAPÍTULO 3 41
Estudo 2- BDNF é correlacionado com parâmetros de mobilidade e de atividade cortical em pessoas com esclerose múltipla 42
RESUMO 42
3.1 Introdução 43
3.2 Material e métodos 45
3.2.1 Desenho experimental 45
3.2.2 Participantes 46
3.2.3 Avaliação clínica 47
3.2.4 Avaliação do BDNF 47
3.2.5 Avaliação do TUG, do andar e do EEG 48

3.2.6 Análise estatística 49
3.3 Resultados 50
3.3.1 Concentração sérica de BDNF x Avaliações clínicas 53
3.3.2 Concentração sérica de BDNF x TUG e parâmetros do andar 54
3.3.3 Concentração sérica de BDNF x atividade cortical 55
3.3.4 Análise da curva ROC 58
3.4 Discussão 60
3.5 Conclusão 64
3.6 Referências 65
CAPÍTULO 4 69
Estudo 3- A vitamina D poderia melhorar os parâmetros da marcha e da atividade cortical em pessoas com Esclerose Múltipla? Um estudo transversal 70
RESUMO 70
4.1 Introdução 71
4.2 Métodos 73
4.2.1 Participantes 74
4.2.2 Análise de vitamina D 74
4.2.3 Avaliações do andar e do eletroencefalograma 75
4.2.4 Análise de dados 76
4.2.5 Análise estatística 77
4.3 Resultados 77
4.3.1 Correlação com a vitamina D 80
4.3.2 Parâmetros do andar 81
4.3.3 EEG 82
4.4 Discussão 84
4.5 Conclusão 88
4.6 Referências 89
CAPÍTULO 5 94
CONSIDERAÇÕES FINAIS 94
5.1 Considerações finais 95
5.2 Atividades desenvolvidas durante o período de mestrado 97
5.2.1 Pesquisa 97
5.2.2 Ensino 100
5.2.3 Extensão 101

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO GERAL

1. Introdução

A esclerose múltipla (EM) é uma doença neurodegenerativa que prejudica os padrões de movimento das pessoas acometidas por esta doença. Um dos principais sintomas que levam a uma diminuição da qualidade de vida nessa população são as alterações na locomoção (LAROCCA, 2011). Essas alterações são observadas logo nos estágios iniciais da doença (MARTIN et al., 2006) e acarretam em uma estratégia menos segura (e.g., aumento da variabilidade do andar) (SEBASTIÃO et al., 2018) e com maior esforço para realizar a tarefa do andar (CHUNG et al., 2016), aumentando a quantidade de quedas nessa população (MOFATEH et al., 2017). Contudo, os estudos com andar na EM só foram feitos em ambientes sem a presença de um obstáculo. Ultrapassar obstáculos é uma tarefa diária e que provoca um grande número de quedas, fazendo-se necessário saber o comportamento das pessoas com EM durante essa tarefa.

Os fatores neurofisiológicos que explicam os efeitos da EM na locomoção ainda são pouco conhecidos. Pessoas com EM apresentam uma alteração na concentração do Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro (*Brain Derivied Neurotrophic Factor*- BDNF) (FROTA et al., 2012), o qual é considerado um importante biomarcador e reparador dos danos causados pela EM (COMINI-FROTA et al., 2012; COMINI-FROTA et al., 2009). Além disso, pessoas com EM apresentam menor concentração de vitamina D no organismo (ASCHERIO et al., 2015), o que parece indicar que a deficiência dessa vitamina está relacionada com a progressão e surgimento da doença (LAURSEN et al., 2016). A suplementação de vitamina D parece provocar efeitos benéficos no controle da progressão das incapacidades das pessoas com EM e na atenuação da atrofia cerebral sofrida por essa população (FITZGERALD et al., 2015), diminuindo os efeitos negativos da doença no cérebro, e possivelmente, na atividade cortical. Ambos os fatores parecem ser um ponto positivo para a melhora do andar nesta população.

O custo do tratamento, somente em medicações (Terapia modificadora da doença-*Disease Modifying Therapy*-DMT), para o Sistema Único de Saúde (SUS) pode chegar a US$17.409,00 por ano (R$ 92.035,97 na cotação atual) por pessoa (DA SILVA et al., 2016). Os altos custos com o tratamento, via DMT, justificam por si só o interesse em buscar tratamentos alternativos e um prognóstico e diagnóstico precoce que visam à diminuição dos gastos do tratamento e na melhora da qualidade de vida dessa população.

Entender a influência de um obstáculo, da concentração de BDNF e do tratamento com vitamina D na atividade cortical de pessoas com EM durante o andar, é relevante para melhorar a qualidade de vida desta população. Avanços científicos relacionados a estes aspectos é de suma importância para a população com EM devido aos altos custos ocasionados por quedas durante a ultrapassagem de obstáculos e com medicações para o tratamento da doença. Desta forma, estudos que aprofundem o conhecimento em relação ao tratamento da EM e ao diagnóstico/prognóstico precoce são importantes para diminuir a progressão e melhorar o tratamento. Mediante a isso, o objetivo geral da presente dissertação de mestrado foi investigar o impacto de um obstáculo, da concentração de BDNF e do tratamento/suplementação com vitamina D nos parâmetros espaço-temporais e na atividade cortical durante o andar, em pessoas com EM.

1.1 Esclerose Múltipla

A EM é caracterizada por ser uma doença inflamatória, progressiva e neurodegenerativa que afeta o sistema nervoso central (SNC). Especificamente no Brasil, a EM afeta 8,6 pessoas a cada 100 mil habitantes (DA GAMA PEREIRA et al., 2015), sendo a doença neurodegenerativa que mais afeta adultos jovens no Brasil e em todo o mundo, atingindo quase 2,8 milhões de pessoas ("Atlas da EM 3ª edição", 2020). A EM se manifesta em dois subtipos: remitente-recorrente ou não progressiva (se manifesta em

surtos/recaídas, com recuperação parcial ou total das lesões) e; progressiva (podendo ser progressiva desde o seu começo ou evoluir da forma remitente-recorrente para a forma progressiva) (PRZYBEK et al., 2015). A taxa de recorrência da evolução da forma remitente-recorrente para a forma progressiva entre as pessoas que sofrem com a EM é em torno de 65%, sendo que 20% das pessoas com EM irão apresentar a forma progressiva desde o seu começo (COMPSTON; COLES, 2008). Entretanto, com a evolução do tratamento (DMT) da EM, a taxa de evolução da doença para a forma progressiva tem regredido, sendo que menos de 50% das pessoas com EM irão evoluir para esse subtipo em um período de 10 a 15 anos (TEDEHOLM et al., 2013). Embora a EM se apresente em apenas dois subtipos, a doença se caracteriza por ser heterogênea em relação a manifestação dos sinais e sintomas presentes em cada paciente.

A EM pode atingir qualquer região do SNC, podendo ocasionar numerosos sinais e sintomas. Os mais recorrentes, independente do local da desmielinização, são os déficits no controle postural, aumento da percepção da fadiga, problemas na coordenação dos movimentos, mudanças de humor e déficits no andar (CHALAH et al., 2015; COMPSTON; COLES, 2008; MOTL et al., 2006; PATEJDL et al., 2016; REMELIUS et al., 2012; VAN EMMERIK et al., 2010), sendo os déficits no andar um dos mais impactantes (negativamente) nas atividades diárias dessa população. Esses sinais e sintomas, principalmente os déficits no andar, influenciam nas atividades cotidianas e provocam uma diminuição na qualidade de vida (DA SILVA et al., 2016; LAROCCA, 2011), levando ao desligamento do trabalho, da família e da vida social (SÁ, 2008). Ainda, os déficits na marcha parecem provocar aumento no número de quedas e no medo de cair (KALRON et al., 2018; MOFATEH et al., 2017), ocasionando em uma diminuição na quantidade de atividade física realizada (KALRON et al., 2018). Com essa diminuição de atividade física realizada, outras morbidades além da EM podem aparecer. Apesar de

bem documentado na literatura os sinais e sintomas da EM, pouco se sabe como é a organização do SNC em pessoas com EM, principalmente em tarefas dinâmicas mais complexas como a locomoção com ultrapassagem de obstáculo.

1.2 Locomoção, Atividade Cortical e Esclerose múltipla

A tarefa de caminhar é uma tarefa complexa que exige a coordenação entre os sinais advindos do SNC e uma correta resposta motora. Pessoas com EM apresentam alterações nos padrões da marcha que são causadas pela desmielinização dos neurônios do SNC (CHUNG et al., 2016; REMELIUS et al., 2012), causando diminuição do comprimento e velocidade do passo, aumento do tempo e porcentagem do duplo suporte, maior largura do passo, maior tempo da fase de balanço (CHUNG et al., 2016; KALRON, 2015; REMELIUS et al., 2012) e variabilidade do andar (SEBASTIÃO et al., 2018). Essas adaptações acontecem em uma tentativa de aumentar a estabilidade durante o andar, principalmente com o aumento do tempo de duplo suporte (BENEDETTI et al., 1999; REMELIUS; HAMILL; VAN EMMERIK, 2014). Ainda, o aumento do tempo de duplo suporte é uma maneira de lidar com o aumento da variabilidade (SEBASTIÃO et al., 2018) e é indicado como um preditor de quedas em pessoas com EM (ALLALI et al., 2016). Além disso, pessoas com EM deslocam o seu centro de massa (COM) mais rapidamente aos limites de estabilidade quando comparados aos seus pares sadios (REMELIUS; VAN EMMERIK, 2015) e possuem diminuição dos limites de estabilidade dinâmica (PEEBLES et al., 2016), indicando menor tempo para se adaptar a alguma perturbação repentina do ambiente. Entretanto, apesar das alterações do andar em ambiente sem a presença de obstáculo ser bem conhecidos nessa população, de acordo com o nosso conhecimento, nenhum estudo buscou investigar como é o comportamento dessa população diante da presença de um obstáculo em seu caminho. Dessa forma, se

faz necessário buscar saber como as pessoas com EM lidam e planejam o seu andar e qual é o papel do córtex cerebral em uma situação desafiadora, quanto ultrapassar um obstáculo.

A desmielinização dos neurônios ocasionadas pela EM, pode prejudicar a conectividade entre o córtex e níveis subcorticais do SNC, afetando negativamente a locomoção. O uso do eletroencefalograma (EEG) pode auxiliar no entendimento da organização do SNC durante o andar em pessoas com EM. Estudos anteriores mostraram que pessoas com a forma remitente-recorrente da EM, apresentam menor ativação cortical e deficiência na comunicação entre hemisférios cerebrais em repouso quando comparados a pessoas saudáveis, podendo ser um indicativo dos danos causados pela EM (LENNE et al., 2013). Ainda, pessoas com EM apresentam diferenças na conectividade funcional em repouso nas frequências alfa, beta e teta quando comparados com indivíduos sadios na região temporo-frontal (BUYUKTURKOGLU et al., 2017). Alguns estudos recentes, utilizando a técnica de Espectroscopia funcional de infravermelho próximo (*Functional near-infrared spectroscopy*- fNIRS), mostraram que pessoas com EM possuem maior atividade do córtex pré-frontal e de áreas pré-motoras na tarefa do andar (CHAPARRO et al., 2017; HERNANDEZ et al., 2016; SALEH et al., 2018). Esses estudos mostram como é a ativação cortical diante da desmielinização dos neurônios, que é a característica principal da EM (GRIGORIADIS; VAN PESCH, 2015) e um dos motivos dos déficits da marcha (KALRON; ALLALI, 2017; REMELIUS et al., 2012), sendo sugerido que pessoas com EM reorganizam as respostas do SNC para compensar os déficits causados pela desmielinização (BRALEY; CHERVIN, 2010). Contundo, de acordo com a resposta motora, essa maior ativação cortical pode ser definida como: i) Maléfica: se o aumento da atividade do córtex não resultar em uma resposta motora similar ao que é considerado

saudável, ou; ii) Adaptativa: se o aumento da atividade cortical resultar em uma resposta motora similar o que é considerado saudável (PETERSON; FLING, 2018).

Apesar dos estudos com EEG, fNIRS e ressonância magnética funcional (fMRI) na EM demonstrarem alterações (e.g., maior recrutamento cortical) no padrão e intensidade da ativação cortical nessa população (BUYUKTURKOGLU et al., 2017; CHAPARRO et al., 2017; HERNANDEZ et al., 2016; LENNE et al., 2013; ROCCA et al., 2004; SALEH et al., 2018; VECCHIO et al., 2017), não foi encontrado nenhum estudo do nosso conhecimento que buscou investigar se a presença de um obstáculo ou a concentração de BDNF e a vitamina D poderiam estar influenciando de alguma forma os parâmetros do andar e da atividade cortical nessa população, o que poderia ajudar em uma melhor direção de protocolos de diagnóstico e tratamento para essa população.

1.3 Biomarcadores e Esclerose Múltipla

A EM é originada nas células dendríticas, que cruzam a barreira hematoencefálica e causam a diferenciação das células T de memória em linfócitos T-*helper* (Th1 e Th17) pró-inflamatórios (GRIGORIADIS; VAN PESCH, 2015). Os linfócitos Th1 e Th17 são responsáveis por produzir citocinas pró inflamatórias (FERNANDES DE ABREU; EYLES; FÉRON, 2009; MOUZAKI et al., 2015), as quais são responsáveis por causar a desmielinização dos axônios dos neurônios (THOMPSON et al., 2018), prejudicando a propagação da informação (eferente e aferente) no SNC. Essa maior concentração de citocinas pode afetar também a circulação do BDNF (SORENSON, 2013).

O BDNF é sintetizado a partir do reticulo endoplasmático, possuindo duas isoformas: pro-BDNF e BDNF maduro. O pro-BDNF é produzido no reticulo endoplasmático, transportado para o complexo de Golgi e para o *trans-Golgi network* (TGN). No TGN e nas vesículas secretórias, a conversão distintas de proteínas clivam o

terminal amino do pro-BDNF para a produção do BDNF maduro (BDNFm) (THOMAS; DAVIES, 2005), sendo secretado por fim no espaço extracelular. Apesar do BDNFm ser secretado a partir do pro-BDNF, ambos possuem funções distintas. O BDNFm tem um efeito positivo para o SNC como sobrevivência neuronal, diferenciação de neurônios e neuroplasticidade, enquanto o pro-BDNF induz apoptose, retração de crescimentos dos cones, redução da densidades dos dendritos, além de facilitar a depressão a longo prazo (LU; PANG; WOO, 2005). Entretanto, na presente dissertação não diferenciaremos entre o pro-BDNF e o BDNFm.

O BDNF de maneira geral é uma importante proteína que atua na manutenção, desenvolvimento e reparação do SNC (WENS et al., 2016), além de pertencer a uma classe de proteínas neurotróficas presentes no SNC de mamíferos e que está relacionado ao desenvolvimento neuronal. Ainda, o BDNF pode induzir neuroplasticidade ou mecanismos de sobrevivência para as células do SNC (NOBLE et al., 2011) e aumentar a concentração de oligodendrócitos (DU et al., 2003) responsáveis pela produção da bainha de mielina.

Pessoas com doenças neurológicas (e.g., EM e Doença de Parkinson), possuem menor concentração de BDNF quando comparado aos seus pares neurologicamente saudáveis (AL-TEMAIMI et al., 2017; SORENSON, 2013; FROTA et al., 2012;). Na EM, pessoas com as formas progressivas da doença apresentam menor concentração de BDNF quando comparados aos seus pares com a forma remitente-recorrente (ISLAS-HERNANDEZ et al., 2018; NAEGELIN et al., 2020). Em pessoas com EM com a forma remitente-recorrente, após uma recorrência dos sintomas (surtos), as concentrações séricas de BDNF aumentam com o objetivo de reparar os danos causados pela desmielinização no SNC (FROTA et al., 2009). Esse fato demonstra o importante papel

que o BDNF possui no processo de remielinização dos neurônios, principalmente relacionados a EM.

A concentração sérica de BDNF sanguíneo pode estar relacionado com os parâmetros do andar e da atividade cortical. Frota e colaboradores (2012) encontraram uma relação inversa entre o número de lesões (encontradas na ressonância magnética) e a concentração de BDNF. Esta relação parece indicar que quanto menor é a concentração de BDNF no sangue, maior é o número de lesões no SNC. Com isso, uma maior concentração de BDNF poderia estar diminuindo o número de lesões no SNC e consequentemente melhorando os parâmetros do andar e da atividade cortical. Entretanto, não há dados na literatura que mostrem se há uma relação do andar com a concentração de BDNF. Identificar possíveis relações entre esses dois parâmetros poderia auxiliar na identificação da evolução ou diagnóstico da doença.

1.4 Efeito do tratamento com vitamina D na Esclerose múltipla

O início da EM é imprevisível e sem causa definida. Entretanto, dois mecanismos atuam de forma conjunta para o início da EM: fatores genéticos (gene HLA DRB1*15:01), com uma recorrência de taxa familiar de 20% (THOMPSON et al., 2018); e fatores ambientais, como tabagismo, alcoolismo, infecção viral, estresse e deficiência de vitamina D (MARRIE, 2004; THOMPSON et al., 2018). Entre os fatores ambientais, a deficiência da vitamina D parece ter um importante papel no início e progressão da EM. A deficiência da concentração sanguínea de vitamina D vem sendo apontada como um grande fator de risco para desenvolver a EM (MARRIE, 2004), sendo a exposição ao sol (raios ultravioletas B) e dieta como fontes primária da produção de vitamina D (ASCHERIO; MUNGER; SIMON, 2010). Entretanto, a pigmentação da pele (melanina), protetor solar, idade e fatores ambientais diminuem a produção de vitamina D. Por

exemplo, países com pouca incidência de luz solar (afastados da linha do Equador) apresentam maior prevalência de pessoas com EM quando comparados a países com maior incidência de luz solar (mais próximos a linha do Equador) (CRISTIANO; PATRUCCO; ROJAS, 2008; GIOVANNONI; EBERS, 2007). Ambas as formas de vitamina D, colecalciferol e ergocalciferol, obtidas da exposição ao sol e da dieta, respectivamente, são formas inativas da vitamina D e são enzimaticamente convertidas para a 25-hidroxivitamina D (25(OH)D). A 25(OH)D então sofre uma segunda hidroxilação, principalmente nos rins, para a forma ativa da vitamina D (1,25-dihidroxivitamina D) (ASCHERIO; MUNGER; SIMON, 2010). Como a 25(OH)D possui uma meia-vida de 20-60 dias, diferentemente da 1,25-dihidroxivitamina D que possui poucas horas de meia vida, ela é mensurada nos estudos.

A vitamina D tem importante papel na regulação e modulação do sistema imune (FERNANDES DE ABREU; EYLES; FÉRON, 2009; MORA; IWATA; VON ANDRIAN, 2008; SINTZEL; RAMETTA; REDER, 2018). No sistema imune, essa vitamina atua diminuindo a atividade das células CD4+ (linfócitos T- Th1, Th2, Th17), responsáveis pela produção de interleucinas (IL-2, IL-4, IL-10), e interferon gama (IFN-γ) e citocinas pró inflamatórias (fator de necrose tumoral alfa – TNF-α) (FERNANDES DE ABREU; EYLES; FÉRON, 2009), responsáveis por processos inflamatórios decorrentes de respostas a substâncias nocivas externas ou de doenças autoimunes (e.g. EM). Esse importante papel da vitamina D, poderia estar atuando na desaceleração da progressão da EM e até mesmo evitar seu surgimento. Entretanto, não há um consenso sobre a introdução, assim como a dose correta da vitamina D associada ao tratamento da EM.

O tratamento da EM é realizado com a introdução de imunossupressores ou imunomoduladores para tentar frear a progressão da doença e são chamadas de *Disease*

Modifying therapy (Terapias modificadoras da doença- DMT). As DMT's tem por objetivo impedir que células do sistema imune ultrapassem a barreira hematoencefálica e ataquem a bainha de mielina ou atuam suprimindo a atividade do sistema imune (OH; O'CONNOR, 2015). Entretanto, nenhuma medicação tem por finalidade melhorar ou atuar como mecanismos de reparação do SNC (BUCK; HEMMER, 2011; VĂCĂRAŞ; MAJOR; BUZOIANU, 2017). Quando administrados suplementações de vitamina D (2-4 mil unidades internacionais -Ui- diariamente) concomitante ao tratamento com a medicação natalizumabe (Tysabri®), há uma redução do número de recorrência dos sintomas (LAURSEN et al., 2016); ou no número de lesões no SNC, quando administrado vitamina D com fingolimoide, acetato de glatiramer ou interferon (α e γ) (ROTSTEIN et al., 2015). São sugeridas que altas concentrações sanguíneas de vitamina D exercem efeito protetivo durante o curso da EM (LAURSEN et al., 2016; ROTSTEIN et al., 2015; SIMPSON et al., 2010), pois essa vitamina atua como imunomodulador. Além disso, a vitamina D tem um importante papel na remielinização dos neurônios (DE LA FUENTE et al., 2015), na diminuição do volume das lesões e da taxa anual de atrofia cerebral nessa população (ASCHERIO et al., 2015). Embora há diversas evidências sobre o efeito da vitamina D na EM, não há um consenso sobre a dose adequada a ser recomendada para a pessoa com EM, tempo de tratamento com a vitamina D ou inclusão da mesma no Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas da Esclerose Múltipla. Sendo assim, considerando as evidências aqui expostas, a vitamina D poderia estar atuando na atividade cortical indiretamente, onde devido aos processos regenerativos causados pela vitamina no SNC, a organização e ativação cortical dessa população poderia estar voltando aos padrões considerados saudáveis, refletindo também em um melhor padrão do andar.

1.5 Objetivos e delineamento da dissertação

O objetivo geral dessa dissertação foi investigar o impacto de um obstáculo, da concentração de BDNF e da concentração e tratamento com vitamina D na atividade cortical e nos parâmetros espaço-temporais do andar em pessoas com EM. Os objetivos específicos desta dissertação foram: i) Investigar o comportamento do andar e da atividade cortical de pessoas com EM em condições do andar sem e com a presença de um obstáculo em seu caminho, ii) relacionar os parâmetros espaço-temporais e da atividade cortical do andar, com as concentrações sanguíneas de BDNF em pessoas com EM; iii) investigar se a concentração da vitamina D possui alguma associação com os parâmetros espaço-temporais do andar e da atividade cortical e investigar o efeito da suplementação/tratamento com vitamina D nesses parâmetros em pessoas com EM. Para responder aos objetivos da presente dissertação, três estudos foram realizados sendo os mesmos coletados na mesma visita dos participantes ao laboratório. No primeiro estudo, 30 participantes (15 pessoas com x 15 pessoas sem EM) andaram em uma passarela com e sem a presença de um obstáculo de 15 cm de altura, 5 cm de profundidade e 30 cm de comprimento. Comparações entre grupos e condições foram realizadas para identificar como é o comportamento de pessoas com EM diante de um obstáculo. No segundo estudo foram analisados a concentração sérica de BDNF na corrente sanguínea e os parâmetros espaço-temporais e da atividade cortical durante o andar em pessoas com EM. Um total de 40 pessoas (22 pessoas com EM e 18 pessoas saudáveis) realizaram 10 tentativas do andar sem a presença de obstáculo. Correlações foram realizadas com o objetivo de identificar as possíveis interações entre os níveis séricos de BDNF e os parâmetros do andar e da atividade cortical. No terceiro estudo, pessoas com EM que suplementavam vitamina D (10 pacientes) e pessoas com EM sem suplementação de vitamina D (10 pacientes) realizaram o andar na mesma condição do estudo dois, sendo realizado

correlações entre a concentração de vitamina D e também comparações entre os grupos (com e sem suplementação de vitamina D e de um grupo controle) para investigar o impacto da vitamina D nos parâmetros espaço-temporais e na atividade cortical durante o andar.

1.6 Referências

AL-TEMAIMI, R. et al. Remyelination modulators in multiple sclerosis patients. **Experimental and Molecular Pathology**, v. 103, n. 3, p. 237–241, 2017.

ALLALI, G. et al. Gait variability in multiple sclerosis: a better falls predictor than EDSS in patients with low disability. **Journal of Neural Transmission**, v. 123, n. 4, p. 447–450, 2016.

ASCHERIO, A. et al. Vitamin D as an early predictor of multiple sclerosis activity and progression. **JAMA**, v. 71, n. 3, p. 306–314, 2015.

ASCHERIO, A.; MUNGER, K. L.; SIMON, K. C. Vitamin D and multiple sclerosis. **The Lancet Neurology**, v. 9, n. 6, p. 599–612, 2010.

Atlas da EM 3ª edição. n. September, p. 1–36, 2020.

BENEDETTI, M. G. et al. Gait abnormalities in minimally impaired multiple sclerosis patients. **Multiple Sclerosis Journal**, v. 5, n. 5, p. 363–368, 1999.

BRALEY, T. J.; CHERVIN, R. D. Fatigue in multiple sclerosis: mechanisms, evaluation, and treatment. **Sleep**, v. 33, n. 8, p. 1061–7, 2010.

BUCK, D.; HEMMER, B. Treatment of multiple sclerosis: Current concepts and future perspectives. **Journal of Neurology**, v. 258, n. 10, p. 1747–1762, 2011.

BUYUKTURKOGLU, K. et al. Simple index of functional connectivity at rest in Multiple Sclerosis fatigue. **Clinical Neurophysiology**, v. 128, n. 5, p. 807–813, 2017.

CHALAH, M. A. et al. Fatigue in Multiple Sclerosis: Neural Correlates and the Role of Non-Invasive Brain Stimulation. **Frontiers in Cellular Neuroscience**, v. 9, n. November, p. 1–15, 2015.

CHAPARRO, G. et al. Frontal brain activation changes due to dual-tasking under partial body weight support conditions in older adults with multiple sclerosis. **Journal of NeuroEngineering and Rehabilitation**, v. 14, n. 1, p. 1–10, 2017.

CHUNG, L. H. et al. Energy cost of walking, symptomatic fatigue and perceived exertion in persons with multiple sclerosis. **Gait & Posture**, v. 48, p. 215–219, 2016.

COMPSTON, A.; COLES, A. Multiple sclerosis. **The Lancet**, v. 372, n. 9648, p. 1502–1517, 2008.

CRISTIANO, E.; PATRUCCO, L.; ROJAS, J. I. A systematic review of the epidemiology of multiple sclerosis in South America. **European Journal of Neurology**, v. 15, n. 12, p. 1273–1278, 2008.

DA GAMA PEREIRA, A. B. C. N. et al. Prevalence of multiple sclerosis in Brazil: A systematic review. **Multiple Sclerosis and Related Disorders**, v. 4, n. 6, p. 572–579, 2015.

DA SILVA, N. L. et al. Cost analysis of multiple sclerosis in Brazil: A cross-sectional multicenter study. **BMC Health Services Research**, v. 16, n. 1, p. 1–12, 2016.

DE LA FUENTE, A. G. et al. Vitamin D receptor–retinoid X receptor heterodimer signaling regulates oligodendrocyte progenitor cell differentiation. **The Journal of Cell Biology**, v. 211, n. 5, p. 975–985, 2015.

DU, Y. et al. Regionally specific effects of BDNF on oligodendrocytes. **Developmental Neuroscience**, v. 25, n. 2–4, p. 116–126, 2003.

FERNANDES DE ABREU, D. A.; EYLES, D.; FÉRON, F. Vitamin D, a neuro-immunomodulator: Implications for neurodegenerative and autoimmune diseases. **Psychoneuroendocrinology**, v. 34, n. SUPPL. 1, 2009.

FITZGERALD, K. C. et al. Association of Vitamin D Levels With Multiple Sclerosis Activity and Progression in Patients Receiving Interferon Beta-1b. **JAMA Neurology**, v. 72, n. 12, p. 1458, 2015.

FROTA, E. R. C. et al. Increased plasma levels of brain derived neurotrophic factor (BDNF) after multiple sclerosis relapse. **Neuroscience Letters**, v. 460, n. 2, p. 130–132, 2009.

FROTA, E. R. C. et al. Serum levels of brain-derived neurotrophic factor correlate with

the number of T2 MRI lesions in multiple sclerosis. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 45, n. 1, p. 68–71, 2012.

GIOVANNONI, G.; EBERS, G. Multiple sclerosis: The environment and causation. **Current Opinion in Neurology**, v. 20, n. 3, p. 261–268, 2007.

GRIGORIADIS, N.; VAN PESCH, V. A basic overview of multiple sclerosis immunopathology. **European Journal of Neurology**, v. 22, p. 3–13, 2015.

HERNANDEZ, M. E. et al. Brain activation changes during locomotion in middle-aged to older adults with multiple sclerosis. **Journal of the Neurological Sciences**, v. 370, p. 277–283, nov. 2016.

ISLAS-HERNANDEZ, A. et al. BDNF and Tau as biomarkers of severity in multiple sclerosis. **Biomarkers in Medicine**, v. 12, n. 7, p. 717–726, 2018.

KALRON, A. Association between perceived fatigue and gait parameters measured by an instrumented treadmill in people with multiple sclerosis: a cross-sectional study. **Journal of NeuroEngineering and Rehabilitation**, v. 12, n. 1, p. 34, 2015.

KALRON, A. et al. Fear of falling, not falls, impacts leisure-time physical activity in people with multiple sclerosis. **Gait and Posture**, v. 65, n. January, p. 33–38, 2018.

KALRON, A.; ALLALI, G. Gait and cognitive impairments in multiple sclerosis: the specific contribution of falls and fear of falling. **Journal of Neural Transmission**, p. 1–10, 2017.

LAROCCA, N. G. Impact of Walking Impairment in Multiple Sclerosis. **The Patient: Patient-Centered Outcomes Research**, v. 4, n. 3, p. 189–201, 2011.

LAURSEN, J. H. et al. Vitamin D supplementation reduces relapse rate in relapsing-remitting multiple sclerosis patients treated with natalizumab. **Multiple Sclerosis and Related Disorders**, v. 10, n. September, p. 169–173, 2016.

LENNE, B. et al. Decrease of mutual information in brain electrical activity of patients with relapsing-remitting multiple sclerosis. **Behavioural neurology**, v. 27, n. 2, p. 201–12, 2013.

LU, B.; PANG, P. T.; WOO, N. H. The yin and yang of neurotrophin action. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 6, n. 8, p. 603–614, 2005.

MARRIE, R. A. Reviews Environmental risk factors in multiple sclerosis aetiology. **The**

Lancet Neurology, v. 3, n. December, p. 709–718, 2004.

MARTIN, C. L. et al. Gait and balance impairment in early multiple sclerosis in the absence of clinical disability. **Multiple Sclerosis**, v. 12, n. 5, p. 620–628, 2006.

MOFATEH, R. et al. Effects of cognitive versus motor dual-task on spatiotemporal gait parameters in healthy controls and multiple sclerosis patients with and without fall history. **Multiple Sclerosis and Related Disorders**, v. 18, n. August, p. 8–14, 2017.

MORA, J. R.; IWATA, M.; VON ANDRIAN, U. H. Vitamin effects on the immune system: vitamins A and D take centre stage. **Nature Reviews Immunology**, v. 8, n. 9, p. 685–698, set. 2008.

MOTL, R. W. et al. Symptoms, self-efficacy, and physical activity among individuals with multiple sclerosis. **Research in nursing & health**, v. 29, n. 6, p. 597–606, 2006.

MOUZAKI, A. et al. Immune parameters that distinguish multiple sclerosis patients from patients with other neurological disorders at presentation. **PLoS ONE**, v. 10, n. 8, p. 1–20, 2015.

NAEGELIN, Y. et al. Levels of brain-derived neurotrophic factor in patients with multiple sclerosis. **Annals of Clinical and Translational Neurology**, v. 7, n. 11, p. 2251–2261, 2020.

NOBLE, E. E. et al. The lighter side of BDNF. **AJP: Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 300, n. 5, p. R1053–R1069, 2011.

OH, J.; O'CONNOR, P. W. Established disease-modifying treatments in relapsing-remitting multiple sclerosis. **Current Opinion in Neurology**, v. 28, n. 3, p. 220–229, 2015.

PATEJDL, R. et al. Multiple sclerosis and fatigue: A review on the contribution of inflammation and immune-mediated neurodegeneration. **Autoimmunity Reviews**, v. 15, n. 3, p. 210–220, 2016.

PEEBLES, A. T. et al. Dynamic margin of stability during gait is altered in persons with multiple sclerosis. **Journal of Biomechanics**, v. 49, n. 16, p. 3949–3955, dez. 2016.

PETERSON, D. S.; FLING, B. W. How changes in brain activity and connectivity are associated with motor performance in people with MS. **NeuroImage: Clinical**, v. 17, n. September 2017, p. 153–162, 2018.

PRZYBEK, J. et al. Evolution of diagnostic criteria for multiple sclerosis. **Neurologia i Neurochirurgia Polska**, v. 49, n. 5, p. 313–321, 2015.

REMELIUS, J. G. et al. Gait impairments in persons with multiple sclerosis across preferred and fixed walking speeds. **Archives of Physical Medicine and Rehabilitation**, v. 93, n. 9, p. 1637–1642, 2012.

REMELIUS, J. G.; HAMILL, J.; VAN EMMERIK, R. E. A. Prospective dynamic balance control during the swing phase of walking: Stability boundaries and time-to-contact analysis. **Human Movement Science**, v. 36, p. 227–245, 2014.

REMELIUS, J. G.; VAN EMMERIK, R. E. A. Time-to-contact analysis of gait stability in the swing phase of walking in people with multiple sclerosis. **Motor Control**, v. 19, n. 4, p. 289–311, 2015.

ROCCA, M. A. et al. Pyramidal tract lesions and movement-associated cortical recruitment in patients with MS. **NeuroImage**, v. 23, n. 1, p. 141–147, 2004.

ROTSTEIN, D. L. et al. Effect of Vitamin D on MS activity by disease-modifying therapy class. **Neurology**, v. 2, n. 6, 2015.

SÁ, M. J. Psychological aspects of multiple sclerosis. **Clinical Neurology and Neurosurgery**, v. 110, n. 9, p. 868–877, 2008.

SALEH, S. et al. The role of premotor areas in dual tasking in healthy controls and persons with multiple sclerosis: An fNIRS imaging study. **Frontiers in Behavioral Neuroscience**, v. 12, n. December, p. 1–11, 2018.

SEBASTIÃO, E. et al. Gait Variability and Energy Cost of Over-Ground Walking in Persons with Multiple Sclerosis. **American Journal of Physical Medicine & Rehabilitation**, p. 1, 2018.

SIMPSON, S. et al. Higher 25-hydroxyvitamin D is associated with lower relapse risk in multiple sclerosis. **Annals of Neurology**, v. 68, n. 2, p. 193–203, 2010.

SINTZEL, M. B.; RAMETTA, M.; REDER, A. T. Vitamin D and Multiple Sclerosis: A Comprehensive Review. **Neurology and Therapy**, v. 7, n. 1, p. 59–85, 2018.

SORENSON, M. Brain Derived Neurotrophic Factor is Decreased in Chronic Fatigue Syndrome and Multiple Sclerosis. **Journal of Neurology & Neurophysiology**, v. s12, n. 01, p. 8–13, 2013.

TEDEHOLM, H. et al. Time to secondary progression in patients with multiple sclerosis who were treated with first generation immunomodulating drugs. **Multiple Sclerosis Journal**, v. 19, n. 6, p. 765–774, 2013.

THOMAS, K.; DAVIES, A. Neurotrophins: A ticket to ride for BDNF. **Current Biology**, v. 15, n. 7, p. 262–264, 2005.

THOMPSON, A. J. et al. Multiple sclerosis. **The Lancet**, v. 391, n. 10130, p. 1622–1636, 2018.

VĂCĂRAŞ, V.; MAJOR, Z. Z.; BUZOIANU, A. D. Brain-derived neurotrophic factor levels under chronic natalizumab treatment in multiple sclerosis. A preliminary report. **Neurologia i Neurochirurgia Polska**, v. 51, n. 3, p. 221–226, 2017.

VAN EMMERIK, R. E. A. et al. Postural control in women with multiple sclerosis: Effects of task, vision and symptomatic fatigue. **Gait and Posture**, v. 32, n. 4, p. 608–614, 2010.

VECCHIO, F. et al. Electroencephalography-Derived Sensory and Motor Network Topology in Multiple Sclerosis Fatigue. 2017.

WENS, I. et al. Brain derived neurotrophic factor in multiple sclerosis: Effect of 24 weeks endurance and resistance training. **European Journal of Neurology**, v. 23, n. 6, p. 1028–1035, 2016.

CAPÍTULO 2

CARACTERÍSTICAS DA ATIVIDADE CORTICAL E DOS PARÂMETROS DO ANDAR EM PESSOAS COM ESCLEROSE MÚLTIPLA DURANTE O ANDAR SEM E COM ULTRAPASSAGEM DE OBSTÁCULO

Felipe Balistieri Santinelli, Emerson Sebastião, Marina Hiromi Kuroda, Vinicius Christianinni Moreno, Julia Pilon, Luiz Henrique Palucci Vieira, Fabio Augusto Barbieri

SUBMETIDO PARA A GAIT AND POSTURE (EM REVISÃO)

Estudo 1- Características da atividade cortical e dos parâmetros do andar em pessoas com esclerose múltipla durante o andar sem e com ultrapassagem de obstáculo

RESUMO

Introdução: Pessoas com Esclerose Múltipla (pcEM) apresentam maior atividade cortical e déficits nos parâmetros espaço temporais do andar enquanto caminham. Entretanto, nenhum estudo abordou ambos os aspectos durante o andar com ultrapassagem de obstáculo. **Objetivo:** Investigar a atividade cortical e os parâmetros espaço-temporais do andar em pcEM durante o andar em duas condições diferentes (i.e., andar sem e com ultrapassagem de obstáculo). **Método:** Quinze pcEM e 15 controles saudáveis foram recrutados. Os participantes realizaram 10 tentativas em cada condição do andar, enquanto usavam uma touca de eletroencefalograma (EEG) com 64 eletrodos ativos com uma frequência de coleta em 1024 Hz. Os dados cinemáticos foram obtidos através de um sistema com 10 câmeras Vicon® com frequência de coleta em 200 Hz. O dado de EEG foi analisado em quatro diferentes áreas corticais (frontal, motora, parietal e occipital) e em 5 bandas de frequências (delta, teta, alfa, beta e gama) obtidos através da *power spectral density*. Além disso, parâmetros espaço-temporais do andar (e.g., comprimento e velocidade do passo) foram analisados. Uma ANOVA de duas vias (grupo x condição do andar) e uma MANOVA (grupo x condição do andar) foram utilizados para comparação dos parâmetros do andar e do EEG, respectivamente. Ainda, uma ANOVA de uma via foi usada para comparação de grupo na fase de ultrapassagem do obstáculo. **Resultados:** PcEM apresentaram menor comprimento e velocidade do passo e maior atividade cortical nas regiões frontal, motora e parietal comparadas ao grupo controle. Além disso, as pessoas com EM apresentaram maior ativação do córtex (frontal e parietal) e menor comprimento e velocidade do passo quando comparado a condição livre com a condição com obstáculo. **Conclusão:** Pessoas com EM demandam maiores recursos corticais para realizarem a tarefa do andar, intensificado quando eles precisam lidar com um obstáculo em seu caminho.

2.1 Introdução

Pessoas com Esclerose Múltipla (pcEM) frequentemente apresentam maior atividade cortical no córtex pré-frontal (CPF) (HERNANDEZ et al., 2016) e áreas pré motoras (SALEH et al., 2018), durante o andar com uma tarefa desafiadora quando comparados com sujeitos neurologicamente saudáveis. Isso pode ser pelo fato da Esclerose Múltipla (EM), uma doença neurológica, que afeta o sistema nervoso central (SNC), afetar os neurônios e causar incapacidades motoras. Essa maior atividade cortical combinada com os ajustes espaço-temporais, tal como redução no comprimento e na velocidade do passo (KALRON, 2015; KALRON; GIVON, 2016), sugerem uma perda da automaticidade do andar. Entretanto, esse ajustes do andar parecem não produzir efeitos positivos, pois pcEM continuam reportando altos índices de quedas (GUNN et al., 2014). Além disso, ultrapassar um obstáculo requer equilíbrio (PATLA, 2003), processamento cognitivo (HOLTZER et al., 2006), além de ser prejudicado em outras doenças neurológicas (e.g., Doenças de Parkinson) (PENEDO et al., 2018). Essa maior demanda de equilíbrio e de cognição necessária para ultrapassar um obstáculo, poderia também demandar maior atividade cortical e piorar os parâmetros do andar em PcEM. Por exemplo, pessoas idosas apresentam maior atividade cortical na região CPF durante a ultrapassagem de obstáculo (MIRELMAN et al., 2017). Portanto, os efeitos negativos da EM no andar e na atividade cortical poderiam estar exacerbados durante um andar com uma maior complexidade, uma vez que os estudos com atividade cortical e andar foram examinados apenas durante o andar livre ou com tarefa dupla (HERNANDEZ et al., 2016; SALEH et al., 2018).

Compreender a atividade cortical do cérebro durante o andar com ultrapassagem de obstáculo é de grande importância, pois as incapacidades do andar é um sintoma prevalente da doença (CHAPARRO et al., 2017; COMBER; GALVIN; COOTE, 2016; GIANFRANCESCO et al., 2011; KALRON, 2015; KALRON; ALLALI, 2017; KALRON; GIVON, 2016;

MARTIN et al., 2006) e essas investigações “imitam” cenários/situações comuns enfrentados por pcEM com uma melhor abordagem ecológica. Isso aumentaria nosso conhecimento sobre os mecanismos que ocasionam as incapacidades do andar nessa população, e como pcEM lidam com perturbações durante o andar. Dessa forma, o objetivo desse estudo foi investigar a atividade cortical (áreas corticais frontal, motora, parietal e occipital) e a marcha durante o andar livre e durante a ultrapassagem de obstáculo em PcEM. Nós hipotetizamos que pcEM irão apresentar deficiências do andar (e.g., diminuição do comprimento e velocidade do passo) em ambas as condições do andar, assim como adotar uma estratégia mais arriscada para ultrapassar o obstáculo, como menor *toe-clearance*, e aumento da atividade cortical (e.g., área frontal) comparado ao grupo controle.

2.2 Material e métodos

2.2.1 Participantes

Quinze pcEM (11M/4H) diagnosticados com a forma remitente-recorrente (critério de McDonald) (MCDONALD et al., 2001; PRZYBEK et al., 2015) e 15 (11M/4H) controles saudáveis (Grupo Controle-GC) foram recrutados (Tabela 1). As pessoas com EM foram recrutadas a partir de contato com médicos neurologistas da região de Bauru-SP e a partir do banco de dados do Laboratório de Pesquisa em Movimento Humano (MOVI-LAB). O histórico médico (tempo de diagnóstico, tempo da última recaída e medicação atual) das pcEM foi obtido. Participantes de ambos os grupos sem presença de declínio cognitivo (≥ ponto de corte em 24 no Mini Exame do Estado Mental- MEEM) (FOLSTEIN; FOLSTEIN; MCHUGH, 1975) foram incluídos no estudo. Além disso, para ser incluído no presente estudo, as PcEM não deveriam reportar exacerbação dos sintomas nos últimos três meses, não ingerir o medicamento Fampridina e apresentar uma pontuação menor que 4,5 na Escala Expandida de Incapacidade Funcional (*Expanded Disability Status Scale*- EDSS) (KURTZKE, 1983).

Participantes de ambos os grupos que demonstrassem baixa acuidade visual ou outra doença neurológica, ou doença ortopédica, cerebelar, oculomotora, cardíaca ou respiratória que poderiam impactar no protocolo experimental foram excluídas. Uma anamnese foi realizada para avaliar esses aspectos. O medo de quedas foi obtido através do *Falls Efficacy Scale-International* (FES-I) (YARDLEY et al., 2005). O comitê de ética local da Universidade aprovou o protocolo experimental (CAAE#99191318.0.0000.5398) e os participantes assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido antes da coleta de dados.

2.2.2 Avaliação do andar

Todas as avaliações do andar foram realizadas no período da manhã. Os participantes foram instruídos a evitarem realizar qualquer tipo de atividade física extenuante nas 48 horas antecedentes ao dia da avaliação

Para a avaliação do andar, os participantes foram instruídos a andarem adotando uma velocidade auto selecionada, em uma passarela de 8,5 m de comprimento x 1,5 m de largura. Os participantes realizaram um total de 10 tentativas em cada condição: andar sem e com a ultrapassagem um obstáculo. As tentativas foram randomizadas com um software específico (https://site112.com/ordenar-lista-aleatoriamente). Para a condição com ultrapassagem de obstáculo, os participantes foram instruídos a ultrapassarem o obstáculo sem tocá-lo. Nenhuma instrução foi dada sobre com qual membro inferior os participantes deveriam realizar a ultrapassagem. O obstáculo era constituído de espuma (15 cm de altura x 2 cm de profundidade x 60 cm de comprimento) e correspondente a altura do meio-fio presente nas ruas brasileiras (ABNT- NBRISO16039).

A aquisição dos dados cinemáticos foi realizada utilizando dez câmeras infravermelha (Vicon Motion System®) com uma taxa de amostragem em 200 Hz. Trinta e nove marcadores

reflexivos foram posicionados nos participantes seguindo o modelo *Plug-in-Gait Full Body* (Vicon®) e dois marcadores foram posicionados no topo do obstáculo.

A atividade cortical foi registrada com o participante sentado em uma cadeira (Baseline-60s) e durante as tentativas do andar. A coleta da eletroencefalografia (EEG) seguiu as recomendações da empresa fabricante do EEG (eegosportstm, ANT Neuro, Enschede, *Netherlands*), com uma frequência de amostragem em 1024 Hz. Uma touca (WaveGuard^{TM}) com 64 eletrodos ativos foi utilizada (Sistema internacional de posicionamento de eletrodos 10-10) para a coleta de dados do EEG, que foi obtida através do software EEGOTM (ANT Neuro, Enschede, *Netherlands*). Uma composição salina foi utilizada para garantir que a impedância dos eletrodos permanecesse abaixo de 10 Ω.

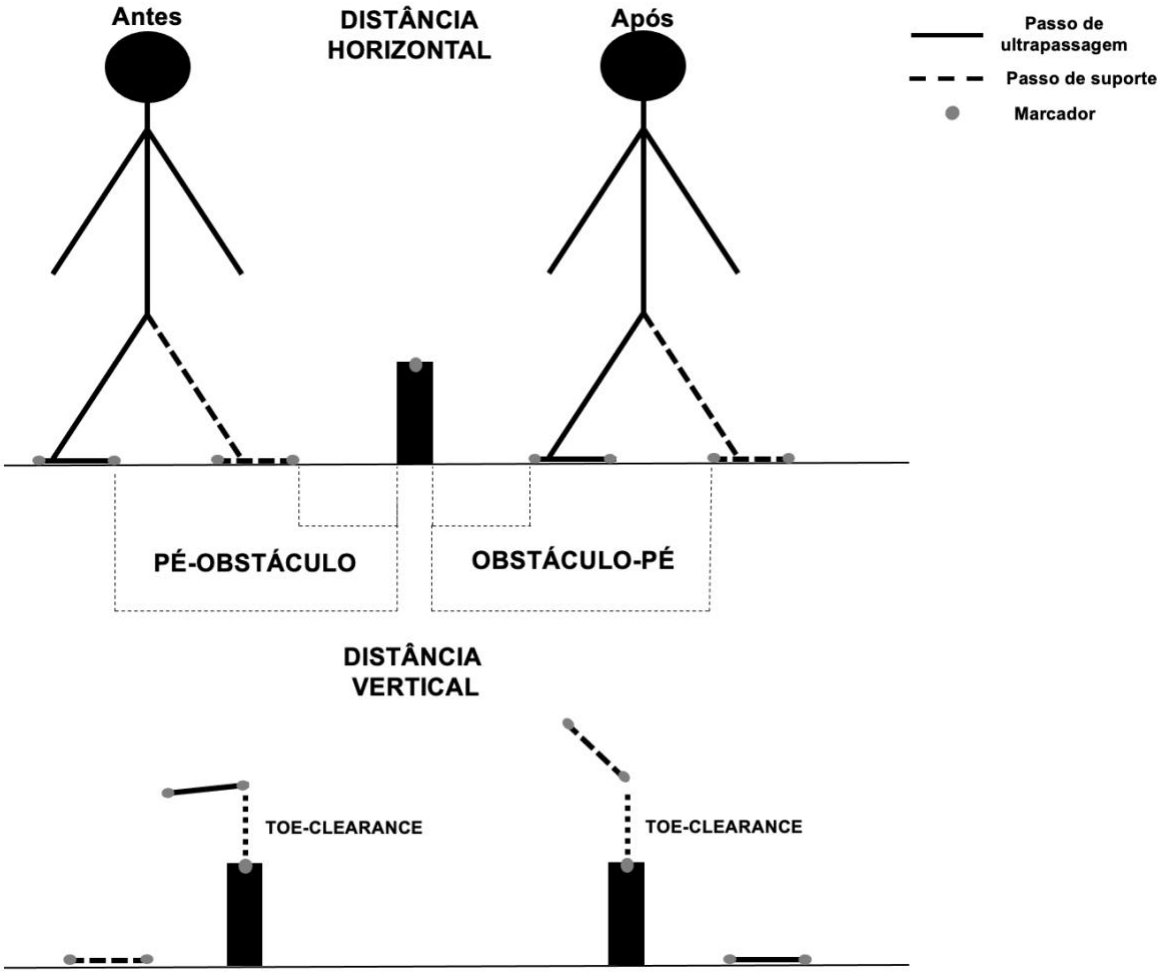
2.2.3 Análise de dados

O software MATLAB® (*Mathworks*, Natick-MA) foi utilizada para o processamento dos dados do andar e do EEG.

Os marcadores localizados no segundo metatarso e no calcâneo de ambos os pés, foram utilizados para o cálculo dos parâmetros espaço-temporais do andar. Os dados do andar foram filtrados através de um filtro Butterworth, passa baixa de 5ª ordem (zero lag), com ponto de corte em 6 Hz. A média de cinco passos, realizados centralmente na passarela, foram analisados na condição de andar sem ultrapassagem de obstáculo. Na condição de ultrapassagem de obstáculo, a fase de aproximação (FA- média dos três passos antes da ultrapassagem) e a fase de ultrapassagem (passo de ultrapassagem e de suporte, separadamente) foram analisados. Os seguintes parâmetros do andar foram calculados em ambas às condições: comprimento, largura, duração e velocidade do passo e duração do duplo suporte (em termos da porcentagem da duração do passo). Para a condição com ultrapassagem de obstáculo, as distâncias horizontais e verticais (*toe-clearance*) para o obstáculo, de ambos os passos de ultrapassagem

e suporte, foram calculadas. O *toe-clearance* foi definido e calculado no momento em que o marcador do primeiro metatarso estava sobre o obstáculo (Figura 1).

Figura 1. Passos (ultrapassagem e de suporte) analisados na fase de ultrapassagem da condição com obstáculo.



O software de fonte aberta EEGlab (DELORME et al., 2011) foi utilizado para a analise do EEG. Primeiramente, os dados dos 64 eletrodos foram importados para o EEGlab, e a posição dos eletrodos foi definida. O dado foi filtrado com um filtro de passa banda com uma frequência de corte entre 1 e 50 Hz, e uma inspeção visual foi realizada para a remoção de *outliers* altamente aparentes. Após, os canais com uma amplitude maior do que 400 μV e canais com um valor maior do que 4 desvios padrões da média foram também removidos. Uma diminuição na amostragem do dado foi feita para 512 Hz e o dado foi re-referenciado para a média comum. O *Independent Component Analysis* (ICA) foi realizado para remoção de

artefatos como piscadas e movimento dos olhos, componente muscular e outros potenciais artefatos. A análise de potência do espectro (PSD) foi então realizada nas seguintes bandas de frequências: 1–3 Hz; teta-θ: 4–7 Hz; alfa-α: 8–12 Hz; beta-β: 13–30 Hz; gama-γ: 31–50 Hz. Quatro regiões de interesse foram escolhidas para a análise da atividade cortical (1) frontal (F3, F4 e Fz), (2) motora (C3, C4 e Cz), (3) parietal (P3, P4 e PZ) e (4) occipital (O1, O2 e OZ).

2.2.4 Análise estatística

Os dados foram analisados utilizando o SPSS V.26 (IBM Corporation, Armory, NY) e o nível de significância foi definido em $p<0,05$. O teste de Shapiro-Wilk foi utilizado para checar a normalidade do dado e o teste de Levene's foi utilizado para checar a igualdade das variâncias, enquanto o teste de Mauchly's verificou a esferacidade do dado. Testes t de amostras independentes foram utilizados para comparação da idade, altura, massa corporal, MEEM, e FES-I entre os grupos. Para os parâmetros do andar, uma ANOVA de duas vias foi usada com fator para grupo (pcEM x GC) e condição do andar (andar livre x andar ultrapassando um obstáculo- FA), com medidas repetidas para o último fator. Ainda, uma ANOVA de uma via para grupo foi utilizada para comparar os parâmetros espaço-temporais do andar para os passos de ultrapassagem e suporte e para distancias horizontal e *toe-clearance* em relação ao obstáculo. Para as bandas de frequência do EEG, quatro MANOVAs foram utilizadas, separadas por região cortical de interesse, com fator grupo e condição (*baseline* x andar livre x andar com ultrapassagem de obstáculo), com medidas repetidas para o último fator. O teste de post-hoc de Bonferroni, com níveis de significância ajustados, foi usado quando a MANOVA e a ANOVA apresentaram diferenças significativas. O eta-quadrado parcial (η^2- pequeno (tamanho do efeito> 0.01), moderado (tamanho do efeito > 0.06) ou grande (tamanho do efeito > 0.14)) e Cohen's d (pequeno (tamanho do efeito> 0.2), médio

(tamanho do efeito > 0.5), grande (tamanho do efeito > 0.8) ou muito grande (tamanho do efeito >1.3 ou maior)) foram utilizados como medidas de tamanho de efeito (COHEN, 1988).

2.3 Resultados

As características detalhadas dos participantes separadas por grupo estão apresentadas na Tabela 1. O grupo pcEM reportou maior medo de quedas quando comparado com o GC. Em relação a medicação, seis pcEM tomavam Fingolimoide®, cinco Natalizumab®, uma Avonex®, uma Alentuzumab® e duas Tecfidera®.

Tabela 1. Médias, desvio padrão e range das medidas antropométricas e clínicas dos participantes.

	PcEM (n=15)	**GC (n=15)**	**t**	**p**
Idade (anos)	33±7 [20-45]	31±5 [22-42]	0,594	0,558
Altura (m)	1,67±0,08 [1,56-1,86]	1,68±0,08 [1,56-1,86]	0,311	0,758
Peso corporal (kg)	75,6±13,5 [52-94]	69,4±10,5 [56-88]	1,389	0,176
FES-I (pts)	30,1±11,0 [19-52]	19,3±2,7 [15-26]	**3,672**	**0,001**
MEEM (pts)	29,2±0,8 [28-30]	29,5±0,9 [27-30]	1,027	0,313
EDSS (pts)	2,2±1,3 [0-4,5]	-	-	-
Início (meses)	87±70 [11-235]	-	-	-
Surto (meses)	40±34 [3-94]	-	-	-

Abreviações: PcEM = pessoas com Esclerose Múltipla; GC = Grupo Controle; FES-I = *falls efficacy Scale- International*; MMSE = Mini Exame do Estado Mental. Em **negrito** estão representadas as diferenças entre os grupos.

2.3.1 Parâmetros espaço-temporais do andar

Os valores de média, desvio padrão de ambos os grupos, assim como os valores de F, p e tamanho de efeito, estão apresentados na Tabela 2.

O grupo pcEM apresentou menor comprimento e velocidade do passo em ambas as condições sem e com ultrapassagem de obstáculo (FA) quando comparado ao GC. O efeito principal de condição mostrou que a presença de um obstáculo reduziu o comprimento e velocidade do passo e aumentou a porcentagem de duplo suporte em comparação com o andar sem o obstáculo (Tabela 2).

A interação dos fatores apontou que somente o grupo pcEM alterou o comportamento do andar na condição com ultrapassagem de obstáculo (FA), diminuindo o comprimento e velocidade do passo em relação a condição sem ultrapassagem de obstáculo. Nos passos de ultrapassagem de obstáculo, o grupo pcEM diminuiu o comprimento e velocidade do passo e aumentou a duração do passo em ambos os passos de ultrapassagem e suporte quando comparados ao GC. O grupo pcEM aumentou a porcentagem de duplo suporte somente durante o passo de suporte. Na fase de ultrapassagem, o grupo pcEM posicionou o pé de suporte mais próximo ao obstáculo antes da ultrapassagem e ambos os pés de ultrapassagem e suporte após a ultrapassagem de obstáculo quando comparado ao GC.

Tabela 2. Médias e desvios padrão, assim como os valores de F e p (em parêntesis) e o tamanho de efeito (TE) para todos os parâmetros do andar analisados.

		PcEM	GC	Grupo		Condição		Grupo*Condição	
				F (p)	TE	F (p)	TE	F (p)	TE
Comprimento do passo (cm)	**Andar livre**	63,7±8,7	70,5±6,2	**6,79(0,014)**	**0,19#**	**15,43(0,001)**	**0,35#**	**4,56(0,04)**	**0,14#**
	FA	59,4±11,9	69,2±7,7						
	Passo de ultrapassagem	73,4±10,6	81,9±6,8	**6,69(0,01)**	**0,97***	-	-	-	-
	Passo de suporte	55,8±12,5	66,6±5,5	**9,20(0,005)**	**1,19***	-	-	-	-
Largura do passo (cm)	**Andar livre**	9,8±1,9	8,9±1,6	1,48(0,23)	0,05†	0,37(0,54)	0,01ª	0,01(0,93)	0ª
	FA	9,6±2,7	8,7±1,7						
	Passo de ultrapassagem	11,1±4,0	7,8±1,9	**7,98(0,009)**	**1,37***	-	-	-	-
	Passo de suporte	14,6±5,7	10,4±3,6	**5,15(0,02)**	**0,97**	-	-	-	-
Duração do passo (s)	**Andar livre**	0,54±0,01	0,52±0,05	1,78(0,19)	0,06†	0,30(0,58)	0,01ª	0,35(0,55)	0,01 ª
	FA	0,54±0,07	0,51±0,03						
	Passo de ultrapassagem	0,73±0,19	0,62±0,04	**4,83(0,03)**	**1,44***	-	-	-	-
	Passo de suporte	0,77±0,16	0,65±0,05	**7,86(0,009)**	**1,01***	-	-	-	-
Velocidade do Passo (cm/s)	**Andar livre**	121,4±23,4	138,3±14,9	**6,89(0,01)**	**0,19#**	**12,92(0,001)**	**0,31#**	**5,17(0,03)**	**0,15#**
	FA	111,7±31,9	136,08±15,1						
	Passo de ultrapassagem	106,2±27,4	133,1±14,1	**11,38(0,01)**	**1,25***	-	-	-	-
	Passo de suporte	76,8±25,6	103,05±10,7	**13,26(0,01)**	**1,41***	-	-	-	-
Duplo Suporte (%)	**Andar livre**	34,9±5,5	34,8±6,2	0,78(0,38)	0,02ª	**4,83(0,03)**	**0,14#**	1,35(0,25)	0,04ª
	FA	38,9±6,2	36,1±4,0						
	Passo de ultrapassagem	32,0±10,5	27,3±3,1	2,77(0,10)	0,67†	-	-	-	-
	Passo de suporte	46,1±7,8	39,3±4,1	**8,95(0,01)**	**1,22***	-	-	-	-
Distância horizontal (cm)	**Pé-obs (Ultrapassagem)**	81±20,1	93,2±11,1	**4,1(0,050)**	**0,74†**	-	-	-	-
	Pé-obs (Suporte)	21,1±6,1	23,1±4,5	0,97(0,333)	0,39 ª	-	-	-	-
	Obs-pé (Ultrapassagem)	18,6±3,8	23,6±5,9	**7,4(0,011)**	**1,21***	-	-	-	-
	Obs-pé (Suporte)	74,5±14,7	90,2±8,7	**12,6(0,001)**	**1,4***	-	-	-	-
***Toe-clearance* (cm)**	**Passo Ultrapassagem**	17,6±3,1	17,3±3,8	0,03(0,844)	0ª	-	-	-	-
	Passo de suporte	17,6±4,5	17,3±4,1	0,04(0,829)	0ª	-	-	-	-

Abreviações: PcEM = pessoas com Esclerose Múltipla; GC = Grupo Controle; FA= Fase de aproximação; Pé-obs = Distância Horizontal do pé para o obstáculo antes da ultrapassagem; Obs-pé = Distância Horizontal do pé para o obstáculo após a ultrapassagem. ª Tamanho de efeito pequeno. † Tamanho de efeito moderado. # Tamanho de efeito grande. * Tamanho de efeito muito grande. As diferenças significativas estão representadas em **negrito.**

2.3.2 Atividade cortical

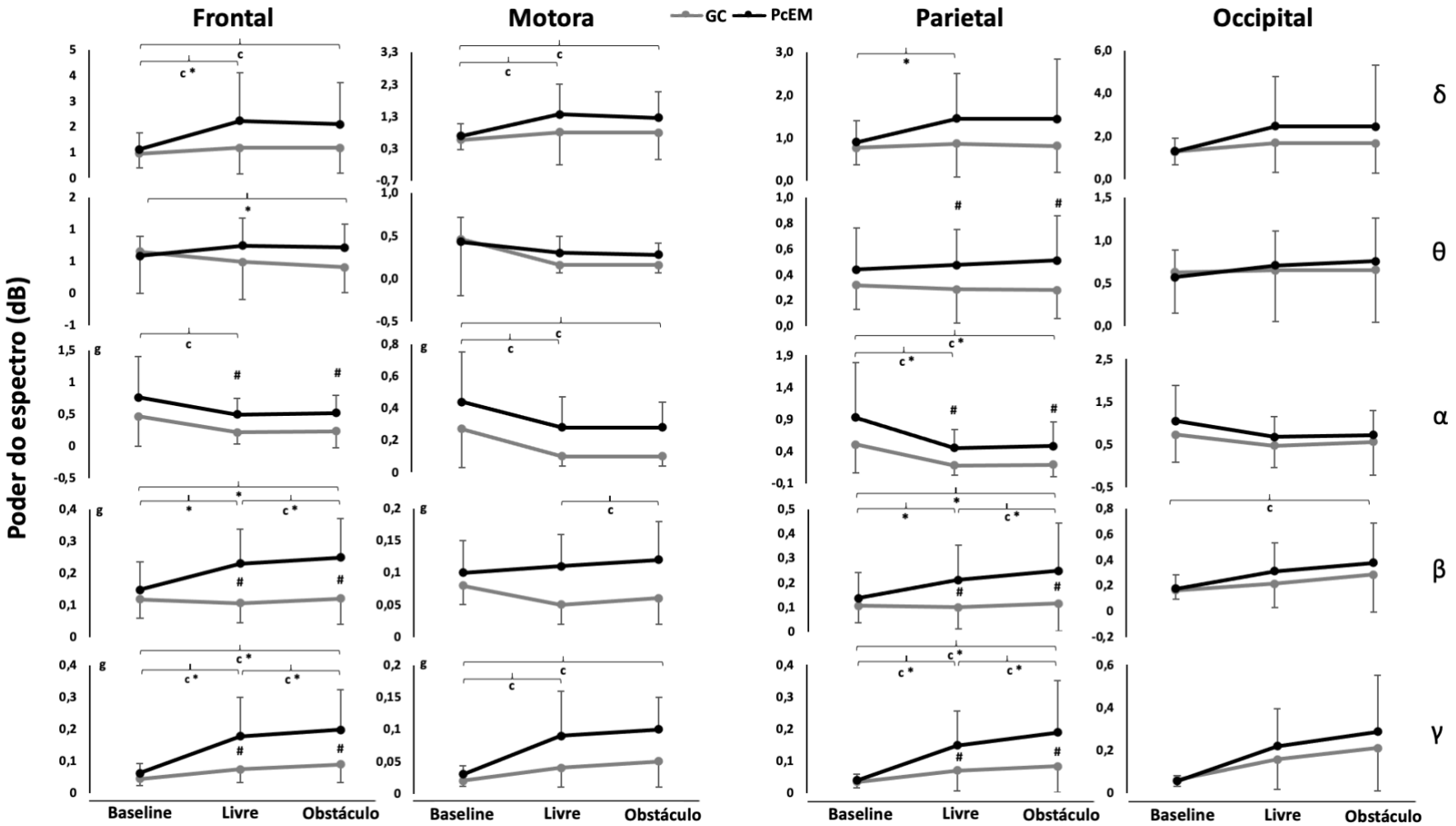
As pcEM apresentaram maior PSD para as bandas alfa, beta e gama na região frontal [$F_{5,24}$=3,22, p<0,023, η^2=0,40- *grande*] e motora [$F_{5,24}$=3,45, p<0,017, η^2=0,40-*grande*] quando comparados ao GC, mas sem nenhum efeito de grupo para as áreas corticais parietal [$F_{5,24}$=2,13, p<0,096, η^2=0,30-*grande*] e occipital ($F_{5,24}$=0,654, p<0,661, η^2=0,12-*moderado*) (Figura 2).

A condição de ultrapassagem de obstáculo aumentou a PSD nas regiões frontal (bandas beta e gama), motora (banda beta) e parietal (banda beta e gama) quando comparada a condição de andar livre [$F_{5,24}$=7,24, p<0,001, η^2=0,79-*grande*, $F_{5,24}$=6,30, p<0,001, η^2=0,76-*grande*, e $F_{5,24}$=14,79, p<0,001, η^2=0,88-*grande*, respectivamente]. Ainda, a condição livre do andar apresentou maior PSD do que a condição de *baseline* nas regiões corticais frontal (bandas delta e gama), motora (bandas delta e gama) e parietal (banda gama). Além disso, o poder espectral da banda alfa diminuiu durante o andar livre quando comparado ao *baseline* nas regiões frontal, motora e parietal. A condição de ultrapassagem de obstáculo apresentou maior PSD do que as condições de *baseline* para as regiões corticais frontal (bandas delta e gama), motora (bandas delta e gama), parietal (banda gama) e occipital (banda beta; $F_{5,24}$=9,25, p<0,001, η^2=0,83-*large*) e reduziu a PSD da banda alfa para as regiões motora e parietal (Figura 2).

A interação grupo vs. condição mostrou que as pcEM aumentaram a PSD nas bandas alfa, beta e gama das regiões corticais frontal [$F_{5,24}$=2,17, p<0,070, η^2=0.53-*grande*) e parietal [$F_{5,24}$=2,75, p<0,028, η^2=0,59-*grande*] quando comparado ao GC em ambas as condições livre do andar e de ultrapassagem do obstáculo. O grupo pcEM apresentou maior PSD para a banda teta do que o GC no córtex parietal durante ambas as condições do andar sem e com ultrapassagem obstáculo. Além disso, somente as pcEM aumentaram a PSD nas bandas beta e gama nas regiões corticais frontal e parietal em ambas as condições de andar sem e com ultrapassagem de obstáculo quando comparadas as condições de *baseline*, e também entre a

condição de andar sem e com ultrapassagem de obstáculo. Também foi visto que pcEM diminuíram a banda alfa do córtex parietal em ambas as condições de andar livre e com ultrapassagem de obstáculo quando comparadas com o *baseline*. Não houve interação grupo vs. Condição para as regiões motora [$F_{5,24}$=1,53, p<0,204, η^2=0,44-*large*] e occipital [$F_{5,24}$=0,751, p<0,671, η^2=0,28-*grande*] (Figura 2).

Figura 2. Médias e desvios padrão da atividade cortical de acordo com a região cortical e a banda. Delta (δ), teta (θ), alfa (α), beta (β) e gama (γ) em cada região de interesse (frontal, motora, parietal e occipital áreas) para as pessoas com Esclerose Múltipla (PcEM) e grupo controle (GC) durante as condições de *baseline* (pessoas sentadas), condição de andar livre e condição de ultrapassagem de obstáculo. # Diferença entre grupos; [g] Efeito principal de grupo; [c] diferença entre as condições; * interação grupo*condição.

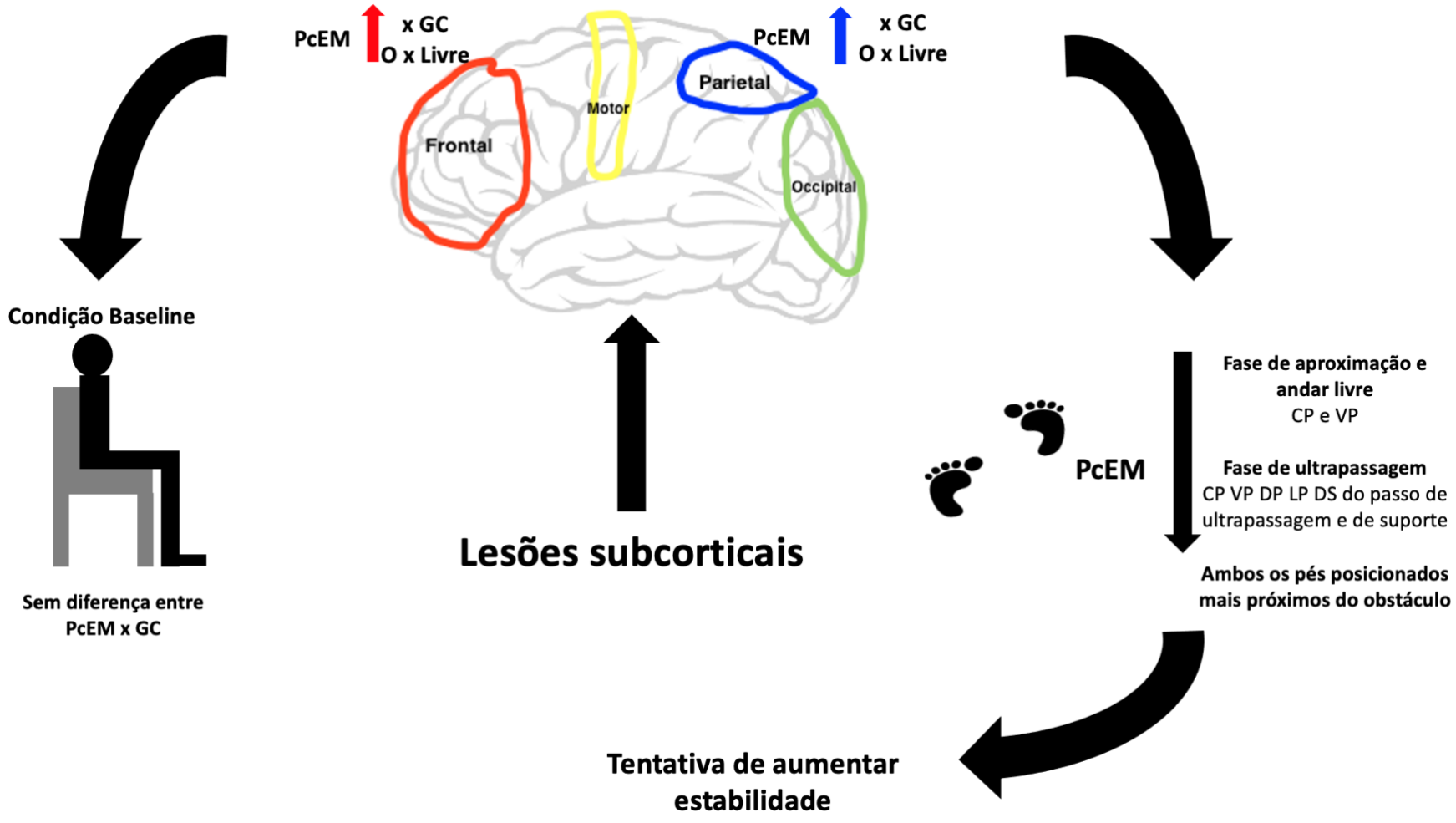


2.4 Discussão

No presente estudo, nós investigamos os efeitos da EM na atividade cortical de diversas regiões corticais associando com os parâmetros do andar sem e com ultrapassagem de obstáculo. O principal achado de nosso estudo é que pcEM necessitam de maior recurso do córtex, especialmente relacionados ao córtex frontal e parietal para a realização da tarefa do andar sem e com ultrapassagem, mostrado pelo aumento na PSD na maioria das bandas de frequências analisadas, o que está de acordo com a nossa hipótese. A maior atividade cortical mostrou nenhum benefício em relação aos parâmetros do andar (e.g., diminuição no comprimento e velocidade do passo e menor distância horizontal antes e após a ultrapassagem do obstáculo). Além disso, a condição de ultrapassagem de obstáculo parece exigir maior recurso cortical em pcEM nas regiões corticais frontal, motora e parietal, quando comparadas ao andar sem ultrapassagem de obstáculo. Esses achados podem suportar futuros programas clínicos e de reabilitação com o objetivo de melhorar elementos do andar, como a ritmicidade e automaticidade do andar, usando ferramentas do EEG e assim avaliando o progresso desses pacientes. Em seguida, nós fornecemos explicações sobre os resultados observados no presente estudo.

Um resumo dos nossos achados dos efeitos da EM no andar sem e com ultrapassagem de obstáculo está representado na figura 3. Nessa figura, nós sugerimos um modelo hipotético relacionando as lesões subcorticais no SNC, maior atividade cortical e os ajustes espaço-temporais dos parâmetros do andar, o que explicaremos abaixo.

Figura 3. Resumos dos achados do estudo. Na representação do cérebro, as cores representam cada região de interesse, sendo vermelho = córtex frontal; amarelo = córtex motor; azul = córtex parietal; verde = córtex occipital. Pessoas com Esclerose Múltipla (PcEM); Grupo Controle (GC); Condição do andar com ultrapassagem de obstáculo (O); andar sem ultrapassagem de obstáculo (Livre); Comprimento do passo (CP); Velocidade do passo (VP); Largura do Passo (LP); Duração do Passo (DP); Duplo Suporte (DS).



A EM pode afetar todos os locais do SNC, incluindo a medula espinal, a qual é responsável pela automaticidade do andar, assim como pelo gerador central de padrão e pela região do tronco cerebral (CLARK, 2015) e também pelo trato piramidal (ROCCA et al., 2004) que carregam fibras motoras e são responsáveis pelo controle voluntário do movimento. Especificamente, as lesões no sistema piramidal necessitam um mecanismo de compensação (e.g., maior ativação) do córtex para lidar com essa imparidade (ROCCA et al., 2004), que poderia também alterar a PSD das bandas do EEG e o recrutamento de diversas outras regiões corticais. Assim, o uso de recursos neuronais adicionais para realização do andar não é surpreendente. Essa atividade cortical mais elevada foi observada por estudos anteriores com pcEM (CHAPARRO et al., 2017; HERNANDEZ et al., 2016; SALEH et al., 2018) e em outras doenças neurológicas (e.g., Doença de Parkinson) (MAIDAN et al., 2015). A teoria compensatória e o modelo de eficiência neural fornecem um potencial explicação para as mudanças observadas na atividade cortical. Devido a uma menor eficiência de processamento neuronal causada por lesões nas estruturas do cérebro, o SNC necessita em compensar essas imparidades recrutando outras regiões do cérebro para manter o desempenho da tarefa, o que leva a um aumento da atividade cerebral (REUTER-LORENZ; CAPPELL, 2008). Por outro lado, o modelo de ineficiência neuronal fala que para manter um nível semelhante de desempenho é necessário ativar as mesmas áreas do cérebro em um grau mais elevado (RYPMA; BERGER; D'ESPOSITO, 2002). Tomadas em conjunto, os achados do nosso estudo sugerem que pcEM precisam recrutar e ativar mais áreas do cérebro para andar, principalmente quando um obstáculo está presente, o que realça a necessidade por recursos adicionais do córtex. Também, nós podemos especular que uma maior PSD nas regiões frontal, motora e parietal do córtex sugerem maior fonte de atenção (e.g., maior PSD nas bandas beta e alfa) e maior dependência de estímulos visuais (e.g., maior PSD na banda gama) para planejar, executar (e.g., maior PSD nas bandas das regiões corticais frontal e motora) e

integração motora e sensorial (e.g., maior PSD das bandas na região cortical parietal) pelas pcEM durante o andar do que os indivíduos saudáveis.

O aumento do uso de recurso corticais pelas PcEM no nosso estudo e a redução do comprimento e velocidade do passo durante o desempenho do andar, reforça a perda na ritmicidade e os pressupostos da teoria da automaticidade do andar nesta população (CHAPARRO et al., 2017; HERNANDEZ et al., 2016), os quais são relacionados com um aumento no número de quedas (WAJDA; MOTL; SOSNOFF, 2013). Estudos anteriores (COMBER; GALVIN; COOTE, 2016; GIANFRANCESCO et al., 2011; KALRON, 2015; KALRON; ALLALI, 2017; KALRON; GIVON, 2016; MARTIN et al., 2006) apresentaram parâmetros espaço-temporais do andar similares aos apresentados nessa pesquisa. Mesmo assim, para o melhor de nosso conhecimento, nosso estudo é o primeiro a mostrar as mudanças/ajustes do andar durante uma tarefa que requer a ultrapassagem de um obstáculo. As pcEM parecem adotar uma estratégia mais arriscada durante a ultrapassagem do obstáculo quando posicionam ambos os pés antes e após a ultrapassagem mais próximos ao obstáculo, o que aumenta as chances de tocar o obstáculo e consequentemente, aumentar as chances de cair (CHOU; DRAGANICH, 1998). Esse comportamento é similar em indivíduos com outras condições neurológicas, como no caso de indivíduos com Parkinson (PENEDO et al., 2018). Essa estratégia arriscada da posição dos pés para a ultrapassagem do obstáculo poderia ser relacionada à maior atividade cortical na região parietal, uma vez que o córtex parietal está relacionado a percepção espacial e o posicionamento dos pés durante o andar (TAKAKUSAKI, 2017). Da mesma forma, o grupo PcEM diminuiu o comprimento e velocidade do passo durante a FA e a velocidade do passo nos passos de ultrapassagem e de suporte. Essa redução poderia ser uma tentativa do sistema neural em ganhar tempo para planejar a ultrapassagem do obstáculo devido a mudanças na atividade cortical da região frontal em pcEM. A informação visual das características do obstáculo precisa ser adquirida acuradamente para o ajuste do

sistema efetor pelas vias corticoespinais (DIETZ, 2003). Esse processo inclui os neurônios motores superiores originados no córtex pré-motor, que está envolvido na seleção dos movimentos que são apropriados ao contexto da ação/tarefa (PURVES et al., 2004), que é nesse caso, a tarefa de ultrapassagem de obstáculo. Portanto, durante a fase de ultrapassagem, o SNC precisa controlar a postura e orientação corporal e modular precisamente os membros inferior em acordo com as restrições espaciais e temporais da tarefa. Maiores tempos para o planejamento é melhor para a integração da informação sensorial e para ajustar o sistema motor. Portanto, o maior desafio de ultrapassar é o equilíbrio médio-lateral e os ajustes espaço-temporais para lidar com a redução do equilíbrio e aumentar a segurança durante a ultrapassagem do obstáculo. PcEM aumentaram a largura do passo e a porcentagem de duplo suporte durante a fase de ultrapassagem para ambos os passos de ultrapassagem e de suporte, o que não foi observado nem durante o andar sem ultrapassagem de obstáculo ou durante a FA. Por fim, aparentemente a fim de preservar a estabilidade do andar na presença de um obstáculo, pcEM escolhem um padrão mais estável do andar. Esses ajustes podem ser relacionados ao uso adicional de recursos corticais pelas pcEM, assim exigindo aumentar a estabilidade para evitar quedas.

2.5 Conclusão

Em conclusão, nossos achados indicam que andar sem nenhuma perturbação é uma tarefa desafiadora para PcEM e requer maior recursos corticais do que pessoas saudáveis, o que confirma estudos prévios. A presença de um obstáculo no caminho das PcEM requer ajustes no andar, provocam uma estratégia mais arriscada e evidenciam as necessidades por maior uso do córtex, indicando uma dificuldade dessa população em caminhar em uma situação cotidiana. O maior recrutamento do córtex em ambas as condições do andar, parece indicar um mecanismo compensatório para suprir os danos em regiões subcorticais em pcEM. Entretanto,

essas compensações parecem não alcançar nenhum benefício pois a resposta motora não foi positiva (e.g., imparidade e estratégia mais arriscada do andar).

2.6 Referências

CHAPARRO, G. et al. Frontal brain activation changes due to dual-tasking under partial body weight support conditions in older adults with multiple sclerosis. **Journal of NeuroEngineering and Rehabilitation**, v. 14, n. 1, p. 1–10, 2017.

CHOU, L.; DRAGANICH, L. F. Placing the trailing foot closer to an obstacle reduces flexion of the hip, knee, and ankle to increase the risk of tripping. **Journal of Biomechanics**, v. 31, n. 8, p. 685–691, ago. 1998.

CLARK, D. J. Automaticity of walking: Functional significance, mechanisms, measurement and rehabilitation strategies. **Frontiers in Human Neuroscience**, v. 9, n. MAY, p. 1–13, 2015.

COHEN, J. **Statistical power analysis for the behavioral sciences**. 2. ed. Hillsdale, NJ: Lawrence Earlbaum Associates, 1988. v. 2nd

COMBER, L.; GALVIN, R.; COOTE, S. Gait deficits in people with multiple sclerosis: A systematic review and meta-analysis. **Gait & Posture**, v. 51, p. 25–35, 2016.

DELORME, A. et al. EEGLAB, SIFT, NFT, BCILAB, and ERICA: New tools for advanced EEG processing. **Computational Intelligence and Neuroscience**, v. 2011, 2011.

DIETZ, V. **Spinal cord pattern generators for locomotionClinical Neurophysiology**, 2003.

FOLSTEIN, M. F.; FOLSTEIN, S. E.; MCHUGH, P. R. “Mini-mental state”. A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. **Journal of Psychiatric Research**, v. 12, n. 3, p. 189–198, 1975.

GIANFRANCESCO, M. A. et al. Speed- and cane-related alterations in gait parameters in individuals with multiple sclerosis. **Gait and Posture**, v. 33, n. 1, p. 140–142, 2011.

GUNN, H. et al. Frequency, characteristics, and consequences of falls in multiple sclerosis: Findings from a cohort study. **Archives of Physical Medicine and Rehabilitation**, v. 95, n. 3, p. 538–545, 2014.

HERNANDEZ, M. E. et al. Brain activation changes during locomotion in middle-aged to older adults with multiple sclerosis. **Journal of the Neurological Sciences**, v. 370, p. 277–283, nov. 2016.

HOLTZER, R. et al. Cognitive processes related to gait velocity: Results from the Einstein aging study. **Neuropsychology**, v. 20, n. 2, p. 215–223, 2006.

KALRON, A. Association between perceived fatigue and gait parameters measured by an instrumented treadmill in people with multiple sclerosis: a cross-sectional study. **Journal of NeuroEngineering and Rehabilitation**, v. 12, n. 1, p. 34, 2015.

KALRON, A.; ALLALI, G. Gait and cognitive impairments in multiple sclerosis: the specific contribution of falls and fear of falling. **Journal of Neural Transmission**, p. 1–10, 2017.

KALRON, A.; GIVON, U. Gait characteristics according to pyramidal, sensory and cerebellar EDSS subcategories in people with multiple sclerosis. **Journal of Neurology**, v. 263, n. 9, p. 1796–1801, 2016.

KURTZKE, J. F. Rating neurologic impairment in multiple sclerosis: An expanded disability status scale (EDSS). **Neurology**, v. 33, n. 11, p. 1444–1452, 1983.

MAIDAN, I. et al. The role of the frontal lobe in complex walking tasks in healthy older adults and patients with Parkinson's disease: An fNIRS study. **Movement Disorders**, v. 1), p. S387, 2015.

MARTIN, C. L. et al. Gait and balance impairment in early multiple sclerosis in the absence of clinical disability. **Multiple Sclerosis**, v. 12, n. 5, p. 620–628, 2006.

MCDONALD, W. I. et al. Recommended diagnostic criteria for multiple sclerosis: Guidelines from the International Panel on the Diagnosis of Multiple Sclerosis. **Annals of Neurology**, v. 50, n. 1, p. 121–127, 2001.

MIRELMAN, A. et al. Effects of aging on prefrontal brain activation during challenging walking conditions. **Brain and Cognition**, v. 115, n. February, p. 41–46, 2017.

PATLA, A. E. Strategies for Dynamic Stability During Adaptive Human Locomotion. **IEEE Engineering in Medicine and Biology Magazine**, v. 22, n. 2, p. 48–52, 2003.

PENEDO, T. et al. Influence of obstacle color on locomotor and gaze behaviors during obstacle avoidance in people with Parkinson's disease. **Experimental Brain Research**, v. 236, n. 12, p. 3319–3325, 25 dez. 2018.

PRZYBEK, J. et al. Evolution of diagnostic criteria for multiple sclerosis. **Neurologia i Neurochirurgia Polska**, v. 49, n. 5, p. 313–321, 2015.

PURVES, D. et al. (EDS.). **Neuroscience, 3rd ed.** Sunderland, MA, US: Sinauer Associates, 2004.

REUTER-LORENZ, P. A.; CAPPELL, K. A. **Neurocognitive aging and the compensation hypothesisCurrent Directions in Psychological Science**, 2008.

ROCCA, M. A. et al. Pyramidal tract lesions and movement-associated cortical recruitment in patients with MS. **NeuroImage**, v. 23, n. 1, p. 141–147, 2004.

RYPMA, B.; BERGER, J. S.; D'ESPOSITO, M. The Influence of Working-Memory Demand and Subject Performance on Prefrontal Cortical Activity. **Journal of Cognitive Neuroscience**, v. 14, n. 5, p. 721–731, jul. 2002.

SALEH, S. et al. The role of premotor areas in dual tasking in healthy controls and persons with multiple sclerosis: An fNIRS imaging study. **Frontiers in Behavioral Neuroscience**, v. 12, n. December, p. 1–11, 2018.

TAKAKUSAKI, K. Functional Neuroanatomy for Posture and Gait Control. **Journal of Movement Disorders**, v. 10, n. 1, p. 1–17, 2017.

WAJDA, D. A.; MOTL, R. W.; SOSNOFF, J. J. Dual task cost of walking is related to fall risk in persons with multiple sclerosis. **Journal of the Neurological Sciences**, v. 335, n. 1–2, p. 160–163, dez. 2013.

YARDLEY, L. et al. Development and initial validation of the Falls Efficacy Scale-International (FES-I). **Age and Ageing**, v. 34, n. 6, p. 614–619, 2005.

CAPÍTULO 3

BDNF É CORRELACIONADO COM PARÂMETROS DE MOBILIDADE E DE ATIVIDADE CORTICAL EM PESSOAS COM ESCLEROSE MÚLTIPLA

Felipe Balistieri Santinelli; Emerson Sebastião; Lucas Simieli; Barbara Moura Antunes; Luiz Henrique Palucci Vieira; Fabio Augusto Barbieri

SERÁ SUBMETIDO PARA A MULTIPLE SCLEROSIS JOURNAL

Estudo 2- BDNF é correlacionado com parâmetros de mobilidade e de atividade cortical em pessoas com esclerose múltipla

RESUMO

Introdução: Descobrir biomarcadores fáceis e baratos é essencial para identificar e auxiliar no monitoramento da progressão da Esclerose Múltipla (EM). Os parâmetros do andar, da mobilidade funcional e da atividade cortical são potenciais biomarcadores que precisam ser testados. Uma possível relação desses parâmetros com o Fator Neurotrófico derivado do cérebro (BDNF), o qual é um bem definido biomarcador da EM, é um importante passo. **Objetivo:** Investigar as correlações entre o BDNF e de mobilidade funcional, os parâmetros do andar e da atividade cortical em pessoas com EM (pcEM) e investigar se esses parâmetros podem ser classificados como biomarcadores da EM. **Método:** Vinte pcEM e 18 sujeitos saudáveis (Grupo controle- GC) participaram desse estudo. Os parâmetros cinemáticos (Sistema 3D Vicon®) e da atividade cortical (electroencefalograma-EEG) foram avaliados durante o andar (10 tentativas) após a mensuração da concentração sérica de BDNF. A mobilidade funcional (*Timed-up-go*- TUG) também foi avaliada. Correlações de Pearson e de Spearman entre a concentração sérica de BDNF com o TUG, os parâmetros do andar e da atividade cortical, assim como a análise da curva ROC para essas variáveis, foram realizadas., **Resultados:** O TUG (r=-0,44), comprimento do passo (r=0,39) e a velocidade do passo (r=0,44) foram moderadamente correlacionadas com o BDNF, ao passo que para a atividade cortical, a banda teta-motora (r=-0,70) foi fortemente correlacionada com o BDNF e a banda beta-motora (r=-0,40) foi moderadamente correlacionadas em pcEM. Boa sensibilidade e especificidade foram também observadas para o TUG, comprimento do passo, velocidade do passo e a banda beta-motora. **Conclusão:** Os parâmetros do andar, da mobilidade funcional e da atividade cortical parecem ser bons biomarcadores da EM, auxiliando na identificação da progressão da EM.

3.1 Introdução

Os biomarcadores da esclerose múltipla (EM) são uma excelente estratégia para auxiliar no diagnóstico e prognóstico dos pacientes. Devido ao processo de desmielinização dos neurônios e acentuada atrofia cerebral (THOMPSON et al., 2018a), um diagnóstico prematuro e uma rápida detecção da progressão da doença podem aumentar a resposta ao tratamento em pessoas com EM (pcEM). Em termos de exames laboratoriais, o Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro (*Brain Derived Neurotrophic Factor*- BDNF) é um importante biomarcador da EM (ISLAS-HERNANDEZ et al., 2018). Por exemplo, está bem estabelecido que as pcEM apresentam menor concentração de BDNF do que seus pares saudáveis (CASTELLANO; WHITE, 2008; FROTA et al., 2009; ISLAS-HERNANDEZ et al., 2018) e a sua concentração substancialmente cai com a progressão da doença (ISLAS-HERNANDEZ et al., 2018). Em relação a função, O BDNF tem um papel fundamental na formação e maturação de sinapses e espinhas (e.g., neurogênese e neuroplasticidade) do Sistema Nervoso Central (SNC) (ANASTASIA; HEMPSTEAD, 2014; KSIAZEK-WINIAREK; SZPAKOWSKI; GLABINSKI, 2015), na produção de oligodendrócitos (DU et al., 2003) e na diferenciação dos neurônios (ANASTASIA; HEMPSTEAD, 2014). O BDNF é também relacionado com cognição (aprendizagem e memória) (PATANELLA et al., 2010) e é inversamente associado com as lesões desmielinizantes no SNC na EM (FROTA et al., 2012). Entretanto, a mensuração do BDNF é cara (por volta de 8 mil reais ou 1500 dólares), que requer equipamentos e uma estrutura específica para ser realizada. Além disso, não é uma prática usual para médicos e profissionais da saúde no contexto clínico, emergindo a possibilidade/necessidade de determinar um biomarcador da EM prático e de baixo custo.

Os parâmetros do andar e da mobilidade funcional (e.g., *timed-up-go*; TUG) são econômicos e mais práticos de serem mensurados (VALET et al., 2019) e são fortemente associados com a Escala Expandida de Incapacidade Funcional (*Expanded disability status*

scale- EDSS) (e.g., velocidade do passo e desempenho no TUG) (GIVON; ZEILIG; ACHIRON, 2009; SEBASTIÃO et al., 2016). Além disso, à medida que a EM progride, as capacidades de marcha e mobilidade funcional pioram (PREININGEROVA et al., 2015). Também há evidências de que as lesões subcorticais no SNC requerem maior atividade cortical de pcEM para realizar uma tarefa motora (PETERSON; FLING, 2018; ROCCA et al., 2004; SANTINELLI et al., 2020). Essa maior atividade cortical, é um dos principais mecanismos compensatórios para lidar com essa deficiência, principalmente durante a tarefa do andar (KALRON; GIVON, 2016; SANTINELLI et al., 2020). Como o BDNF é negativamente associado com as lesões no SNC (FROTA et al., 2012), é possível que uma maior concentração sérica de BDNF poderia estar atenuando esse mecanismo compensatório. Considerando que tanto a mobilidade funcional, o andar, a atividade cortical e o BDNF agem ou têm de alguma forma uma relação com a cognição, com a desmielinização e com a progressão da EM (e.g., EDSS), é plausível argumentar que o BDNF estaria associado com esses parâmetros. Até onde sabemos, nenhum estudo examinou um potencial correlação entre BDNF, TUG, parâmetros do andar e da atividade cortical em pcEM.

Um primeiro passo para estabelecer a mobilidade funcional, os parâmetros espaço-temporais e a atividade cortical do andar como biomarcadores da EM é investigar sua associação com um biomarcador biológico da EM bem definido, como o BDNF. Portanto, nós investigamos a possível correlação do BDNF com a mobilidade funcional (TUG) os parâmetros espaço-temporais do andar, da atividade cortical e das avaliações clínicas (e.g., teste de cognição e escalas de incapacidade). Nós esperamos que a concentração sérica do BDNF será correlacionada com os parâmetros do andar, do TUG e da atividade cortical.

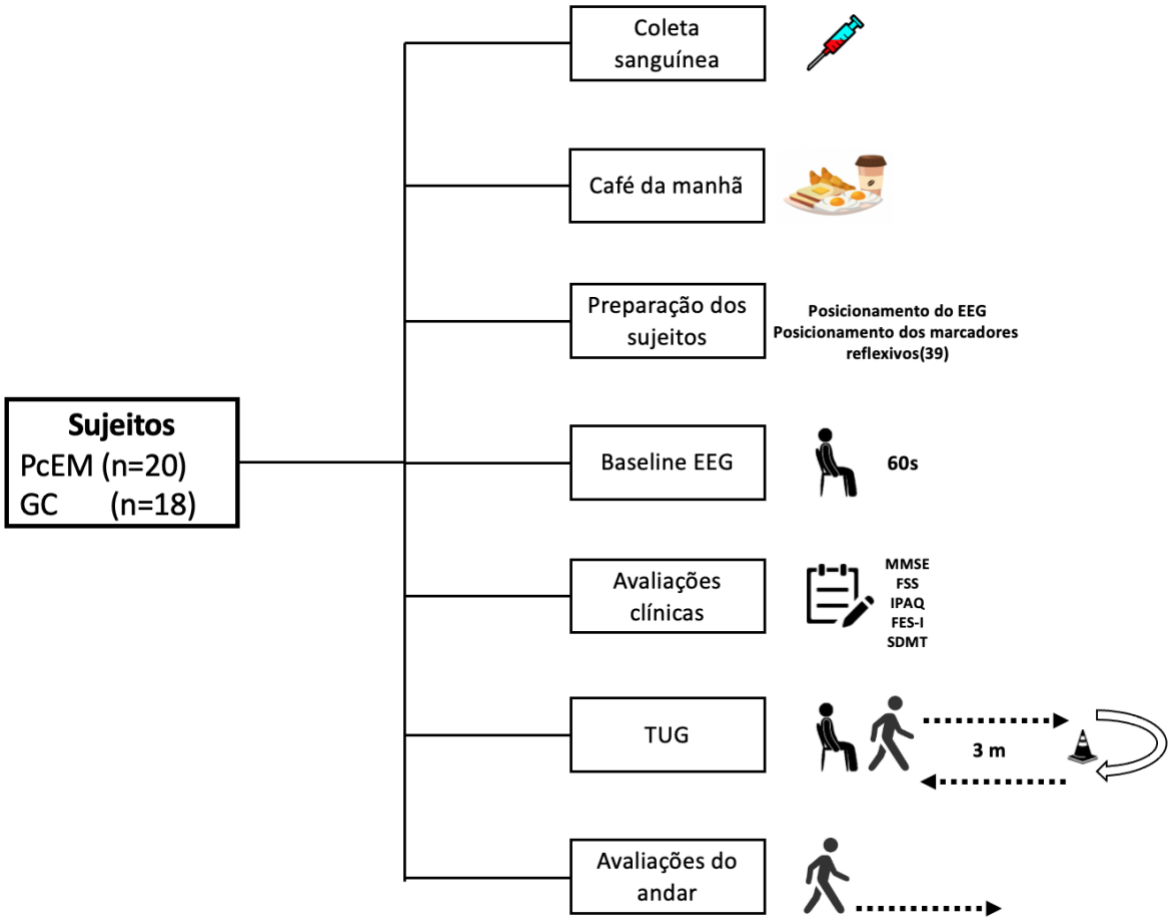
3.2 Material e métodos

3.2.1 Desenho experimental

Os sujeitos recrutados nesse estudo foram orientados a evitar qualquer tipo de atividade física intensa/vigorosa nas 48 horas anteriores do dia de avaliação e a comparecer ao laboratório sem a ingestão de alimentos ou líquidos, exceto água, por 12 horas para evitar qualquer influência dos alimentos na concentração de BDNF. Todas as avaliações foram realizadas no período matinal (7:00 até 12:00 horas da manhã) para minimizar os efeitos do ciclo circadiano nas amostras biológicas. Os procedimentos foram aprovados pelo Comitê de Ética local (#99191318.0.0000.5398) e todos os participantes assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido antes da coleta de dados.

Na Figura 4, está presente a linha do tempo dos procedimentos experimentais. Na chegada ao laboratório, 4 ml de sangue foram coletados dos participantes em jejum. Imediatamente após a coleta de sangue, os participantes receberam café da manhã. Após esta primeira parte, a equipe de pesquisa posicionou o eletroencefalograma (EEG) nos participantes a fim de coletar os dados de EEG basais. A avaliação clínica (estado cognitivo, estado de atividade física, fadiga e medo de cair) e mobilidade funcional (TUG) foram então realizadas. Cinco minutos de descanso foram dados aos participantes antes do início da avaliação do andar.

Figura 4. Desenho experimental do estudo. pessoas com Esclerose Múltipla (PcEM); Grupo Controle (GC); *falls efficacy Scale- International* (FES-I); Mini Exame do Estado Mental (MEEM); *Fatigue Severity Scale* (FSS); Questionário Internacional de Atividade Física (IPAQ); *Symbol digit Modality Test* (SDMT).



3.2.2 Participantes

Vinte e duas pcEM (13M/9H), e 18 sujeitos saudáveis (13M/5H) foram recrutados para esse estudo. Os critério de inclusão para ambos os grupos incluíram: a) idade entre 18 e 55 anos; b) não apresentar declínio cognitivo (<24 pontos no Mini-Exame do Estado Mental-MEEM) (FOLSTEIN; FOLSTEIN; MCHUGH, 1975) e; c) não apresentar problemas ortopédicos, cerebelares, cardíacos e oculomotores. Para pcEM, um conjunto adicional de critérios de inclusão foi usado, incluindo: a) diagnóstico clinicamente definitivo de EM recorrente-remitente (MCDONALD et al., 2001; THOMPSON et al., 2018b); b) apresentar uma pontuação menor que que 4,5 (KURTZKE, 1983) e 4 no *Patiente Determined Disease*

Scale (PDDS) (DE DAVID et al., 2019); c) não apresentar exacerbação dos sintomas nos últimos 3 meses anteriores à coleta de dados e; d) não fazer uso de fampridina. Duas pcEM não atenderam aos critérios de inclusão e foram excluídos do estudo, restando 20 pcEM (11M/9H).

3.2.3 Avaliação clínica

O histórico da doença (ano de diagnóstico e da última recaída, e o auto-relato das incapacidades da doença-PDDS), foram obtidas das pcEM. As pcEM trouxeram o EDSS obtidos de seus médicos. O MEEM foi realizado para avaliar a presença de declínio cognitivo. Além disso, os participantes completaram o *Symbol Digit Modality Test* (SDMT) (SMITH, 1982), uma medida de mensuração da velocidade de processamento informação. O sintoma de fadiga foi avaliada por meio do *Fatigue Severity Scale* (FSS) (KRUPP, 1989) e o medo de cair pelo *Falls Efficacy Scale- International* (FES-I) (YARDLEY et al., 2005). Em seguida, avaliamos o nível de atividade física dos participantes por meio do Questionário Internacional de Atividade Física (IPAQ- versão curta) (MATSUDO et al., 2012) e a pontuação foi expressa como Equivalente Metabólico de Tarefa (MET).

3.2.4 Avaliação do BDNF

Dois profissionais de saúde (uma biomédica e uma enfermeira) conduziram as coletas sanguíneas para análise do BDNF sérico com os participantes em jejum. Quatro ml de sangue foram coletados e armazenados em um tubo seco (Becton Dickinson, BD, Juiz de Fora, Brazil). Em seguida, para separar o soro do plasma, a amostra de sangue foi centrifugada a 3.000 rpm por 10 minutos a uma temperatura de 4º Celsius. O soro foi posteriormente armazenado em Eppendorf (0,5ml) a -20º Celsius por 24 horas e após, armazenado a -80º Celsius para posterior análise. Para garantir que a amostra de soro não excedesse o limite do kit de BDNF, as amostras foram diluídas 50 vezes (PcEM) e 100 vezes (GC) com um diluente calibrador antes da análise.

A técnica de *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) foi usada para medição de BDNF seguindo as recomendações do fabricante dos kits R&D System, Minneapolis, MN, USA) para análise de BDNF. A sensibilidades dos kits ELISA são de 1500-23,4 pg.ml^{-}1 com um coeficiente de variação intraensaio de 1,3%. As concentrações séricas de BDNF foram relatadas em nano gramas por milímetro (1 ng / ml = 1000 pg / ml).

3.2.5 Avaliação do TUG, do andar e do EEG

Para a avaliação do TUG, os participantes começaram sentados em uma cadeira e ao comando de "vai", deveriam levantar-se, caminhar por 3m, girar 180º um cone e retornar para a posição inicial. Uma tentativa foi dada aos participantes para prática e mais duas tentativas como medidas validas. O tempo médio das duas tentativas validas foi utilizado como principal medida do TUG.

Para a avaliação do andar, os participantes caminharam descalços em um ritmo natural e confortável em uma passarela com 8,5 m de comprimento e 3,5 m de largura. Cada participante realizou um total de 10 tentativas. Os dados cinemáticos foram coletados com o sistema tridimensional *Vicon Motion System*® com 10 câmeras infravermelhas, com uma amostragem em 200 frames/s, e 39 marcadores reflexivos foram colocados nos participantes de acordo com a posição dos pontos de referência do modelo *Plug-in-Gait* de corpo inteiro (Vicon®). Os marcadores localizados no segundo metatarso e no calcanhar foram exportados e usados para calcular os parâmetros do andar.

Os dados brutos de marcha foram filtrados com um filtro Butterworth passa-baixa de quinta ordem (zero-lag), com corte em 6 Hz. A média dos cinco passos centrais, realizados no meio da passarela, foi considerada para o cálculo dos seguintes parâmetros da marcha: comprimento do passo, duração do passo, velocidade do passo, largura do passo e duplo suporte (em porcentagem da duração do passo).

Os marcadores localizados no segundo metatarso e no calcâneo de ambos os pés, foram utilizados para o cálculo dos parâmetros espaço-temporais do andar. Para avaliação da atividade cortical, foi utilizado um equipamento de EEG (ANT Neuro, Enschede, Holanda), com uma frequência de aquisição em 1024 Hz e com uma touca (WaveGuardTM, 64 eletrodos ativos, 10-10 sistema internacional de posicionamento de eletrodos). A impedância dos eletrodos permaneceu abaixo de 10 Ω. Como medida de linha de base, os participantes permaneceram sentados em uma cadeira por 60 segundos e essa medida foi usada para normalizar os dados do andar do EEG. A medição do EEG também foi realizada durante as tentativas de marcha.

Os dados brutos do EEG foram analisados com o software EEGlab (DELORME et al., 2011). A análise de densidade espectral de potência (PSD) foi então realizada, para as áreas corticais frontal, motora, parietal e occipital, com as seguintes frequências de banda teta-θ (4-7 Hz), alfa-α (8-12 Hz) e, beta-β (13-30 Hz). Detalhes dos procedimentos de EEG podem ser encontrados em estudo prévio (SANTINELLI et al., 2020).

3.2.6 Análise estatística

Os dados foram analisados utilizando o SPSS versão 26 (IBM Corporation, Armory, N.Y). A normalidade dos dados foi verificada por meio do teste de Shapiro-Wilk e o nível de significância estabelecido em $p < 0,05$ para todas as análises. Todos os parâmetros do andar respeitaram a normalidade dos dados e apenas as variáveis de atividade cortical teta e beta (área motora) e alfa (área occipital) não respeitaram a normalidade, com testes adequados sendo aplicado nestes casos. Um teste t para amostras independente foi usado para comparar idade, massa corporal, altura, concentração de BDNF e desempenho no TUG entre pcEM e GC. Posteriormente, usamos o teste U de Mann-Whitney para comparar os escores de FES-I, SDMT, FSS, MMSE e IPAQ entre os grupos (pcEM x CG). Para comparar os grupos

relacionados aos parâmetros do andar e das variáveis da atividade cortical, uma ANOVA one-way (parâmetros do andar) e MANOVA (atividade cortical) foram apresentadas nos resultados. O eta-quadrado parcial, para MANOVA e, Cohen's d, para ANOVA, foram usados como tamanho do efeito (COHEN, 1988). A comparação do grupo foi realizada apenas para caracterizar nossa amostra.

A correlação de Pearson (*r)* foi usada para examinar a correlação entre a concentração de BDNF e as avaliações clínicas, do andar e da atividade cortical e o *rho* de Spearman para examinar a correlação entre o BDNF para aquelas variáveis que violaram os pressupostos de normalidade. A análise de correlação foi realizada separadamente entre os grupos. Coeficientes de correlação de 0,1, 0,3 e 0,5 foram interpretados como fraco, moderado e forte, respectivamente, de acordo com os critérios amplamente adotados (COHEN, 1988). A curva *Receiver Operating Characteristic* (ROC) foi realizada a fim de identificar a sensibilidade e especificidade de todas as variáveis analisadas no presente estudo.

3.3 Resultados

A Tabela 3 apresenta as características antropométricas e clínicas dos participantes separados por grupos. Ambos os grupos foram semelhantes para altura, massa corporal, idade e MEEM. O grupo pcEM apresentou pior desempenho na mobilidade (TUG), e maior medo de quedas, menor velocidade de processamento da informação e maior sintoma de fadiga em comparação com aqueles sem a EM (GC).

Tabela 3. Médias, desvio padrão e amplitude das medidas antropométricas e clínicas dos participantes.

	pcEM (n=20)	**GC (n=18)**	**t_{36}**	***p***
Altura (m)	1,67±0,1 [1,55-1,89]	1,67±0,08 [1,55-1,86]	0,004	0,997
Massa corporal (kg)	73,5±13,5 [51,1-94,6]	67,9±10,8 [48-88,2]	1,407	0,168
Idade (anos)	33,1±7,5 [18-45]	35,5±5,9 [22-45,8]	0,287	0,776
TUG (s)	8,4±2,8 [4,8-14,0]	5,88±0,90 [4,25-7,69]	**3,653**	**0,001**
Diagnóstico (meses)	85,8±79,5 [5-276]	-	-	-
Surto (meses)	39±31,1 [3-94]	-	-	-
EDSS (pts)	2,27±1,29 [0-4,5]	-	-	-
PDDS (pts)	1,78±1,03 [1-4]	-	-	-
			U	***p***
FES-I (pts)	30,9±11,1 [19-52]	19,4±4,1 [15-33]	**46,5**	**0,001**
SDMT (pts)	50,6±11,1 [23-65]	62,1±8,4 [49-84]	**274**	**0,002**
FSS (pts)	33,6±14,7 [14-54]	19,5±7,2 [9-35]	**81**	**0,006**
MEEM (pts)	29,1±0,8 [28-30]	29,5±0,8 [27-30]	238	0,06
IPAQ (Mets)	693 [0-3756]	2509[360-9864]	**306**	**0,001**

Abreviações: pessoas com Esclerose Múltipla (PcEM); Grupo Controle (GC); *Timed-up-go* (TUG); *Expanded disability Status Scale* (EDSS); *Patients-Determined Disease Steps* (PDDS); *falls efficacy Scale- International* (FES-I); Mini Exame do Estado Mental (MEEM); *Fatigue Severity Scale* (FSS); Questionário Internacional de Atividade Física (IPAQ); *Symbol digit Modality Test* (SDMT). Em **negrito** estão representadas as diferenças entre os grupos.

A estatística descritiva e a comparação de grupo dos parâmetros de marcha e atividade cortical para pcEM e CG são apresentadas na Tabela 4. Resumidamente, é possível observar um menor comprimento de passo, velocidade do passo e maior duração do passo para pcEM, bem como maior atividade cortical para este grupo em todas as quatro áreas corticais medidas.

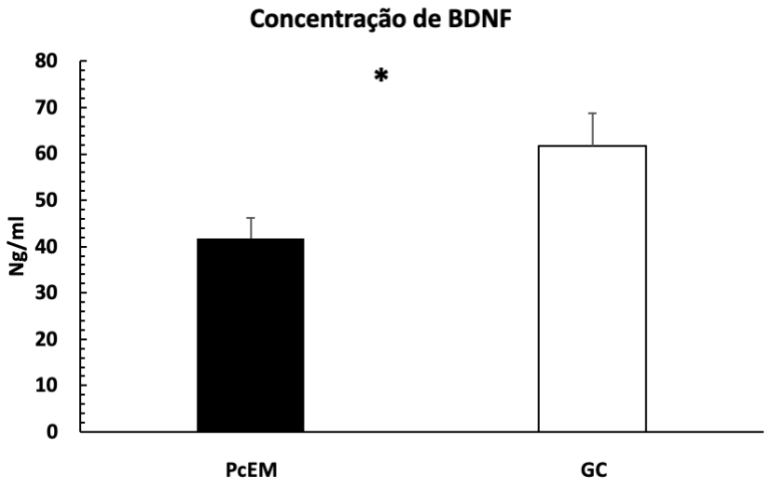
Tabela 4. Estatística descritiva e os valores de MANOVA e ANOVA da comparação de grupos dos parâmetros do andar e da atividade cortical.

		pcEM (n=20)	GC (n=18)	MANOVA	ANOVA
Parâmetros do andar					
Comprimento do passo (cm)		63,14±8,71	70,21±6,20	-	**$F_{1,36}$=8,12, p<0,007, d=0,93**
Largura do passo (cm)		9,13±2,15	8,81±1,60	-	$F_{1,36}$=0,261, p<0,612, d=0,16
Duração do passo (s)		0,53±0,04	0,50±0,02	-	**$F_{1,36}$=7,58, p<0,009, d=0,94**
Velocidade do passo (cm/s)		119,27±22,39	137,92±14,65	-	**$F_{1,36}$=10,88, p<0,002, d=0,98**
Duplo suporte (%)		35,20±5,73	35,32±5,85	-	$F_{1,36}$=0,004, p<0,948, d=0,02
Atividade cortical (Potência do espectro (dB))					
Área frontal	**θ**	1,15±0,44	0,87±0,52	**Wilks' Lambda=0,79, $F_{3,33}$=2,78, p<0,05, η^2=0,202**	**$F_{1,33}$=4,98, p<0,032, η^2=0,12**
	α	0,79±0,28	0,57±0,35		$F_{1,33}$=2,49, p<0,123, η^2=0,06
	β	1,30±0,56	0,88±0,32		**$F_{1,33}$=8,10, p<0,007, η^2=0,18**
Área motora	**θ**	0,77±0,50	0,55±0,34	**Wilks' Lambda=0,80, $F_{3,33}$=2,72, p<0,05, η^2=0,198**	$F_{1,33}$=2,23, p<0,144, η^2=0,06
	α	0,66±0,32	0,47±0,33		**$F_{1,33}$=4,70, p<0,037, η^2=0,11**
	β	1,07±0,54	0,67±0,35		**$F_{1,33}$=7,78, p<0,008, η^2=0,18**
Área parietal	**θ**	1,46±0,64	0,85±0,44	**Wilks' Lambda=0,78, $F_{3,32}$=2,87, p<0,05, η^2=0,212**	**$F_{1,33}$=8,24, p<0,007, η^2=0,19**
	α	0,65±0,30	0,45±0,38		$F_{1,33}$=0,73, p<0,396, η^2=0,02
	β	1,24±0,52	0,97±0,60		$F_{1,33}$=0,97, p<0,331, η^2=0,03
Área Occipital	**θ**	1,33±0,67	0,96±0,47	**Wilks' Lambda=0,78, $F_{3,33}$=3,10, p<0,040, η^2=0,220**	**$F_{1,33}$=6,15, p<0,018, η^2=0,15**
	α	0,71±0,43	0,51±0,31		$F_{1,33}$=0,67, p<0,419, η^2=0,02
	β	1,39±0,52	0,96±0,47		**$F_{1,33}$=7,59, p<0,009, η^2=0,18**

Abreviações: pessoas com Esclerose Múltipla (PcEM); Grupo Controle (GC); Centímetro (cm); Segundos (s); Porcentagem (%); teta (θ); alfa (α); beta (β); Cohen'd (d). Em **negrito** estão representadas as diferenças significativas.

Em termos das concentrações séricas de BDNF, a Figura 2 mostra os valores de média e desvio padrão observados para os grupos pcEM e GC. Observou-se menor concentração sérica de BDNF para o grupo pcEM em relação ao GC (t_{36} = -10,47, p <0,001, *d*=3,36).

Figura 5. Concentração de Fator Neurotrófico derivado do Cérebro (BDNF) entre os grupos. Nano gramas por milímetro (ng/ml); * Diferença significativa entre os grupos.

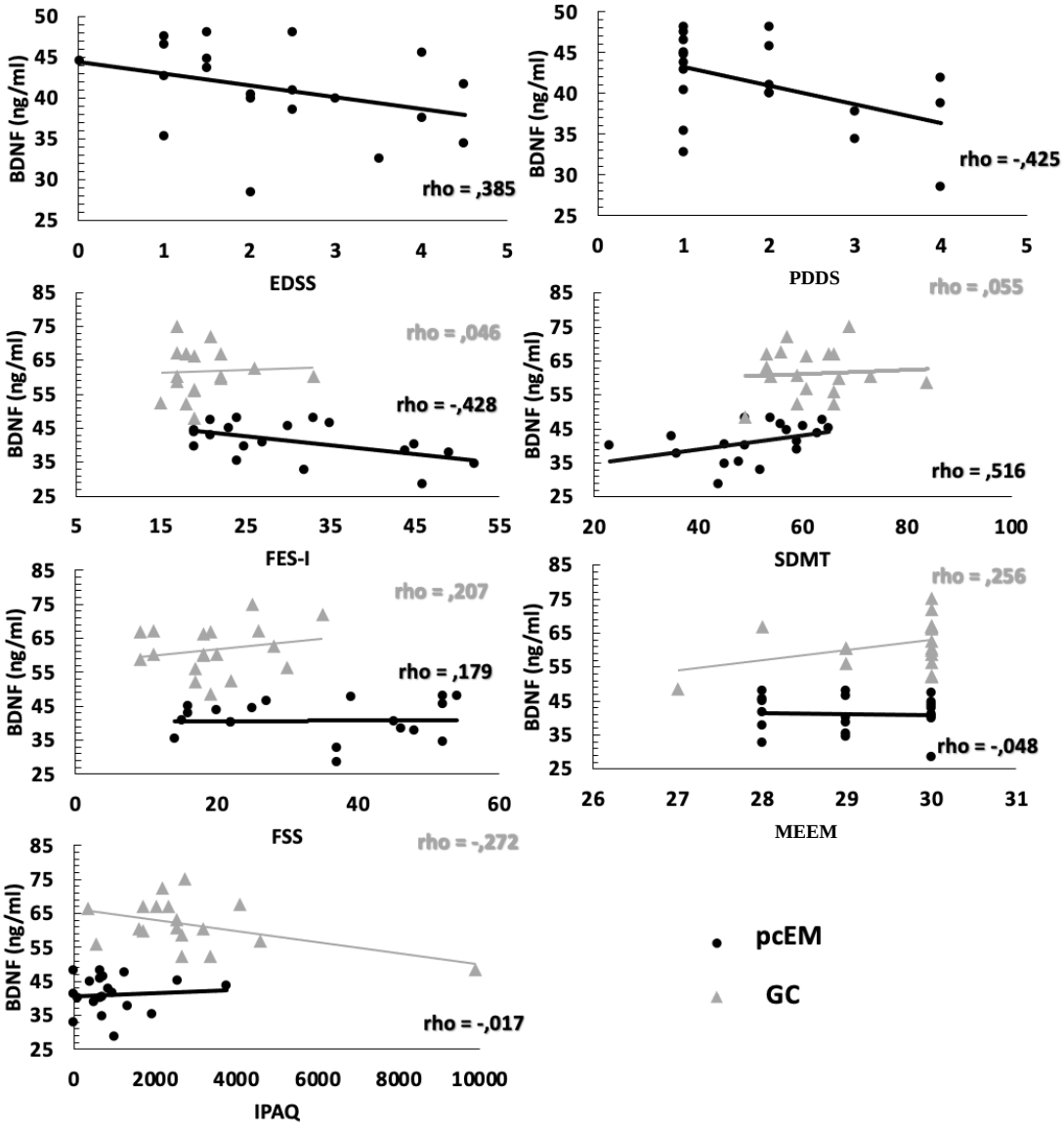


3.3.1 Concentração sérica de BDNF x Avaliações clínicas

Correlações moderadas entre a concentração sérica de BDNF e as medidas de incapacidade foram observadas para as pcEM. No entanto, essas associações negativas não foram significantes para o EDSS (p <0,095) e com indicações de tendência para o PDDS (p <0,062) (Figura 6).

A concentração de BDNF também apresentou uma tendência a uma correlação moderadamente negativa com o medo de cair (FES-I- p<0,067) e uma correlação moderadamente positiva com a velocidade de processamento de informação (SDMT- p<0,024) para as pcEM. Não foi observada correlação entre as avaliações clínicas e as concentrações séricas de BDNF para o GC (Figura 6).

Figura 6. Correlações entre as concentrações de Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro (BDNF) e das avaliações clínicas para as pessoas com Esclerose Múltipla (PcEM) e do Grupo Controle (GC). *Expanded disability Status Scale* (EDSS); *Patients-Determined Disease Steps* (PDDS); *falls efficacy Scale- International* (FES-I); Mini Exame do Estado Mental (MEEM); *Fatigue Severity Scale* (FSS); Questionário Internacional de Atividade Física (IPAQ); *Symbol digit Modality Test* (SDMT).

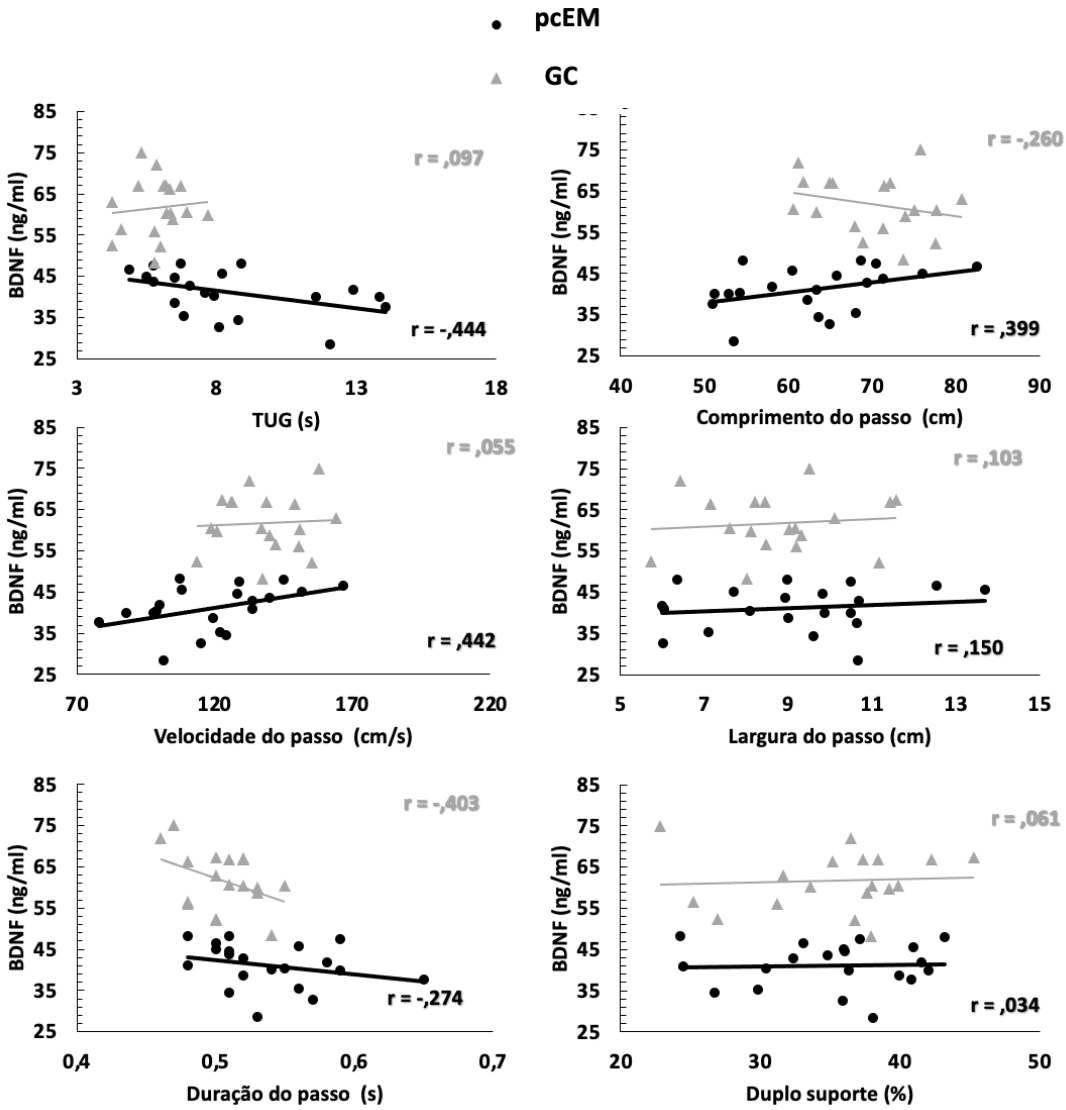


3.3.2 Concentração sérica de BDNF x TUG e parâmetros do andar

A concentração sérica de BDNF foi negativamente moderadamente correlacionada com a mobilidade funcional (TUG- $p<0,05$) e positivamente moderadamente correlacionada à velocidade do passo ($p<0,05$), com uma não-significante correlação positiva moderada com o comprimento do passo ($p<0,081$) e com uma não-significante correlação fraca para a largura

do passo (p<0,527), duração do passo (p<0,242) e porcentagem de duplo suporte (p<0,888). Para o GC, foi observada uma correlação não-significante moderadamente negativa para a duração do passo (p<0,091), com correlações fracas não-significantes para o comprimento do passo (p<0,298), largura do passo (p<0,685), velocidade do passo (p<0,829) e porcentagem de duplo suporte (p<0,811) (Figura 7).

Figura 7. Correlações entre as concentrações de Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro (BDNF) e os parâmetros do andar para as pessoas com Esclerose Múltipla (PcEM) e do Grupo Controle (GC). *Timed-up-go* (TUG); Centímetro (cm); Segundos (s); Porcentagem (%).

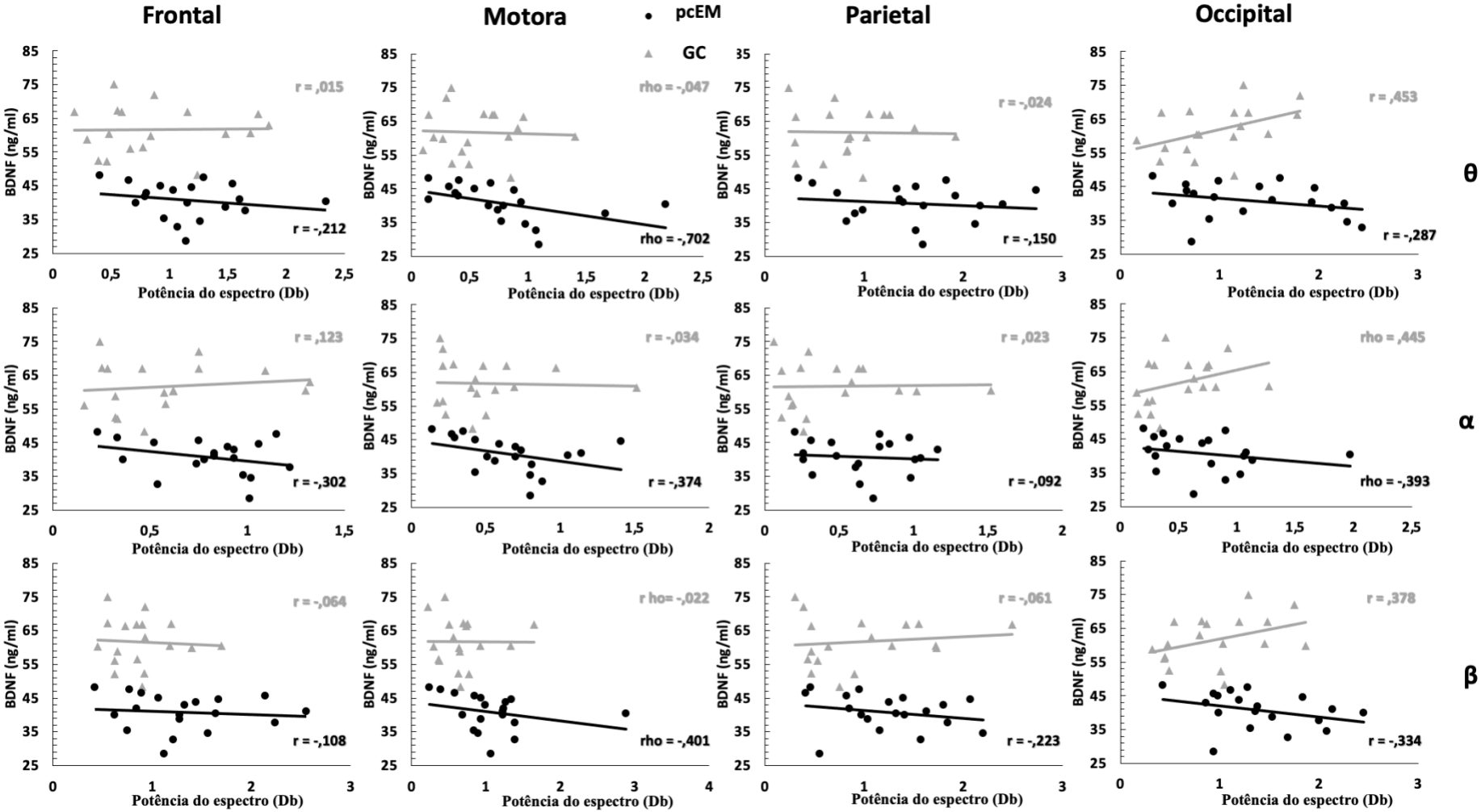


3.3.3 Concentração sérica de BDNF x atividade cortical

A concentração sérica de BDNF foi significativa negativamente fortemente associada a banda teta-motora (p<0,001), com uma correlação moderadamente negativa, não-

significante, com a banda beta-motora ($p<0,08$) para as pcEM. A concentração de BDNF não foi correlacionada com as outras bandas/áreas corticais para as pcEM (Figura 8). Por outro lado, para o GC, observou-se apenas uma tendência à correlação moderada positiva com a concentração de BDNF e a área cortical da banda teta-occipital ($p<0,059$).

Figura 8. Correlações entre as concentrações de Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro (BDNF) e os parâmetros do andar para as pessoas com Esclerose Múltipla (PcEM) e do Grupo Controle (GC). teta (θ); alfa (α); beta (β).



3.3.4 Análise da curva ROC

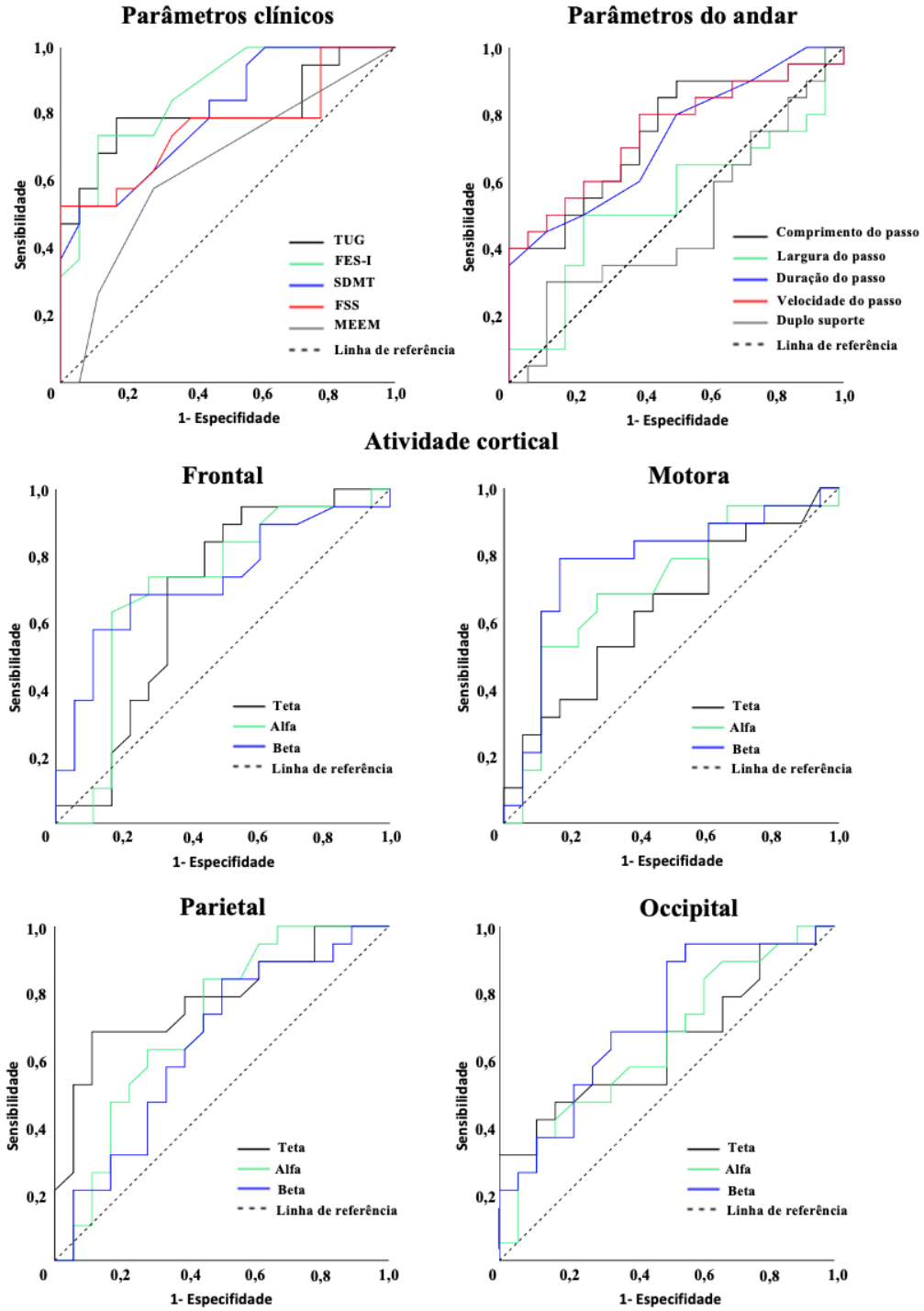
O p, a área sob a curva (AUC), sensibilidade, especificidade e os valores de corte da análise da curva ROC para todas as variáveis clínicas, parâmetros do andar e da atividade cortical, estão apresentados na Tabela 5 e Figura 9. Dentre as variáveis apresentadas, os classificadores significantes da EM fora: Clínicas (TUG, SDMT, FES-I e FSS), parâmetros do andar (comprimento do passo, velocidade do passo e duração do passo), atividade cortical (teta- motora, alfa- frontal e motora e beta- frontal, motora e occipital

Tabela 5. Valores da curva ROC sobre o desempenho dos classificadores da Esclerose Múltipla.

		p	AUC	Sensibilidade	Especificidade	Valores de corte
Avaliações clínicas						
TUG		**0,001**	**0,82**	**0,80**	**0,16**	**6,45**
SDMT		**0,002**	**0,80**	**0,84**	**0,44**	**60,50**
FES-I		**0,001**	**0,86**	**0,74**	**0,11**	**22,50**
FSS		**0,006**	**0,76**	**0,73**	**0,33**	**21,00**
MMSE		0,09	0,66	0,30	0,11	28,50
Parâmetros do andar						
Comprimento do passo (cm)		**0,011**	**0,742**	**0,85**	**0,44**	**70,90**
Largura do passo (cm)		0,661	0,541	0,50	0,22	9,56
Duração do passo (s)		**0,018**	**0,725**	**0,60**	**0,39**	**0,51**
Velocidade do passo (cm/s)		**0,009**	**0,747**	**0,80**	**0,39**	**135,30**
Duplo suporte (%)		0,838	0,481	0,30	0,11	39,93
Atividade cortical						
Área Frontal	**θ**	0,068	0,675	0,73	0,33	0,89
	α	**0,032**	**0,706**	**0,73**	**0,27**	**0,74**
	β	**0,019**	**0,727**	**0,68**	**0,22**	**0,99**
Área Motora	**θ**	0,153	0,637	0,63	0.,39	0,58
	α	**0,03**	**0,709**	**0,68**	**0,27**	**0,51**
	β	**0,004**	**0,775**	**0,79**	**0,16**	**0,80**
Área Parietal	**θ**	**0,003**	**0,782**	**0,68**	**0,11**	**1,29**
	α	**0,027**	**0,713**	**0,63**	**0,27**	**0,59**
	β	0,118	0,651	0,73	0,44	0,92
Área Occipital	**θ**	0,129	0,646	0,52	0,33	1,18
	α	0,114	0,652	0,57	0,38	0,61
	β	**0,024**	**0,718**	**0,68**	**0,33**	**1,08**

Abreviações: pessoas com Esclerose Múltipla (PcEM); Grupo Controle (GC); *Timed-up-go* (TUG); *falls efficacy Scale- International* (FES-I); Mini Exame do Estado Mental (MEEM); *Fatigue Severity Scale* (FSS); Questionário Internacional de Atividade Física (IPAQ); *Symbol digit Modality Test* (SDMT); teta (θ); alfa (α); beta (β); Cohen'd (d). Em negrito estão representadas as diferenças significativas.

Figura 9. Curva ROC dos classificadores da esclerose múltipla para as variáveis clínicas, parâmetros do andar e da atividade cortical. *Timed-up-go* (TUG); *falls efficacy Scale-International* (FES-I); Mini Exame do Estado Mental (MEEM); *Fatigue Severity Scale* (FSS); *Symbol digit Modality Test* (SDMT).



3.4 Discussão

Nós investigamos a correlação entre um fator Neurotrófico- BDNF, e os parâmetros do andar e da atividade cortical em pcEM. Primeiramente, pcEM apresentaram menor

concentração de BDNF do que o GC, confirmando achados anteriores (VĂCĂRAŞ; MAJOR; BUZOIANU, 2017). Em segundo lugar, o principal achado de nosso estudo foi que as pcEM apresentaram correlações moderadas-positivas entre a concentração de BDNF com os parâmetros do andar (comprimento do passo e velocidade do passo), correlações moderada-negativa com a mobilidade funcional (TUG) e, com a atividade cortical (forte-negativa (teta-motora) e negativa-moderada (beta-motora)), confirmando nossa hipótese. Em terceiro lugar, ao contrário de achados anteriores (DAMASCENO et al., 2015; GENCER et al., 2019), a concentração de BDNF foi moderadamente correlacionada (negativa) com as escalas de incapacidade (EDSS e PDDS). A concentração de BDNF foi ainda correlacionada positivamente-moderada com o SDMT no grupo pcEM, confirmando o papel do BDNF na cognição (ANASTASIA; HEMPSTEAD, 2014; PATANELLA et al., 2010). Nos próximos parágrafos, nós focamos em como as correlações e os classificadores da EM observadas, através da análise da curva ROC, estão relacionadas com a EM; porque o comprimento do passo e a velocidade do passo foram correlacionadas com o BDNF e não com outros parâmetros do andar e; porque especificamente a área cortical motora (bandas teta e beta) foi correlacionada com o BDNF.

Os melhores classificadores da EM e que foram significativamente correlacionados com o BDNF (correlações moderadas a forte) foram o TUG, velocidade do passo, comprimento do passo e a atividade cortical beta-motora. Especificamente, o TUG é um teste de mobilidade funcional para as pcEM (SEBASTIÃO et al., 2016), além de estimar a atrofia cerebral nessa população (LOREFICE et al., 2017). Um estudo recente de Allali e coolaboradores (2020) também observaram que o TUG é associado a cadeia leve de neurofilamento (NfL), o qual é um importante biomarcador de dano axonal em pcEM (TEUNISSEN; KHALIL, 2012). Com isso, considerando esses importantes achados (ALLALI et al., 2020; LOREFICE et al., 2017) com a correlação moderada entre o TUG e o BDNF e com o TUG como um bom classificador

da EM, conforme observado na análise da curva ROC em nosso estudo, é possível afirmar que o TUG também deve ser usado como um bom biomarcador da EM. Desse modo, o TUG parece ser uma boa ferramenta para identificar o status de incapacidade na EM, assim como para identificar a progressão da EM. Além disso, os parâmetros do andar também parecem ser uma boa ferramenta para esse propósito.

A velocidade do passo e o comprimento do passo são dois dos mais sensíveis parâmetros do andar para detectar mudanças durante a progressão da EM. Por exemplo, Preiningerova e coolaboradores (2015) observaram que a velocidade do passo pode ser usado como um parâmetro único do andar para discriminar as pcEM em diferentes níveis de incapacidade, enquanto o comprimento do passo é capaz de discriminar apenas aqueles entre pontuação de 2 a 6 na escala do EDSS. Quando comparado com indivíduos saudáveis, as pcEM frequentemente apresentam menor comprimento do passo e velocidade do passo (COMBER; GALVIN; COOTE, 2016; REMELIUS et al., 2012; SANTINELLI et al., 2020). Entretanto, embora bem documentado as deficiências no andar em pcEM, nenhum estudo abordou ou confirmou que os parâmetros do andar poderiam ser eficientes biomarcadores da EM. A correlação moderada com a concentração de BDNF e com o comprimento do passo e com a velocidade do passo poderiam dar uma nova visão e reforçar o papel dessas duas variáveis para detectar a progressão da EM e ser definidas como biomarcadores. Além disso, é possível que pcEM apresentando maior concentração de BDNF, tenham menor número de lesões no SNC, principalmente no trato piramidal, e menores níveis de incapacidade, o que poderia impactar tanto os parâmetros da marcha quanto a atividade cortical.

O trato piramidal (e.g., trato corticoespinal) é essencial para que o músculo receba informações adequadas provenientes do córtex motor primário. As lesões observadas no trato piramidal das pcEM, requerem maior atividade do córtex motor primário para realizar uma tarefa manual (ROCCA et al., 2004), o que também parece acontecer durante a tarefa do andar,

como observada nesse estudo. Essa maior atividade cortical é provavelmente um mecanismo compensatório para suprimir as lesões no SNC, principalmente no trato piramidal (SANTINELLI et al., 2020). De fato, Kalron & Givon (2016), observaram que o dano no sistema piramidal é um componente-chave negativo para a deficiência do andar em pcEM. Na mesma linha, Sebastião e coolaboradores (2016) observaram uma forte correlação entre o TUG e o componente piramidal do EDSS. Conforme o número de lesões aumenta, o BDNF diminui (FROTA et al., 2012) e com os benefícios do BDNF para o SNC (e.g., neurogênese, neuroplasticidade e produção de oligodendrócitos) (ANASTASIA; HEMPSTEAD, 2014), tais mecanismos compensatórios do córtex motor podem ser atenuados em pcEM que apresentam maior concentração de BDNF. Outra possível explicação para as correlações encontradas, é a natureza das frequências das bandas de EEG analisadas. Por exemplo, a atividade na banda teta é presente quando uma tarefa precisa de processo de atenção ou de memória de trabalho e é associada positivamente à carga de trabalho cognitiva. Da mesma forma, a atividade beta está relacionada ao maior estado de alerta e atenção concentrada (CAMPISI; ROCCA, 2014). Para tanto, é possível que as pcEM com menor concentração de BDNF requeiram maior demanda cognitiva do córtex motor para realizar a tarefa do andar. Além disso, assim como o TUG e os parâmetros de comprimento do passo e velocidade do passo, a atividade cortical motora beta parece ser um biomarcador razoável da EM.

De acordo com Paul e coolaboradores (2019), um bom biomarcador da EM é caracterizado por "1) Ser de fácil mensuração e confiável, usando testes precisos e robustos em diferentes localidades, (2) ter alta sensibilidade e especificidade, (3) ser correlacionado com a biologia ou patogênese, como atividade inflamatória, o grau de neurodegeneração, desmielinização ou remielinização, e (4) ser econômica". Exceto para a atividade cortical, que não é custo-efetiva, a mobilidade funcional (TUG) e os parâmetros do andar possuem as quatro características para serem classificados como bons biomarcadores da EM. São de fácil

mensuração e confiável, tem sensibilidade e especificidade relativamente altas, além de se associar a um importante fator neurotrófico (BDNF), e apresentar um baixo custo para ser realizado. No entanto, recomendamos estudos futuros para confirmar e validar esses parâmetros como bons biomarcadores da EM.

Nosso estudo descreve interessantes achados; entretanto, os mesmos devem ser interpretados com cuidado devido a algumas limitações. Como acreditamos que este seja o primeiro estudo com tais propósitos, mais estudos são necessários para confirmar nossos achados usando uma amostra mais heterogênea de pcEM (e.g., formas progressivas da EM). Nosso estudo só recrutou sujeitos apresentando a forma remitente-recorrente da doença. Ainda, embora o BDNF seja um importante biomarcador da EM sua concentração pode ser afetada por vários fatores como qualidade do sono, humor, gênero e/ou aptidão física. Em nosso estudo, todas as amostras de sangue coletadas para análise do BDNF foram realizadas no período da manhã e em jejum, no entanto, nossa análise não foi controlada para os fatores mencionados acima. Outro ponto a ser considerado é que não mensuramos os locais das lesões no SNC das pcEM, o que poderia fortalecer os nossos achados. Apesar das limitações, fomos capazes de fornecer novas evidências preliminares das associações entre BDNF, TUG, parâmetros do andar e da atividade cortical que devem ajudar médicos e outros profissionais de saúde em programas de reabilitação nesta população.

3.5 Conclusão

Em pcEM, a concentração de BDNF foi associada com diferentes variáveis: 1) Escalas de incapacidade (EDSS e PDDS), 2) Avaliações clínicas (SDMT e FES-I), 3) Mobilidade funcional e parâmetros do andar (TUG, comprimento do passo e velocidade do passo, respectivamente) e, 4) Atividade cortical (bandas beta/teta motora). Esses resultados fornecem importantes ferramentas para os profissionais da saúde para detectar mudanças sutis em relação

a progressão da EM. Entretanto, embora os resultados promissores, nós recomendamos usar esses parâmetros associados com escalas bem validadas (e.g., EDSS ou PDDS) ou protocolos padrão-ouro (e.g., ressonância magnética) para confirmar a progressão da EM.

3.6 Referências

ALLALI, G. et al. Serum neurofilament light chains in MS: Association with the Timed Up and Go. **Neurology(R) neuroimmunology & neuroinflammation**, v. 7, n. 6, 2020.

ANASTASIA, A.; HEMPSTEAD, B. L. BDNF function in health and disease poster. **Nature Reviews. Neuroscience**, p. 4866, 2014.

CAMPISI, P.; ROCCA, D. LA. Brain waves for automatic biometric-based user recognition. **IEEE Transactions on Information Forensics and Security**, v. 9, n. 5, p. 782–800, 2014.

CASTELLANO, V.; WHITE, L. J. Serum brain-derived neurotrophic factor response to aerobic exercise in multiple sclerosis. **Journal of the Neurological Sciences**, v. 269, n. 1–2, p. 85–91, 2008.

COHEN, J. **Statistical power analysis for the behavioral sciences - 2nd ed**. [s.l: s.n.].

COMBER, L.; GALVIN, R.; COOTE, S. Gait deficits in people with multiple sclerosis: A systematic review and meta-analysis. **Gait & Posture**, v. 51, p. 25–35, 2016.

DAMASCENO, A. et al. Serum BDNF levels are not reliable correlates of neurodegeneration in MS patients. **Multiple Sclerosis and Related Disorders**, v. 4, n. 1, p. 65–66, 2015.

DE DAVID, A. C. et al. Validation of the Brazilian version of the patient-determined disease steps scale in persons with multiple sclerosis. **Multiple Sclerosis and Related Disorders**, v. 30, n. November 2018, p. 208–214, 2019.

DELORME, A. et al. EEGLAB, SIFT, NFT, BCILAB, and ERICA: New tools for advanced EEG processing. **Computational Intelligence and Neuroscience**, v. 2011, 2011.

DU, Y. et al. Regionally specific effects of BDNF on oligodendrocytes. **Developmental Neuroscience**, v. 25, n. 2–4, p. 116–126, 2003.

FOLSTEIN, M. F.; FOLSTEIN, S. E.; MCHUGH, P. R. “Mini-mental state”. A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. **Journal of Psychiatric**

Research, v. 12, n. 3, p. 189–198, 1975.

FROTA, E. R. C. et al. Increased plasma levels of brain derived neurotrophic factor (BDNF) after multiple sclerosis relapse. **Neuroscience Letters**, v. 460, n. 2, p. 130–132, 2009.

FROTA, E. R. C. et al. Serum levels of brain-derived neurotrophic factor correlate with the number of T2 MRI lesions in multiple sclerosis. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 45, n. 1, p. 68–71, 2012.

GENCER, M. et al. Serum orexin-A levels are associated with disease progression and motor impairment in multiple sclerosis. **Neurological Sciences**, v. 40, n. 5, p. 1067–1070, 2019.

GIVON, U.; ZEILIG, G.; ACHIRON, A. Gait analysis in multiple sclerosis: Characterization of temporal-spatial parameters using GAITRite functional ambulation system. **Gait and Posture**, v. 29, n. 1, p. 138–142, 2009.

ISLAS-HERNANDEZ, A. et al. BDNF and Tau as biomarkers of severity in multiple sclerosis. **Biomarkers in Medicine**, v. 12, n. 7, p. 717–726, 2018.

KALRON, A.; GIVON, U. Gait characteristics according to pyramidal, sensory and cerebellar EDSS subcategories in people with multiple sclerosis. **Journal of Neurology**, v. 263, n. 9, p. 1796–1801, 2016.

KURTZKE, J. F. Rating neurologic impairment in multiple sclerosis: An expanded disability status scale (EDSS). **Neurology**, v. 33, n. 11, p. 1444–1452, 1983

KRUPP, L. B. The Fatigue Severity Scale. **Archives of Neurology**, v. 46, n. 10, p. 1121, 1989.

KSIAZEK-WINIAREK, D. J.; SZPAKOWSKI, P.; GLABINSKI, A. Neural Plasticity in Multiple Sclerosis: The Functional and Molecular Background. **Neural Plasticity**, v. 2015, 2015.

LOREFICE, L. et al. 'Timed up and go' and brain atrophy: a preliminary MRI study to assess functional mobility performance in multiple sclerosis. **Journal of Neurology**, v. 264, n. 11, p. 2201–2204, 2017.

MATSUDO, S. et al. Questionário Internacional De Atividade Física (Ipaq): Estupo De Validade E Reprodutibilidade No Brasil. **Revista Brasileira de Atividade Física & Saúde**, v. 6, n. 2, p. 5–18, 2012.

MCDONALD, W. I. et al. Recommended diagnostic criteria for multiple sclerosis: Guidelines from the International Panel on the Diagnosis of Multiple Sclerosis. **Annals of Neurology**,

v. 50, n. 1, p. 121–127, 2001.

PARK, H.; POO, M. M. Neurotrophin regulation of neural circuit development and function. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 14, n. 1, p. 7–23, 2013.

PATANELLA, A. K. et al. Correlations between peripheral blood mononuclear cell production of BDNF, TNF-alpha, IL-6, IL-10 and cognitive performances in multiple sclerosis patients. **Journal of Neuroscience Research**, v. 88, n. 5, p. 1106–1112, 2010.

PAUL, A.; COMABELLA, M.; GANDHI, R. Biomarkers in multiple sclerosis. **Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine**, v. 9, n. 3, p. 51–58, 2019.

PETERSON, D. S.; FLING, B. W. How changes in brain activity and connectivity are associated with motor performance in people with MS. **NeuroImage: Clinical**, v. 17, n. September 2017, p. 153–162, 2018.

PREININGEROVA, J. L. et al. Spatial and temporal characteristics of Gait as outcome measures in multiple sclerosis (EDSS 0 to 6.5). **Journal of NeuroEngineering and Rehabilitation**, v. 12, n. 1, p. 1–7, 2015.

REMELIUS, J. G. et al. Gait impairments in persons with multiple sclerosis across preferred and fixed walking speeds. **Archives of Physical Medicine and Rehabilitation**, v. 93, n. 9, p. 1637–1642, 2012.

ROCCA, M. A. et al. Pyramidal tract lesions and movement-associated cortical recruitment in patients with MS. **NeuroImage**, v. 23, n. 1, p. 141–147, 2004.

SANTINELLI, F. B. et al. Cortical activity and gait parameters characteristics in people with multiple sclerosis during unobstructed gait and obstacle avoidance. **Under Review**, 2020.

SEBASTIÃO, E. et al. Validity of the Timed Up and Go Test as a Measure of Functional Mobility in Persons with Multiple Sclerosis. **Archives of Physical Medicine and Rehabilitation**, v. 97, n. 7, p. 1072–1077, 2016.

SMITH, A. Symbol digit modalities test: Manual. **Western Psychological Services**, 1982.

TEUNISSEN, C. E.; KHALIL, M. Neurofilaments as biomarkers in multiple sclerosis. **Multiple Sclerosis Journal**, v. 18, n. 5, p. 552–556, 2012.

THOMPSON, A. J. et al. Multiple sclerosis. **The Lancet**, v. 391, n. 10130, p. 1622–1636, 2018a.

THOMPSON, A. J. et al. Diagnosis of multiple sclerosis: 2017 revisions of the McDonald

criteria. **The Lancet Neurology**, v. 17, n. 2, p. 162–173, fev. 2018b.

VĂCĂRAŞ, V.; MAJOR, Z. Z.; BUZOIANU, A. D. Brain-derived neurotrophic factor levels under chronic natalizumab treatment in multiple sclerosis. A preliminary report. **Neurologia i Neurochirurgia Polska**, v. 51, n. 3, p. 221–226, 2017.

VALET, M. et al. Timed Up-and-Go and 2-Minute Walk Test in patients with multiple sclerosis with mild disability: Reliability, responsiveness and link with perceived fatigue. **European Journal of Physical and Rehabilitation Medicine**, v. 55, n. 4, p. 450–455, 2019.

YARDLEY, L. et al. Development and initial validation of the Falls Efficacy Scale-International (FES-I). **Age and Ageing**, v. 34, n. 6, p. 614–619, 2005.

CAPÍTULO 4

A VITAMINA D PODERIA MELHORAR OS PARÂMETROS DA MARCHA E DA ATIVIDADE CORTICAL EM PESSOAS COM ESCLEROSE MÚLTIPLA? UM ESTUDO TRANSVERSAL

Felipe Balistieri Santinelli, Emerson Sebastião, Paula Favaro Polastri, Sérgio Tosi Rodrigues, Vanessa Teixeira do Amaral, Paulo Noronha Lisboa-Filho, Luiz Henrique Palucci Vieira, Marcela de Oliveira, Fabio Augusto Barbieri

SUBMETIDO PARA A MULTIPLE SCLEROSIS AND RELATED DISORDERS

Estudo 3- A vitamina D poderia melhorar os parâmetros da marcha e da atividade cortical em pessoas com Esclerose Múltipla? Um estudo transversal

RESUMO

Introdução: A deficiência de vitamina D vem sendo associada ao aparecimento da Esclerose Múltipla (EM). Por outro lado, altas concentrações de vitamina D tem mostrado efeitos positivos nos sistemas neural e motor e na remielinização dos neurônios na EM. Assim, nós hipotetizamos que altas concentrações de vitamina D poderiam estar associados com melhores parâmetros do andar (aspectos motor e neural) em pessoas com EM (pcEM). **Objetivo:** Investigar a correlação entre a concentração de vitamina D e os parâmetros do andar em pcEM, e comparar os parâmetros do andar e da atividade cortical entre pcEM com (EMD) e sem (EMsD) suplementação de vitamina D. **Método:** Vinte pcEM (10 EMD e 10 EMsD) e 16 controles saudáveis (GC) andaram em um ritmo auto selecionado em um caminho de 8,5 m. Parâmetros espaço-temporais do andar e da atividade cortical foram adquiridos usando câmeras 3D (*Vicon Motion System*®- 200 Hz) e um eletroencefalograma (eegosportstm, ANT Neuro, 1024 Hz), respectivamente. O comprimento do passo, velocidade do passo, duração do passo, largura do passo e porcentagem de duplo suporte foram calculados para os parâmetros espaço-temporais do andar. Ainda, a atividade cortical foi mensurada em 4 áreas corticais (frontal, motora, parietal e occipital) em três diferentes bandas de frequência (teta, alfa e beta). A vitamina D sérica foi medida através do procedimento de imunoensaio quimioluminescente. Correlações de Pearson (r) foram realizadas para as pcEM entre a concentração de vitamina D e os parâmetros espaço-temporais do andar e as variáveis da atividade cortical. Além disso, uma ANOVA e MANOVA de uma via para comparação entre os grupos dos parâmetros espaço-temporais do andar e da atividade cortical, respectivamente, foi realizada. **Resultados:** A vitamina D não foi correlacionada com os parâmetros espaço-temporais do andar e com a atividade cortical. Não houve diferença dos parâmetros do andar entre o grupo EMD e GC, enquanto o grupo EMsD apresentou menor comprimento e velocidade do passo comparado ao GC. Maior atividade cortical foi também observada para o EMsD nas áreas frontal, motora, parietal e occipital quando comparado com o GC. Não houve diferença entre os grupos com EM para os parâmetros do andar e da atividade cortical. **Conclusão:** A concentração de vitamina D não foi associada com os parâmetros do andar e da atividade cortical em pcEM. Embora nenhuma correlação foi observada, o desempenho similar do andar e da atividade cortical entre o EMD e o GC sugerem um efeito positivo da suplementação da vitamina D no andar na EM.

4.1 Introdução

A marca patológica da esclerose múltipla (EM) é o processo de desmielinização que ocorre dentro do sistema nervoso central (SNC) (DUTTA; TRAPP, 2011). Paralelo ao processo de desmielinização, uma atrofia cerebral acentuada também é observada nessa população, com uma taxa de atrofia anual por volta de 1% (TRAPP et al., 2018) - enquanto indivíduos saudáveis apresentam por volta de 0,3% (BARKHOF et al., 2009). Tanto o processo de desmielinização quanto a atrofia cerebral são associados com deficiências motoras em pessoas com EM (pcEM) (VAN MUNSTER et al., 2015). Embora não haja um consenso sobre o que começa esse processo patológico da EM o corpo de evidência sobre o assunto vem crescendo nos últimos anos. É conhecido que a genética (gene HLA DRB1*15:01) e fatores ambientais são ambos fatores responsáveis pela EM (THOMPSON et al., 2018), com a deficiência de vitamina D (1,25-hydroxyvitamia D), ou como um resultado de baixa exposição ao sol ou baixa produção natural, sendo especulado como importante desencadeador do início da EM (MARRIE, 2004). Ainda, há também evidências que a vitamina D poderia ajudar na atenuação da progressão da EM.

Muitos benefícios da vitamina D para as pcEM foram encontrados recentemente, em grande parte devido à função do receptor de vitamina D (*Vitamin D Receptor*- VDR). Por exemplo, o VDR é encontrado no músculo esquelético e ajuda na síntese de proteína (BISCHOFF et al., 2001). O VDR também é encontrado no SNC, principalmente no cérebro (DE LA FUENTE et al., 2015) e também possui diversas funções neurais. Por exemplo, a forma ativa da vitamina D (1,25-dihydroxyvitamina D3 - $1,25(OH)_2D_3$), que é atividade pela enzima 1α-hydroxylase e também encontrada no cérebro (EYLES et al., 2005), liga-se ao VDR dentro do cérebro, aumentando as células progenitoras de oligodendrócitos (DE LA FUENTE et al., 2015), que produz a diferenciação de oligodendrócitos em oligodendrócitos maduros (MOYON et al., 2015). Esse efeito benéfico neural poderia explicar os resultados observados

em um grande estudo prospectivo. Ascherio e colaboradores (2015) observaram que altas concentrações de vitamina D parecem diminuir a taxa de atrofia cerebral em pcEM. Estudos recentes também sugerem que altas concentrações de vitamina D, associados com terapias modificadoras da doença (*Disease-modifying therapy*- DMT), diminuem a incidência de recaídas em pcEM (LAURSEN et al., 2016; MCLAUGHLIN et al., 2018). Especificamente para pcEM com plena capacidade deambulatória e sem suplementação de vitamina D, uma associação inversa entre a vitamina D e o nível de incapacidade foi observada (r^2=0,33) (THOUVENOT et al., 2015). Para indivíduos neurologicamente saudáveis, Pirotta, Kidgell e Daly (2014) observaram uma melhora na eficácia da transmissão neural na via corticoespinal e na força muscular em idosos com maior concentração de vitamina D. Similarmente, Muir e Montero-Odasso (2011) encontraram que a vitamina D é capaz de melhorar o equilíbrio e a mobilidade funcional no envelhecimento. Considerados os efeitos positivos de altas concentrações de vitamina D em ambos os sistemas neural e motor e no processo de remielinização dos neurônios na EM, podemos hipotetizar que a concentração mais alta de vitamina D atenuaria os comprometimentos do andar (aspectos motores e neurais) em pcEM.

Cerca de 85% das pcEM relatam comprometimento do andar (LAROCCA, 2011). Este sintoma é observado mesmo nos estágios iniciais da doença (MARTIN et al., 2006) e tende a piorar à medida que os níveis de deficiência aumentam (PREININGEROVA et al., 2015). As características do andar de pcEM incluem caminhar com menor comprimento do passo e menor velocidade do passo, maior tempo de duplo suporte e maior variabilidade do andar do que seus pares saudáveis (CHUNG et al., 2016; COMBER; GALVIN; COOTE, 2016; GIANFRANCESCO et al., 2011; KALRON, 2015; MARTIN et al., 2006; PREININGEROVA et al., 2015; REMELIUS et al., 2012; WAJDA; MOTL; SOSNOFF, 2013). Uma das causas da teoria da deficiência do andar em pcEM é a perda na automaticidade da marcha, causada por danos nas estruturas subcorticais do SNC (CLARK, 2015; ROCCA et al., 2004; SANTINELLI

et al., 2020). Por exemplo, durante o andar normal, as pcEM apresentam maior ativação cortical nas regiões pré-frontal (CHAPARRO et al., 2017), pré-motora e motora suplementar (SALEH et al., 2018) e maior potência nas bandas de frequência teta (área parietal), alfa e beta (área frontal e parietal) (SANTINELLI et al., 2020). Para este fim, a recuperação (ou redução da degeneração) na bainha de mielina é crítica para reduzir os prejuízos da marcha nas PcEM.

O presente estudo visa, portanto, i) investigar a associação entre a concentração de vitamina D, características do andar (respostas neurais e motora) e variáveis clínicas em pcEM, ii) comparar os parâmetros do andar e a atividade cortical entre pcEM sob suplementação de vitamina D há pelo menos um ano e pcEM sem suplementação de vitamina D. Nós hipotetizamos uma correlação moderada entre a concentração de vitamina D e os parâmetros motores/neurais do andar em pcEM (e.g., maior concentração de vitamina D correlacionada a uma maior velocidade de passo e atividade cortical reduzida). Além disso, nós esperamos que as pcEM com maior concentração de vitamina D mostrasse melhor desempenho no andar, demonstrado por diferentes parâmetros (e.g., maior comprimento e velocidade do passo e menor atividade cortical) do que pcEM com menor concentração de vitamina D, sem diferenças para indivíduos neurologicamente saudáveis. Por outro lado, espera-se que PcEM com menor concentração de vitamina D apresente comprometimento do comportamento do andar quando comparado ao grupo neurologicamente saudável.

4.2 Métodos

Esse foi um estudo de desenho transversal. Os procedimentos de avaliação foram realizados em uma única visita e padronizados no período da manhã. Os participantes foram orientados a evitar qualquer tipo de atividade física vigorosa por pelo menos 48 horas antes das avaliações da marcha e da atividade cortical. Os procedimentos foram aprovados pelo Comitê

de Ética local (#99191318.0.0000.5398) e todos os participantes assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido antes da coleta de dados.

4.2.1 Participantes

Trinta e oito indivíduos entre as idades de 18 e 55 anos foram recrutados para participar do presente estudo (12 pcEM não tomando vitamina D (EMsD); 10 pcEM tomando vitamina D (EMD- dose diária de 5000-10000 Ui, 8200±2394 Ui) e 16 controles saudáveis (GC). Os critérios comuns adotados para as pcEM incluíram: pontuação ≤ 4,5 pontos na *Expanded Disability Status Scale* (EDSS) (KURTZKE, 1983) e ≤ 4 pontos na *Patients Determined Disease Steps Scale* (PDDS) (DE DAVID et al., 2019); não ter apresentado recaídas nos últimos três meses prévios do dia de avaliação e não estar sob o tratamento de fampridina. Os participantes dos três grupos não deveriam apresentar declínio cognitivo (verificado através do Mini-Exame do Estado Mental- MEEM- ≥24) (FOLSTEIN; FOLSTEIN; MCHUGH, 1975), não apresentar problemas ortopédicos, musculares, cardíacos e cerebelares que poderiam interferir no protocolo experimental. O teste de mobilidade funcional (*Timed-up-go* TUG) (SEBASTIÃO et al., 2016), o teste de velocidade de processamento de informação (*Symbol digit modalities test*- SDMT) (BENEDICT et al., 2017), os questionários de medo de quedas (*Falls efficacy Scale- International*- FES-I) (VAN VLIET et al., 2013; YARDLEY et al., 2005) e de sintoma de fadiga (*Fatigue Severity Scale*- FSS) (KRUPP, 1989) foram avaliados. Duas pcEM do grupo EMsD não cumpriram os critérios de inclusão e foram excluídos do estudo. Todos os participantes com EM apresentavam a forma da EM remitente-recorrente.

4.2.2 Análise de vitamina D

Dois profissionais de saúde (uma biomédica e uma enfermeira) conduziram as coletas sanguíneas. Quatro ml de amostra sanguínea de uma veia do braço foram coletados utilizando

um tubo seco (sem fator anticoagulante) para mensurar a vitamina D (25-hidroxivitamina D (25(OH)D)). As amostras sanguíneas foram então centrifugadas a 3500 RPM por 10 minutos. A substância sobrenadante (soro) foi então coletada e analisada pela técnica de imunoensaio quimioluminescente para a determinação da concentração de 25(OH)D no soro sanguíneo. Os níveis são apresentados em ng/mL (1 ng/mL = 2,496 nmol/L).

4.2.3 Avaliações do andar e do eletroencefalograma

As aquisições do andar foram realizadas utilizando um sistema tridimensional com 10 câmeras infravermelho (Vicon Motion System®) a 200 frames/s. Trinta e nove marcadores passivos reflexivos foram posicionados aos participantes seguindo o modelo *Plug-in-Gait Full Body* (Vicon®). Os participantes foram instruídos a caminhar em seu ritmo auto selecionado em uma passarela de 8,5 m de comprimento x 1,5 m de largura. Os participantes realizaram um total de 10 tentativas. A passarela foi coberta com um tapete da cor preta, sem nenhuma informação visual ou obstáculo durante a rota.

A atividade cortical foi gravada simultaneamente durante as tentativas. Os participantes vestiram uma toca (WaveGuard™) com 64 eletrodos ativos de acordo com o posicionamento 10-10 do sistema internacional de posicionamento de eletrodos. Todos os procedimentos seguiram as recomendações da companhia do EEG (eegosportstm, ANT Neuro, Enschede, Netherlands). Os dados foram gravados com uma taxa de amostragem de 1024 Hz. O software EEGOTM (V. 1.9, ANT Neuro, Enschede, Netherlands) foi utilizado para gravar a atividade cortical. A impedância do EEG permaneceu abaixo de 10 Ω nos 64 eletrodos. Uma atividade cortical de baseline de 60 s foi obtida com os participantes sentados em uma cadeira e utilizada para normalizar os dados de EEG obtidos durante as tentativas do andar (WHITTIER et al., 2019).

4.2.4 Análise de dados

O software MATLAB® (Mathworks, Natick-MA) foi utilizado para o processamento dos dados do andar e do EEG.

A média dos 5 passos centrais foram analisados. O dado bruto do andar foi filtrado utilizando um filtro passa-baixa, Butterworth de quinta ordem (zero-lag), com uma taxa de corte em 6 Hz. O comprimento, largura, duração e velocidade do passo, e o tempo de duplo suporte (normalizado pela duração do passo) foram utilizados como parâmetros espaço-temporais do andar. Os marcadores localizados no segundo metatarso e no calcâneo de ambos os pés, foram utilizados para o cálculo dos parâmetros espaço-temporais do andar.

O software de fonte aberta EEGlab (DELORME et al., 2011) foi utilizado para analisar a informação do EEG. O dado bruto do EEG foi filtrado utilizando um filtro passa-banda com um limite inferior de corte em 1 Hz e um limite superior de corte em 50 Hz. Para detectar e limpar aparentes ruídos do sinal, uma inspeção visual foi realizada. Para remoção de canais ruins, os seguintes parâmetros foram adotados: amplitudes >400 μV e valores acima de quatro desvios padrões da média. O número de pontos foi diminuído para 512 pontos/s e o dado foi re-referenciado a média comum. Para a remoção de componentes de artefato adicionais, como movimento dos olhos, piscada, muscular, e outros potenciais artefatos, o *Independent Component Analysis* (ICA- Runica) foi realizado. A análise de *power spectral density* (PSD) foi realizada considerando três bandas de frequência: teta (θ): 4–7 Hz; alfa (α):8–12 Hz; beta (β): 13–30 Hz (YUVARAJ et al., 2014). Essas bandas de frequência foram escolhidas devido as suas características. Por exemplo, a banda teta está relacionada com demanda de memória, enquanto as bandas alfa e a beta estão relacionadas com estado de alerta e de atenção focada (CAMPISI; ROCCA, 2014). Quatro áreas corticais foram escolhidas para as análises (1) frontal (F3, F4 e Fz), (2) motora (C3, C4 e Cz), (3) parietal (P3, P4 e Pz) e occipital (O1, O2 e Oz) (PRESACCO; FORRESTER; CONTRERAS-VIDAL, 2012).

4.2.5 Análise estatística

Toda a análise foi conduzida utilizando o software SPSS, versão 26 (IBM Corporation, Armory, NY) e a significância foi estabelecida em $p<0,05$. Os testes de Shapiro-Wilk, Mauchly e Levene's atestaram para a normalidade, esfericidade e homogeneidade do dado, respectivamente. Para a comparação antropométrica (altura, idade, peso corporal), da concentração da vitamina D e do TUG, uma ANOVA de uma via foi utilizada. O teste não paramétrico de Kruskal-Wallis comparou o FES-I, SDMT, FSS, MEEM, EDSS, PDDS, tempo de diagnóstico e tempo da última recaída entre os grupos.

Somente para aqueles com EM correlações de Pearson foram realizadas entre a concentração de vitamina D e os parâmetros do andar, assim como para a atividade cortical. Os coeficientes de correlação 0,1, 0,3 e 0,5, foram interpretados como fraco, moderato e forte, respectivamente (COHEN, 1988).

Para testar se o grupo EMD apresentou melhor parâmetros do andar do que aqueles do grupo EMsD e GC, uma ANOVA de uma via com fator para grupo foi utilizada. A análise múltipla de variância (MANOVA) foi empregada para comparar os grupos quanto aos parâmetros de atividade cortical. O teste de post-hoc de Bonferroni foi utilizado, com níveis de significância ajustados, quando a ANOVA/MANOVA apresentaram significância. O eta-quadrado parcial foi utilizado como tamanho de efeito e interpretado como pequeno (>0,01), moderado (>0,06) e grande (>0,14) (COHEN, 1988).

4.3 Resultados

Na tabela 6 está presente os resultados de altura, massa corporal, idade, TUG e concentração de vitamina D. Nenhuma diferença significativa foi observada para a altura e massa corporal entre os grupos. Embora o EMsD fosse mais velho do que o grupo EMD, ambos

os grupos são considerados adultos jovens. Ambos os grupos com EM foram mais lentos no TUG do que o GC. Ainda, o EMsD e o GC apresentaram menor concentração de vitamina D do que o grupo EMD. Nenhuma diferença estatística foi observada para a concentração de vitamina D entre os grupos GC e EMsD.

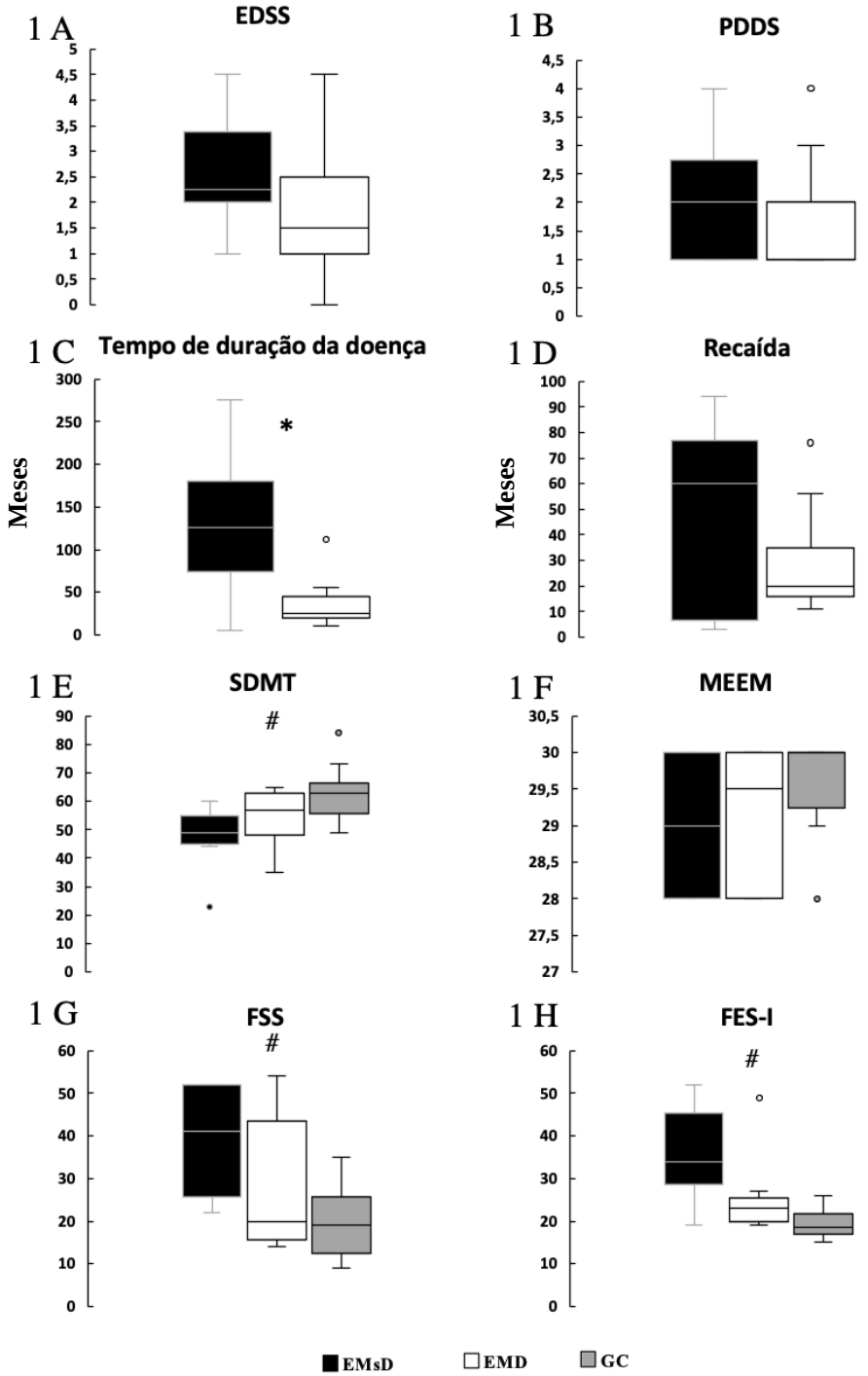
Tabela 6. Características gerais dos participantes. Metros (m); Kilogramas (Kg); Segundos (s); nanogramas (ng); mililitro (mL); Grupo Esclerose Múltiplas sem vitamina D (EMsD); Grupo Esclerose Múltipla com vitamina D (EMD); Grupo Controle (GC); 25-hydroxivitamina D (25(OH)D) * diferente do grupo EMD; # diferente do grupo GC. Valores estão reportados em média±desvio padrão.

	EMsD (n=10)	**EMD (n=10)**	**GC (n=16)**	**F**	**p**
Estatura (m)	1,6±0,1	1,7±0,1	1,7±0,1	1,663	0,204
Massa corporal (kg)	75,0±12,0	72,8±16,1	69,2±10,2	0,766	0,473
Idade (anos)	37,1±7,6*	28,9±6,9	31,5±5,2	4,708	0,015
TUG (s)	8,7±2,5$^{\#}$	8,1±3,1$^{\#}$	5,8±0,9	7,138	0,003
25(OH)D (ng/ml)	27,1±9,1*	66,1±37,1	24,1±4,3*	15,706	0,001

A Figura 10 mostra o *box plot* do EDSS, PDDS, duração da doença, tempo do último surto, MEEM, FSS, FES-I e SDMT. O nível de incapacidade – EDSS [Qui-quadrado (1) = 1,58, p=0,208] e PDDS [Qui-Quadrado (1) = 0,73, p=0,391] foram similares entre os grupos EM; o EMsD apresentou maior tempo de diagnóstico da doença (Figura 1C) [Qui-Quadrado (1) = 7,41, p<0,007]; e o tempo do último surto foi similar entre os grupos EM (Figura 1D) [Qui-Quadrado (1) = 0,322, p=0,577].

Os três grupos apresentaram o aspecto cognitivo preservado (MEEM), sem diferenças entre eles (Figura 1F) [Qui-quadrado (2) = 3,94, p=0,13]. O grupo EMsD apresentou menor velocidade de processamento de informação (SDMT- Figura 1E) [Chi-Square (2) = 10,67, p<0,005], maior sintoma de fadiga (FSS- Figura 1G) [Qui-quadrado (2) = 11,01, p<0,004] e maior medo de quedas (FES-I- Figura 1H) [Qui-Quadrado (2) = 18,63, p<0,001] do que o GC. O grupo EMD foi similar com o EMsD e GC para o SDMT, FSS e FES-I.

Figura 10. *Box plots* do: 1A- *Expanded disability status scale* (EDSS); 1B- *Patients Determined Disease Step Scale* (PDDS); 1C- Tempo de duração da doença; 1D- tempo da última recaída; 1E- *Symbol digit modalities test* (SDMT);1F- Mini-Exame do Estado Mental (MEEM); 1G- *fatigue severity scale* (FSS); 1H- *Falls Efficacy Scale- International* (FESI). Os pontos representam os *outliers* da análise. * Grupo EMsD diferente do grupo EMD; # EMsD diferente do grupo GC.



4.3.1 Correlação com a vitamina D

A concentração de vitamina D e dos parâmetros do andar e da atividade cortical, não apresentaram correlação para as pcEM. A única correlação observada foi relacionada ao tempo de duração da doença (Tabela 7).

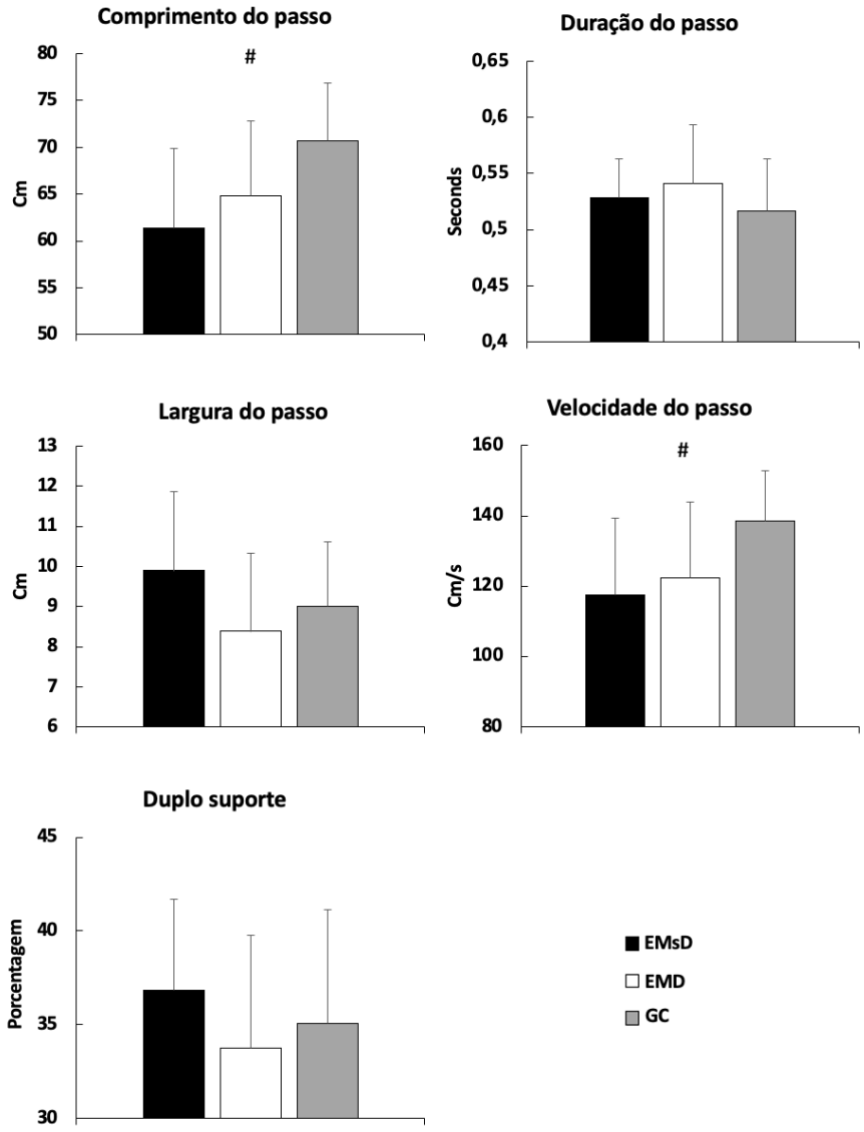
Tabela 7. Classificação das correlações entre a concentração de vitamina D e as avaliações clínicas, parâmetros do andar e atividade cortical para aqueles com EM. Em **negrito** está indicado correlação significante.

Categoria		*p*	r
Clínicas			
	EDSS	0,181	-0,320
	PDSS	0,348	-0,228
	Diagnóstico	**0,041**	**-0,472**
	Recaída	0,758	0,076
	SDMT	0,131	0,370
	FSS	0,195	-0,320
	FES-I	0,155	-0,350
	TUG	0,729	-0,085
Parâmetros do andar			
	Comprimento do passo	0,377	0,215
	Largura do passo	0,277	-0,263
	Duração do passo	0,436	0,190
	Velocidade do passo	0,687	0,099
	DS	0,807	0,060
Atividade cortical			
	Teta	0,528	-0,159
Frontal	Alfa	0,162	0,344
	Beta	0,849	-0,048
	Teta	0,325	-0,246
Motora	Alfa	0,778	-0,072
	Beta	0,740	-0,084
	Teta	0,205	-0,246
Parietal	Alfa	0,636	-0,120
	Beta	0,346	0,236
	Teta	0,616	-0,127
Occipital	Alfa	0,516	-0,164
	Beta	0,421	0,202

4.3.2 Parâmetros do andar

Os parâmetros do andar estão apresentados na Figura 11. A ANOVA indicou efeito significativo entre os grupos para o comprimento do passo [$F_{2,35}$=4,82, p<0,014] e velocidade do passo [$F_{2,35}$=5,11, p<0,012], e nenhuma diferença para a largura do passo [$F_{2,35}$=1,65, p<0,207], duração do passo [$F_{2,35}$=2,53, p<0,095] e duplo suporte [$F_{2,35}$=0,627, p<0,54]. O grupo EMsD andou mais devagar (p<0,016) e com menor comprimento do passo (p<0,015) do que o GC. Não houve diferença entre o EMD e GC, assim como para o EMD e o EMsD.

Figura 11. Valores de média (em barras) e desvio padrão (em linha) dos parâmetros do andar. Grupo Esclerose Múltiplas sem vitamina D (EMsD); Grupo Esclerose Múltipla com vitamina D (EMD); Grupo Controle (GC). # Grupo EMsD diferente do GC.



4.3.3 EEG

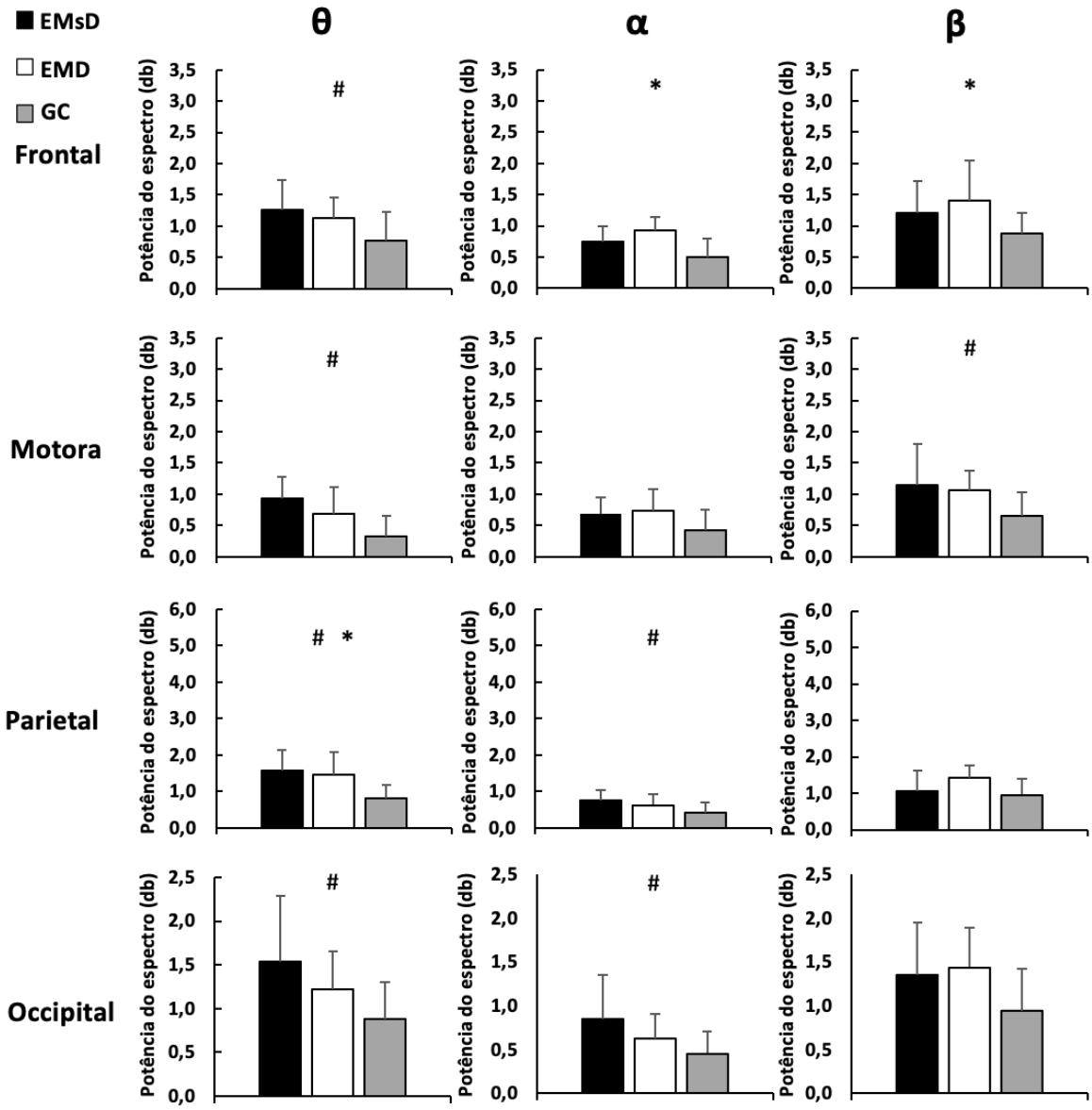
Um individuo do grupo EMD foi excluído da análise do EEG pois o equipamento do EEG não coletou o dado. A média e desvio padrão dos dados de EEG estão apresentados na figura 12.

Os grupos foram diferentes nas quatros áreas corticais analisadas: frontal, motora, parietal e occipital (tabela 8). O grupo EMsD apresentou maior uso de recurso cortical para andar quando comparado ao GC nas seguintes regiões: frontal (teta- $p<0,023$), motora (teta- $p<0,049$; beta- $p<0,033$), parietal (teta- $p<0,002$; alfa- $p<0,019$) e occipital (teta- $p<0,014$; alfa- $p<0,025$). Na mesma linha, maior atividade cortical foi observada para o grupo EMD quando comparado com o GC nas áreas frontal (alfa-$p<0,001$; beta-$p<0,035$) e parietal (teta-$p<0,016$). Os grupos EM não apresentaram diferença significativa para nenhuma área cortical e para nenhuma banda de frequência.

Tabela 8. Valores estatístico das variáveis da atividade cortical. Em **negrito** está representada as variáveis que apresentam diferenças significativas.

Regiões corticais	MANOVA	ANOVA
Frontal	**Wilks' Lambda=0,45, $F_{6,64}$=4,77, p<0,001, η^2=0,32**	**Teta: $F_{2,32}$=4,61, p<0,017, η^2=0,22**
		Alfa: $F_{2,32}$=8,37, p<0,001, η^2=0,34
		Beta: $F_{2,32}$=3,92, p<0,030, η^2=0,19
Motora	**Wilks' Lambda=0,67, $F_{6,64}$=2,16, p<0,050, η^2=0,18**	**Teta: $F_{2,32}$=3,20, p<0,050, η^2=0,17**
		Alfa: $F_{2,32}$=3,40, p<0,046, η^2=0,17
		Beta: $F_{2,32}$=4,41, p<0,020, η^2=0,22
Parietal	**Wilks' Lambda=0,54, $F_{6,64}$=3,54, p<0,001, η^2=0,26**	**Teta: $F_{2,32}$=8,51, p<0,001, η^2=0,34**
		Alfa: $F_{2,32}$=4,60, p<0,018, η^2=0,22
		Beta: $F_{2,32}$=2,18, p<0,129, η^2=0,12
Occipital	**Wilks' Lambda=0,66, $F_{10,60}$=2,27, p<0,048, η^2=0,18**	**Teta: $F_{2,32}$=4,69, p<0,016, η^2=0,22**
		Alfa: $F_{2,32}$=3,97, p<0,029, η^2=0,20
		Beta: $F_{2,32}$=3,52, p<0,041, η^2=0,18

Figura 12. Médias (em barras) e desvios padrão (em linha) do eletroencefalograma (EEG) nas bandas de frequências: teta (θ), alfa (α) e beta (β) nas áreas corticais frontal, motora, parietal e occipital. # Grupo EMsD diferente do GC; * Grupo EMD diferente do GC.



4.4 Discussão

No presente estudo, nós exploramos a correlação da concentração de vitamina D, dos parâmetros do andar, da atividade cortical e das variáveis clínicas em pcEM enquanto também comparamos os parâmetros do andar e da atividade cortical entre pcEM com e sem suplementação de vitamina D. Os principais achados do estudo foram: a) Nenhuma

correlação significativa entre a concentração de vitamina D, andar (espaço-temporal e atividade cortical) e variáveis clínicas (rejeitando nossa primeira hipótese), e b) Um benefício da suplementação de vitamina D nos parâmetros do andar e da atividade cortical. Embora a ausência de diferenças estatística entre os grupos EMD e EMsD nos parâmetros analisados, o grupo EMD não foi diferente do GC para os parâmetros espaço-temporais do andar. Isso pode sugerir algum benefício da vitamina D para os parâmetros do andar e da atividade cortical para essa população. Esse achado confirma parcialmente nossa segunda hipótese e evidencia um efeito positivo discutível do efeito da concentração de vitamina D nos parâmetros do andar (espaço-temporal e atividade cortical).

A concentração de vitamina D foi somente (moderadamente) correlacionado com o tempo de diagnóstico da EM (e.g., uma correlação inversa), sem correlação com os parâmetros espaço-temporais do andar e da atividade cortical. Smolders e colaboradores (2008) observaram uma relação entre a vitamina D e a pontuação no EDSS, mas somente para aqueles pacientes com um tempo de diagnóstico menor do que 5 anos. Esse achados foram também confirmados posteriormente por Thouvenot e colaboradores (2015), que também observaram uma associação negativa entre a concentração de vitamina D em pcEM com uma pontuação no EDSS menor do que 4 e com capacidade total deambulatória. Entretanto, diferentemente do nosso estudo, em ambos os estudos nenhum dos sujeitos suplementavam vitamina D e nós precisamos também considerar a divergência na quantidade de vitamina D ingeridas pelos nossos participantes (5000-10000 Ui). Além do que, a vitamina D possui vários potenciais fatores de confusão que são difíceis de controlar e podem ter influenciado na relação da sua concentração com os parâmetros do andar e da atividade cortical em nosso estudo, incluindo 1) clima sazonal (e.g., aumento da concentração de vitamina D durante o verão ou diminuição durante o

inverno), 2) exposição ao sol (e.g.,, mais ou menos exposição ao sol na última semana/mês pode diminuir/aumentar a concentração de vitamina D), 3) Cor da pele (e.g., pessoas negras têm menor concentração de vitamina D devido a quantidade de melanina na pele) e, 4) dieta (e.g., consumo de peixe) (ASCHERIO; MUNGER; SIMON, 2010).

Embora a concentração da vitamina D e os parâmetros do andar (espaço-temporal e atividade cortical) não forem correlacionados, nós devemos ser cautelosos sobre a concentração de vitamina D não ter nenhum efeito positivo sobre os parâmetros do andar. Consistentemente, estudos anteriores reportaram imparidades no andar de pcEM, tal como menor comprimento do passo e velocidade do passo (COMBER; GALVIN; COOTE, 2016; GIANFRANCESCO et al., 2011; KALRON, 2015; KALRON; GIVON, 2016; REMELIUS et al., 2012; SEBASTIÃO et al., 2018). As imparidades do andar nas pcEM são sugeridas como consequência do processo de desmielinização e da atrofia cerebral, o que requer maior uso do córtex para compensar a deficiência da EM em comparação com o GC (CHAPARRO et al., 2017; HERNANDEZ et al., 2016; SALEH et al., 2018). A maior atividade cortical poderia refletir um mecanismo compensatório para lidar com os danos subcorticais causados pela EM, principalmente relacionados com a automaticidade do andar (SANTINELLI et al., 2020). Embora nós não mensuramos as lesões no SNC e a atrofia cerebral, nós esperávamos/especulamos que a maior concentração de vitamina D poderiam diminuir esses aspectos ineficientes, melhorando os parâmetros espaço-temporais e da atividade cortical nas pcEM. Estudos anteriores reportaram que uma maior concentração de vitamina D é capaz de diminuir a atividade da doença (FITZGERALD et al., 2015), diminuir o número de lesões no SNC (MCLAUGHLIN et al., 2018) e diminuir a atrofia cerebral (ASCHERIO et al., 2015) naqueles com EM, os quais são importante fatores para o desempenho motor (VAN MUNSTER et al., 2015). O uso contínuo de vitamina D também melhora a excitabilidade

corticoespinal, considerando que o VDR está presente no SNC (PIROTTA; KIDGELL; DALY, 2014). Além disso, o VDR está presente na musculatura esquelética e auxilia na síntese proteica (BISCHOFF et al., 2001), melhorando a função muscular e a mobilidade (MUIR; MONTERO-ODASSO, 2011). Apesar de nós não encontrarmos diferenças entre os grupos EMD e EMsD, que não confirmou nossas expectativas, o grupo EMD não apresentou diferenças para o GC, enquanto o grupo EMsD apresentou. Esse achado pode sugerir um efeito positivo da suplementação de vitamina D nos parâmetros espaço-temporais e da atividade cortical do andar. Além do que, não houve diferença entre o grupo EMD e o GC para as avaliações clínicas, com o grupo EMsD apresentando maior medo de cair e sintoma de fadiga e menor velocidade de processamento de informação em comparação com o grupo GC. Esses achados reforçam os efeitos positivos de uma maior concentração de vitamina D em pcEM. Considerando esses aspectos, sugerimos um estudo longitudinal controlado, randomizado e duplo-cego sobre a suplementação de vitamina D para resolver essa questão.

O grupo EMsD aumentou a demanda atencional e cognitiva do córtex frontal, motor, parietal e occipital para caminhar do que o GC, com o grupo EMD apresentando apenas diferença para o GC na área frontal e parietal. Em um estudo anterior, Pirotta, Kidgell e Daly (2014) observaram uma diminuição na excitabilidade corticoespinal e inibição intracortical em pessoas idosas após um período de suplementação de vitamina D, sugerindo uma melhora na eficácia da transmissão neural. Ainda, a $1,25(OH)_2D_3$ aumenta a produção de oligodendrócitos dentro do cérebro (DE LA FUENTE et al., 2015), diminuindo a carga de lesões (MCLAUGHLIN et al., 2018) e a atrofia cerebral (ASCHERIO et al., 2015), o que poderia melhorar a resposta motora e cerebral em pcEM. Tomadas em conjunto, nossos resultados sugerem que a vitamina D potencializam a transmissão neural podendo haver atenuação da carga de lesões e atrofia cerebral no grupo

EMD, não exigindo aumento da atividade cortical para caminhar. Por outro lado, embora os grupos EM não foram diferentes, o aumento da atividade cortical para andar no grupo EMsD comparado com o GC, sugere um mecanismo compensatório para lidar com a ineficiência neural para manter o mesmo desempenho do andar do grupo EMD (RYPMA; BERGER; D'ESPOSITO, 2002), indicando que a capacidade de adaptação do andar está preservada em pcEM. Entretanto, mais uma vez, os efeitos positivos da vitamina D nos parâmetros do andar em pcEM é limitado, considerando que o grupo EMD também demanda maior atividade cortical para andar do que o GC nas áreas corticais frontal e parietal.

Nossos resultados devem ser interpretados com cuidado devido a algumas limitações. Primeiramente, nós recrutamos uma amostra relativamente pequena para cada grupo EM (10 pessoas no EMsD e 10 pessoas no EMD). Em segundo lugar, nós não controlamos o grupo EMD em acordo com a DMT. A DMT usada por cada participante poderia influenciar diretamente a resposta da suplementação de vitamina D (ROTSTEIN et al., 2015). Em terceiro lugar, nosso estudo foi desenhado como transversal, o que poderia não nos permitir observar de fato os efeitos da suplementação de vitamina D.

4.5 Conclusão

Em resumo, a concentração de vitamina D não teve nenhuma correlação com os parâmetros espaço-temporais e da atividade cortical do andar. Embora nenhuma correlação foi observada, o desempenho semelhante do andar e da atividade cortical entre o EMD e o GC, sugerem um potencial efeito positivo da concentração de vitamina D no andar na EM. A suplementação de vitamina D pode ser uma terapia alternativa para melhorar os parâmetros do andar e da atividade cortical em PcEM. Estudos futuros deveriam investigar esse efeito ao longo do tempo.

4.6 Referências

ASCHERIO, A. et al. Vitamin D as an early predictor of multiple sclerosis activity and progression. **JAMA**, v. 71, n. 3, p. 306–314, 2015.

ASCHERIO, A.; MUNGER, K. L.; SIMON, K. C. Vitamin D and multiple sclerosis. **The Lancet Neurology**, v. 9, n. 6, p. 599–612, 2010.

BARKHOF, F. et al. Imaging outcomes for neuroprotection and repair in multiple sclerosis trials. **Nature Reviews Neurology**, v. 5, n. 5, p. 256–266, maio 2009.

BENEDICT, R. H. B. et al. Validity of the symbol digit modalities test as a cognition performance outcome measure for multiple sclerosis. **Multiple Sclerosis Journal**, v. 23, n. 5, p. 721–733, 2017.

BISCHOFF, H. A. et al. In situ detection of 1,25-dihydroxyvitamin D3 receptor in human skeletal muscle tissue. **Histochemical Journal**, v. 33, n. 1, p. 19–24, 2001.

CAMPISI, P.; ROCCA, D. LA. Brain waves for automatic biometric-based user recognition. **IEEE Transactions on Information Forensics and Security**, v. 9, n. 5, p. 782–800, 2014.

CHAPARRO, G. et al. Frontal brain activation changes due to dual-tasking under partial body weight support conditions in older adults with multiple sclerosis. **Journal of NeuroEngineering and Rehabilitation**, v. 14, n. 1, p. 1–10, 2017.

CHUNG, L. H. et al. Energy cost of walking, symptomatic fatigue and perceived exertion in persons with multiple sclerosis. **Gait & Posture**, v. 48, p. 215–219, 2016.

CLARK, D. J. Automaticity of walking: Functional significance, mechanisms, measurement and rehabilitation strategies. **Frontiers in Human Neuroscience**, v. 9, n. MAY, p. 1–13, 2015.

COHEN, J. **Statistical power analysis for the behavioral sciences - 2nd ed**. [s.l: s.n.].

COMBER, L.; GALVIN, R.; COOTE, S. Gait deficits in people with multiple sclerosis: A systematic review and meta-analysis. **Gait & Posture**, v. 51, p. 25–35, 2016.

DE DAVID, A. C. et al. Validation of the Brazilian version of the patient-determined disease steps scale in persons with multiple sclerosis. **Multiple Sclerosis and**

Related Disorders, v. 30, n. November 2018, p. 208–214, 2019.

DE LA FUENTE, A. G. et al. Vitamin D receptor–retinoid X receptor heterodimer signaling regulates oligodendrocyte progenitor cell differentiation. **The Journal of Cell Biology**, v. 211, n. 5, p. 975–985, 2015.

DELORME, A. et al. EEGLAB, SIFT, NFT, BCILAB, and ERICA: New tools for advanced EEG processing. **Computational Intelligence and Neuroscience**, v. 2011, 2011.

DUTTA, R.; TRAPP, B. D. Mechanisms of neuronal dysfunction and degeneration in multiple sclerosis. **Progress in Neurobiology**, v. 93, n. 1, p. 1–12, jan. 2011.

EYLES, D. W. et al. Distribution of the Vitamin D receptor and 1α-hydroxylase in human brain. **Journal of Chemical Neuroanatomy**, v. 29, n. 1, p. 21–30, 2005.

FITZGERALD, K. C. et al. Association of Vitamin D Levels With Multiple Sclerosis Activity and Progression in Patients Receiving Interferon Beta-1b. **JAMA Neurology**, v. 72, n. 12, p. 1458, 2015.

FOLSTEIN, M. F.; FOLSTEIN, S. E.; MCHUGH, P. R. "Mini-mental state". A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. **Journal of Psychiatric Research**, v. 12, n. 3, p. 189–198, 1975.

GIANFRANCESCO, M. A. et al. Speed- and cane-related alterations in gait parameters in individuals with multiple sclerosis. **Gait and Posture**, v. 33, n. 1, p. 140–142, 2011.

HERNANDEZ, M. E. et al. Brain activation changes during locomotion in middle-aged to older adults with multiple sclerosis. **Journal of the Neurological Sciences**, v. 370, p. 277–283, nov. 2016.

KALRON, A. Association between perceived fatigue and gait parameters measured by an instrumented treadmill in people with multiple sclerosis: a cross-sectional study. **Journal of NeuroEngineering and Rehabilitation**, v. 12, n. 1, p. 34, 2015.

KALRON, A.; GIVON, U. Gait characteristics according to pyramidal, sensory and cerebellar EDSS subcategories in people with multiple sclerosis. **Journal of Neurology**, v. 263, n. 9, p. 1796–1801, 2016.

KRUPP, L. B. The Fatigue Severity Scale. **Archives of Neurology**, v. 46, n. 10, p. 1121, 1989.

KURTZKE, J. F. Rating neurologic impairment in multiple sclerosis: An expanded disability status scale (EDSS). **Neurology**, v. 33, n. 11, p. 1444–1452, 1983.

LAROCCA, N. G. Impact of Walking Impairment in Multiple Sclerosis. **The Patient: Patient-Centered Outcomes Research**, v. 4, n. 3, p. 189–201, 2011.

LAURSEN, J. H. et al. Vitamin D supplementation reduces relapse rate in relapsing-remitting multiple sclerosis patients treated with natalizumab. **Multiple Sclerosis and Related Disorders**, v. 10, n. September, p. 169–173, 2016.

MARRIE, R. A. Reviews Environmental risk factors in multiple sclerosis aetiology. **The Lancet Neurology**, v. 3, n. December, p. 709–718, 2004.

MARTIN, C. L. et al. Gait and balance impairment in early multiple sclerosis in the absence of clinical disability. **Multiple Sclerosis**, v. 12, n. 5, p. 620–628, 2006.

MCLAUGHLIN, L. et al. Vitamin D for the treatment of multiple sclerosis: a meta-analysis. **Journal of Neurology**, v. 265, n. 12, p. 2893–2905, 2018.

MOYON, S. et al. Demyelination causes adult CNS progenitors to revert to an immature state and express immune cues that support their migration. **Journal of Neuroscience**, v. 35, n. 1, p. 4–20, 2015.

MUIR, S. W.; MONTERO-ODASSO, M. Effect of vitamin D supplementation on muscle strength, gait and balance in older adults: A systematic review and meta-analysis. **Journal of the American Geriatrics Society**, v. 59, n. 12, p. 2291–2300, 2011.

PIROTTA, S.; KIDGELL, D. J.; DALY, R. M. Effects of vitamin D supplementation on neuroplasticity in older adults: a double-blinded, placebo-controlled randomised trial. **Osteoporosis International**, v. 26, n. 1, p. 131–140, 2014.

PREININGEROVA, J. L. et al. Spatial and temporal characteristics of Gait as outcome measures in multiple sclerosis (EDSS 0 to 6.5). **Journal of NeuroEngineering and Rehabilitation**, v. 12, n. 1, p. 1–7, 2015.

PRESACCO, A.; FORRESTER, L. W.; CONTRERAS-VIDAL, J. L. Decoding intra-limb and inter-limb kinematics during treadmill walking from scalp electroencephalographic (EEG) signals. **IEEE Transactions on Neural Systems and Rehabilitation Engineering**, v. 20, n. 2, p. 212–219, 2012.

REMELIUS, J. G. et al. Gait impairments in persons with multiple sclerosis across

preferred and fixed walking speeds. **Archives of Physical Medicine and Rehabilitation**, v. 93, n. 9, p. 1637–1642, 2012.

ROCCA, M. A. et al. Pyramidal tract lesions and movement-associated cortical recruitment in patients with MS. **NeuroImage**, v. 23, n. 1, p. 141–147, 2004.

ROTSTEIN, D. L. et al. Effect of Vitamin D on MS activity by disease-modifying therapy class. **Neurology**, v. 2, n. 6, 2015.

RYPMA, B.; BERGER, J. S.; D'ESPOSITO, M. The Influence of Working-Memory Demand and Subject Performance on Prefrontal Cortical Activity. **Journal of Cognitive Neuroscience**, v. 14, n. 5, p. 721–731, jul. 2002.

SALEH, S. et al. The role of premotor areas in dual tasking in healthy controls and persons with multiple sclerosis: An fNIRS imaging study. **Frontiers in Behavioral Neuroscience**, v. 12, n. December, p. 1–11, 2018.

SANTINELLI, F. B. et al. Cortical activity and gait parameters characteristics in people with multiple sclerosis during unobstructed gait and obstacle avoidance. **Under Review**, 2020.

SEBASTIÃO, E. et al. Validity of the Timed Up and Go Test as a Measure of Functional Mobility in Persons with Multiple Sclerosis. **Archives of Physical Medicine and Rehabilitation**, v. 97, n. 7, p. 1072–1077, 2016.

SEBASTIÃO, E. et al. Gait Variability and Energy Cost of Over-Ground Walking in Persons with Multiple Sclerosis. **American Journal of Physical Medicine & Rehabilitation**, p. 1, 2018.

SMOLDERS, J. et al. Association of vitamin D metabolite levels with relapse rate and disability in multiple sclerosis. **Multiple Sclerosis**, v. 14, n. 9, p. 1220–1224, 2008.

THOMPSON, A. J. et al. Multiple sclerosis. **The Lancet**, v. 391, n. 10130, p. 1622–1636, 2018.

THOUVENOT, E. et al. Vitamin D is associated with degree of disability in patients with fully ambulatory relapsing-remitting multiple sclerosis. **European Journal of Neurology**, v. 22, n. 3, p. 564–569, 2015.

TRAPP, B. D. et al. Cortical neuronal densities and cerebral white matter demyelination in multiple sclerosis: a retrospective study. **The Lancet Neurology**, v. 17, n. 10, p. 870–

884, out. 2018.

VAN MUNSTER, C. E. P. et al. Gray matter damage in multiple sclerosis: Impact on clinical symptoms. **Neuroscience**, v. 303, p. 446–461, 2015.

VAN VLIET, R. et al. Falls efficacy scale-international: A cross-sectional validation in people with multiple sclerosis. **Archives of Physical Medicine and Rehabilitation**, v. 94, n. 5, p. 883–889, 2013.

WAJDA, D. A.; MOTL, R. W.; SOSNOFF, J. J. Dual task cost of walking is related to fall risk in persons with multiple sclerosis. **Journal of the Neurological Sciences**, v. 335, n. 1–2, p. 160–163, dez. 2013.

WHITTIER, T. et al. The Cognitive Demands of Gait Retraining in Runners: An EEG Study. **Journal of Motor Behavior**, v. 0, n. 0, p. 1–12, 2019.

YARDLEY, L. et al. Development and initial validation of the Falls Efficacy Scale-International (FES-I). **Age and Ageing**, v. 34, n. 6, p. 614–619, 2005.

YUVARAJ, R. et al. On the analysis of EEG power, frequency and asymmetry in Parkinson's disease during emotion processing. **Behavioral and Brain Functions**, v. 10, n. 1, p. 12, 2014.

CAPÍTULO 5

CONSIDERAÇÕES FINAIS

5.1 Considerações finais

Os achados da presente dissertação aprofundam e avançam em contribuições cientificas na compreensão sobre o impacto de um obstáculo, da concentração de BDNF e da vitamina D no andar de pessoas com EM. A seguir, nós apresentamos as implicações praticas dos resultados obtidos na presente dissertação, principalmente em relação a testes de avaliações para detecção rápida da progressão da EM, assim como terapias que auxiliem na melhora do andar nessa população.

Pessoas com EM precisam modificar os parâmetros do andar, além de posicionar o pé mais próximo ao obstáculo durante a ultrapassagem do obstáculo. Além disso, há um aumento da demanda da atividade do córtex cerebral no andar sem e com a ultrapassagem de um obstáculo. Esse comportamento evidência a perda da automaticidade do andar nessa população. Como esse ainda é o primeiro estudo a mostrar esse comportamento, novas investigações são necessárias para confirmar o presente achado. Programas de reabilitação devem focar em recuperar essa automaticidade do andar em pessoas com EM. Estudos futuros devem investigar se melhorar a automaticidade do andar, pode também diminuir a demanda da atividade cortical, assim como melhorar os parâmetros do andar durante a ultrapassagem de um obstáculo.

Uma forma de buscar essa melhora do andar seria através da suplementação de vitamina D. Embora nenhuma correlação foi encontrada entre a concentração de vitamina D e os parâmetros analisados do andar, o grupo com EM que fazia uso endógeno da vitamina D não apresentou diferenças para o grupo controle em relação aos parâmetros espaço-temporais do andar. Esses resultados apresentados apontam para um efeito benéfico da suplementação da vitamina D nesses parâmetros. Futuros estudos devem investigar o efeito da suplementação da vitamina D ao longo do tempo, uma vez que a vitamina D possui diversos efeitos para as pessoas com EM (e.g., controle do sistema

imune, aumento da produção da bainha de mielina, diminuição da atrofia cerebral, assim como diminuição do número de lesões).

O comportamento dos parâmetros de mobilidade funcional, do andar e da atividade cortical, se mostrou correlacionados com o BDNF, além de serem bons classificadores da EM. Dessa forma, sugerimos que esses parâmetros, podem ser utilizados como biomarcadores da EM. Entretanto, como a atividade cortical não é de fácil mensuração e de não ser econômico, nós sugerimos para profissionais da saúde, especificamente os profissionais da educação física, de mensurar a mobilidade funcional através do TUG e dos parâmetros do andar para verificar a resposta de seus pacientes em relação as intervenções aplicadas. Investigações futuras devem verificar se um protocolo de intervenção física é capaz de aumentar a concentração de BDNF e se esse aumento estaria vinculado também com a melhora dos parâmetros do andar, de mobilidade e da atividade cortical.

5.2 Atividades desenvolvidas durante o período de mestrado

A seguir apresento as atividades de pesquisa, ensino e extensão que tive a oportunidade de participar durante o período de mestrado.

5.2.1 Pesquisa

Durante o meu prédio de mestrado, desenvolvi juntamente com os meus parceiros de laboratório e o meu orientador, diversos projetos de pesquisa. Desses projetos alguns artigos foram desenvolvidos e publicados, sendo 3 como primeiro autor e 2 como co-autor:

- **SANTINELLI, F. B**; SEBASTIÃO, E; OLIVEIRA, M; BARBIERI, F. A. Multiple sclerosis: Implications for future research on postural control and gait. Brazilian Journal of Motor Behavior, v. 14, p. 46-49, 2020.

- **SANTINELLI, F. B.**; BARBIERI, F. A.; PINHEIRO, C. F.; AMADO, A. ; SEBASTIAO, E. ; EMMERIK, R. V. Postural Control Complexity and Fatigue in Minimally Affected Individuals with Multiple Sclerosis. JOURNAL OF MOTOR BEHAVIOR, v. 1, p. 1-10, 2019.

- **SANTINELLI, F. B.**; EMMERIK, R. V.; SILVA, F. A; IMAIZUNI, L. F. I. ; PENEDO, T.; CANZONIERI, A. M.; RODRIGUES, S. T.; POLASTRI, P. F.; BARBIERI, F. A. Saccadic eye movements are able to reduce body sway in mildly-affected people with Multiple Sclerosis. Multiple Sclerosis and Related Disorders, p. 63-69, 2019.

- MORETTO, G. F.; **SANTINELLI, F. B.**; PENEDO, T.; MOCHIZUKI, L.; RINALDI, N. M.; BARBIERI, F. A. Prolonged standing task affects adaptability of postural control in people with Parkinson's disease. Neurorehabilitation and Neural Repair, Novembro, 2020.

- VIEIRA, L. H. P.; **SANTINELLI, F. B.;** CARLING, C.; KELLIS, E.; SANTIAGO, P. R. P.; BARBIERI, F. A. Acute effects of warm-up, exercise and recovery-related strategies on assessments of soccer kicking performance: a critical and systematic review. Sports Medicine. 2020.

Além disso, mais 9 artigos (2 primeiro autor e 7 como co-autor) estão em processo de revisão pelas revistas:

- **SANTINELLI, F. B.**; SEBASTIAO, E.; KURODA, M. H.; MORENO, V. C.; PILON, J.; VIEIRA, L. H. P.; BARBIERI, F. A. Cortical activity and gait parameters characteristics in people with multiple sclerosis during unobstructed gait and obstacle avoidance. Gait and Posture.

- **SANTINELLI, F. B.**, SEBASTIAO, E.; POLASTRI, P. F.; RODRIGUES, S. T.; AMARAL, V. T.; LISBOA-FILHO, P. N.; VIEIRA, L. H. P.; OLIVERIRA, M.; BARBIERI, F. A. Does vitamin D improve gait parameters and cortical activity in people with Multiple Sclerosis? A cross-sectional study. Multiple Sclerosis Journal.

- COSTA, E. C.; **SANTINELLI, F. B.;** MORETTO, G. F.; FIGUEIREDO, C., MORANO, A. E., BARELA, J. A., BARBIERI, F. A. A multiple domain postural control assessment in people with Parkinson's disease: non-linear analysis. Journal of Biomechanics.

- SEBASTIÃO, E.; WOOD, T.; MOTL, R. W.; **SANTINELLI, F. B.;** BARBIERI, F. A. Physical Activity and Exercise Training as Adjuvant Therapy for Multiple Sclerosis Symptoms and Disease Progression. Clinics.

- MORETTO, G. F.; FRANSEN, J.; **SANTINELLI, F. B.;** PENEDO, T.; IMAIZUMI, L. F. I.; BRITO, M. B.; POLASTRI, P. F.; RODRIGUES, S. T.; BARBIERI, F. A. Young adults do not use implicit visual cues while obstacle avoidance during walking. Experimental Brain Research.

- SIMIELI, L.; **SANTINELLI, F. B.;** COSTA, E. C.; KURODA, M. H.; OLIVEIRA, L. R.; PENEDO, T.; PILON, J.; SILVEIRA, A. P. B.; ASSIS, I. S. A.; TARDELLI, E.; OKAMOTO, E.; BARBIERI, F. A. Perception of COVID-19 pandemic by Brazilian people with Parkinson's disease and Multiple Sclerosis. Frontiers.

- VIEIRA, L. H. P.; KALVA-FILHO, C. A.; **SANTINELLI, F. B.;** CLEMENTE, F. M.; SANTIAGO, P. R. P.; MOURA, F. A.; CUNHA, S. A.; SCHIMIDT, C. V.; BARBIERI, F. A. Dominant and Non-Dominant Limb Use and Performance for Receiving, Passing and Shooting During Professional Futsal Matches. Perceptual and Motor Skills.

- PENEDO, T.; POLASTRI, P. F.; RODRIGUES, S. T.; **SANTINELLI, F. B.;** COSTA, E. C.; IMAIZUMI, L. F. I.; BARBIERI, R. A.; BARBIERI, F. A. Motor strategy during postural control is not muscle fatigue joint-dependent, but muscle fatigue increases postural asymmetry. Plos one.

- AMBIKE, S.; PENEDO, T.; **SANTINELLI, F. B.;** KULKARNI, A.; BARBIERI, F. A. Step length synergy while crossing obstacles is weaker in patients with Parkinson’s disease. Gait and Posture.

Por fim, ao longo de todo o período de mestrado participei de diversos congressos científicos internacionais e nacionais na área da educação física e controle motor, apresentando os trabalhos desenvolvidos durante o período de mestrado e dentro do laboratório. Em números, foram 9 congressos (“MDS Virtual Congress”, “X Congresso Brasileiro de Comportamento Motor”, “21st BCTRIMS Annual Meeting”, “6º Encontro Paulista de Comportamento Motor”, “International Society of Posture and Gait Research World Congress”, “XI Congresso Internacional de Educação Física e XVII Simpósio Paulista de Educação Física”, “XVIII Congresso Brasileiro de Biomecânica”, “BCTRIMS 19th Annual Meeting”, “IX Congresso Brasileiro de Comportamento

Motor") e 31 resumos simples publicados (7 como primeiro autor e 24 como co-autor) nos anais dos eventos.

5.2.2 Ensino

Durante o meu mestrado, realizei estágio em docência superior na Universidade Estadual Paulista (UNESP), Campus Bauru, na disciplina de "Crescimento e desenvolvimento humano" sob supervisão do Prof. Dr. Fabio Augusto Barbieri.

Ao longo dos dois anos e três meses do processo de mestrado, tive a oportunidade de ministrar algumas aulas e palestras:

- "Esclerose Múltipla: do diagnóstico ao exercício físico" - Centro Universitário Estácio de Ribeirão Preto, no dia 14 de outubro de 2020.

- "Esclerose Múltipla: Qual o papel da Educação Física?" - disciplina de Estágio Supervisionado em Distúrbios do Aparelho Locomotor I, do docente responsável Dr. Rubens Venditti Júnior, do DEF/FC, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Bauru/SP. Realizada em 07 de novembro de 2020.

- "Controle Postural" - disciplina de Controle Motor, do docente responsável Prof. Dr. Fabio Augusto Barbieri. Realizada em 25 de setembro de 2019.

- "Aspectos gerais e Tratamentos para Esclerose Múltipla" - durante o 5° Ciclo de Palestras sobre Atividade Física, Envelhecimento e Doenças Neurodegenerativas, na Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquista Filho" (UNESP) em Bauru/SP.

- "Doença de Parkinson e Esclerose Múltipla: da fisiopatologia ao tratamento pelo exercício físico" disciplina de Estágio Supervisionado em Distúrbios do Aparelho Locomotor I, do docente responsável Dr. Rubens Venditti Júnior, do DEF/FC, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Bauru/SP. Realizada em 19 de junho de 2019.

5.2.3 Extensão

No período do mestrado, participei do “Programa de atividade física sistematizada para pacientes com a doença de Parkinson - ATIVA PARKINSON” vinculado ao Laboratório de Pesquisa em Movimento Humano (MOVI-LAB) da UNESP, Campus Bauru.