



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FISIOTERAPIA**  
**Área de Concentração: Fisioterapia e Desempenho Funcional**



# **“BIOMARCADORES MOLECULARES E A RECUPERAÇÃO FUNCIONAL NO PÓS-ACIDENTE VASCULAR CEREBRAL”**

**CÁSSIA REGINA SAADE-PACHECO**

**SÃO CARLOS**

**2020**



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FISIOTERAPIA  
**Área de Concentração: Fisioterapia e Desempenho Funcional**

---



## “BIOMARCADORES MOLECULARES E A RECUPERAÇÃO FUNCIONAL NO PÓS-ACIDENTE VASCULAR CEREBRAL”

**CÁSSIA REGINA SAADE-PACHECO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fisioterapia da Universidade Federal de São Carlos, como parte dos requisitos para a obtenção do Título de Doutor em Fisioterapia.

**Orientador:** Prof. Dr. Thiago Luiz de Russo

**SÃO CARLOS**

**2020**



---

## FOLHA DE APROVAÇÃO

---

Assinatura dos membros da comissão examinadora que avaliou e **APROVOU** a Defesa de Tese do Doutorado da candidata Cássia Regina Saade-Pacheco, realizada em 15/12/2020.

---

Prof. Dr. Thiago Luiz de Russo – UFSCar

---

Prof. Dr. Jocemar Ilha – UDESC

---

Prof. Dr. Gustavo José Luvizzuto – UFTM

---

Profa. Dra. Natália Duarte Pereira - UFSCar

---

Dra. Anna Carolyna Lepesteur Gianlorenço - UFSCar

## **Ficha Catalográfica**

## *Dedicatória*

*Dedico este título de Doutorado aos meus pais! A minha mãe por idealizar um (a) filho (a) doutor (a); minha resiliência; em memória de meu pai por doces e eternas lembranças.*

*Ao meu marido Pacheco, por hora "a rainha do lar", e a Luíza minha filha por cuidarem de mim.*

*Amo vocês!*

## AGRADECIMENTOS

(Todos os agradecimentos são especiais)

Primeiramente quero agradecer a Deus por colocar pessoas boas em meu caminho, e assim permitir, que eu "em minhas insanidades" que trilhasse esse caminho. Obrigada, meu Deus! Por mais esse dia em minha vida!

Professor Dr Thiago Luiz de Russo, Obrigada! Minha gratidão eterna por me aceitar no LAFiN e persistir ao meu lado até o fim. Sem você jamais seria possível.

Obrigada aos amigos do LAFiN. "*Quem tem um amigo tem um anjo*". Verdadeiros anjos em minha vida. Sem exceção! Gabriela Nagai, Gabriela Santos, Fernanda, Érika Shirley, Yesel Carolina, Simone, Cláudia, Jean, Luisa, Rafaela, Genoveva, Beatriz e Ana Flávia.

Aos heróis da resistência: Érika Shirley, Luisa, Jean, Simone e Ana Flávia. Por estarem tão próximos nesta reta final. Orquestrados pelo Prof. Dr Thiago, digo que VENCEMOS!

Meu muitíssimo obrigada aos professores da pós, por agregarem à mim tantos conhecimentos, oportunidade única de aprendizado.

Obrigada Profa. Dra Roberta Carreira, cujos ensinamentos proporcionaram parte desta tese.

Meu muito obrigada aos funcionários do PPGFt, em especial ao Emerson e a Iolanda. *Iô* é singular, única na sua alegria e no seu cuidar.

Agradeço a minha família SAADE (representadas por "meus irmãos") e suas famílias: Rosa Maria Saade Floeter, Maia Helena Saade Oliveira, José Matta Saade e Paulo Matta Saade, pelo incentivo. Amo vocês!

A Fisioterapeuta, amiga, prima Renata Dib, por compreender mais uma vez minha ausência, em uma fase tão importante da sua vida. Te amo!

Agradeço aos meus padrinhos: Miguel e Wair Dib, pela mão estendida durante todo o meu caminho, não só o profissional, mas por toda minha vida.

Aos alunos e amigos da Universidade Paulista, que não mediram esforços na minha ausência: Obrigada!

Coordenador Geral do Curso de Fisioterapia UNIP: Cristiano Baldan; Diretora do Campus Assis: Cristiane Tavares; Fisioterapeutas e companheiras de trabalho: Adriane Navas, Bethania Tangerino, Fernanda Campana, Heloisa Machado, Iraci Paiano, Júlia Andrade, Michele Silva, Natane Caetano, Paula Rodrigues e Pamela Leite; e todo o Corpo Docente da Fisioterapia UNIP Assis, por entenderam esse momento da minha vida e cuidarem de tudo enquanto eu estudava.

Meu obrigada a Profa. Maria Eulália Baleotti, coordenadora do curso de Fisioterapia da FEMA, minha mais nova companheira de trabalho. Obrigada por sempre aliviar o stress.

Aos alunos do curso de Fisioterapia da FEMA, por me acolherem nessa nova casa, e na família FEMA!

Ao Hospital Regional de Assis, funcionários administrativos, enfermeiros e médicos, que apoiaram a pesquisa.

Em memória do amigo Prof. Avelino Leonardo da Silva, um amante da neurologia que me inspirou a seguir os caminhos misteriosos do cérebro, e que sempre dizia: "Te gosto de todo o meu cérebro".

Meu agradecimento aos componentes da banca avaliadora: Dr Jocemar, Dr Gustavo, Dra Carolina e Dra Nathália, pelas preciosas contribuições.

*“Do cérebro, e apenas do cérebro provêm nossos prazeres, risadas e gracejos, bem como nossas tristezas, dores, pesares e lágrimas.”*

*Hipócrates (360 a.C.-370 a.C.)*

## RESUMO

Biomarcadores moleculares tem se mostrado importantes sinalizadores biológicos, marcadores em potencial no diagnóstico e prognóstico do acidente vascular cerebral (AVC). Mais incidente na forma isquêmica que hemorrágica, generalizar a metabolômica e proteômica do AVC pode ser um erro, o que torna importante os estudos de biomarcadores direcionados para cada tipo de AVC. Presentes nos fluídos biológicos, os biomarcadores identificados no sangue, urina, líquido cerebrospinal e saliva podem auxiliar nas ações imediatas após o AVC, no direcionamento do tratamento da doença e na possível recuperação física funcional. Estudos mostraram que níveis elevados da adiponectina estão relacionados com a sarcopenia nas doenças cardiovasculares, porém em pessoas acometidas pelo AVC, seu nível mais elevado não foi associado a massa muscular esquelética, quando comparado indivíduos pós-AVC e saudáveis. **Objetivos:** Investigar os níveis da adiponectina na composição corporal, nos níveis lipídicos e atividade física no AVC crônico. Buscar na literatura os biomarcadores no AVC hemorrágico preditores de prognóstico da recuperação física funcional. **Metodologia:** Foram realizados dois estudos: 1) Estudo piloto transversal correlacional, com hemiparético crônico (AVC  $\geq$  6 meses), idade  $\geq$  18 anos, para análise da massa corporal por bioimpedância elétrica (InBody<sup>®</sup> 720) e perfil lipídico com análise pelo método automatizado (CELL-DYN Ruby); nível de atividade mensurada por acelerômetro (StepWatch<sup>®</sup>) e a concentração de adiponectina sérica utilizando kit de ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA). 2) Revisão Sistemática, aos pares, seguindo as recomendações PRISMA nas bases PubMed, CINAHL, Web OF Science e EMBASE. Feita uma busca de estudos com AVC hemorrágico e biomarcadores moleculares presentes no sangue, urina, saliva e líquido cerebrospinal, coletado até 72 horas pós ictu, ligados a recuperação funcional. **Resultados:** O estudo da ADPc reuniu 21 participantes pós-AVC que tiveram o biomarcador correlacionado com: peso ( $r_s = -0,73$ ), índice de massa corporal ( $r_s = -0,50$ ), massa muscular esquelética ( $r_s = -0,78$ ), índice de massa muscular esquelética ( $r_s = -0,75$ ) e lipoproteína de alta densidade ( $r_s = 0,43$ ). A busca da revisão sistemática reuniu 61 estudos e 79 biomarcadores, sendo 52 biomarcadores considerados preditores, 18 não-preditores e 9 com resultados controversos. **Conclusão:** A adiponectina em níveis elevados está relacionada a diminuição da massa muscular esquelética e à um nível mais alto de lipoproteína de alta densidade em indivíduos crônicos pós-AVC. Grande parte dos biomarcadores encontrados com possibilidade de prever a recuperação funcional após o AVC hemorrágico, não apresentou recomendações claras na identificação do biomarcador mais promissor e consistente devido à heterogeneidade das moléculas estudadas.

**Palavras-Chave:** Biomarcador; adiponectina; acidente vascular cerebral; prognóstico; funcionalidade; músculo esquelético; lipoproteínas de alta densidade lipídica; atividade física.



## ABSTRACT

Molecular biomarkers have proved important biological signalers, potential markers in the diagnosis and prognosis of stroke. More common in ischemic than hemorrhagic form, generalizing metabolomics and proteomics in both types of stroke can be a mistake, making biomarkers studies for each of them important. Present in biological fluids, such as blood, urine, cerebrospinal fluid and saliva, the biomarker when identified in the acute or chronic phase can assist in immediate actions and in directing the treatment of the disease and in functional physical recovery. Studies had shown that high levels of adiponectin are related with sarcopenia and cardiovascular diseases, without strokes, their levels were high in post-stroke levels compared to non-strokes, but it was not associated with skeletal muscle mass.

**Objectives:** To investigate adiponectin levels in body composition, lipid levels and physical activity in chronic stroke. Searching in the literature biomarkers hemorrhagic stroke predictors of prognosis of functional physical recovery. **Methodology:** Two studies were conducted: 1) A correlational cross-sectional pilot study with chronic hemiparetic (stroke  $\geq$  6 months), age  $\geq$  18 years, for analysis of body mass by electrical bioimpedance (InBody® 720) and lipid profile with analysis by automated method (CELL-DYN Ruby); activity level measured by accelerometer (StepWatch®) and serum adiponectin concentration using enzyme immunoabsorption assay kit (ELISA). 2) Systematic peer review, following prisma recommendations in PubMed, CINAHL, Web OF Science and EMBASE databases. A search was made for studies with hemorrhagic stroke and molecular biomarkers present in the blood, urine, saliva and cerebrospinal fluid, collected up to 72 hours post-ictal, linked to functional recovery. **Results:** The ADPC study included 21 post-stroke participants who had the biomarker correlated with: weight ( $r_s = -0.73$ ), body mass index ( $r_s = -0.50$ ), skeletal muscle mass ( $r_s = -0.78$ ), skeletal muscle mass index ( $r_s = -0.75$ ) and high-density lipoprotein ( $r_s = 0.43$ ). The search for a systematic review gathered 61 studies and 79 biomarkers, 52 biomarkers considered predictors, 18 non-predictors and 9 with controversial results. **Conclusion:** Adiponectin at high levels is related to decreased skeletal muscle mass and a higher level of high-density lipoprotein in chronic post-stroke individuals. Most of the biomarkers found with the possibility of predicting functional recovery after hemorrhagic stroke did not present clear recommendations for the identification of the most promising and consistent biomarker due to the heterogeneity of the molecules studied.

**Keywords:** Biomarker; adiponectin; stroke; prognosis; functionality; skeletal muscle; high-density lipoproteins; physical activity

## LISTA DE FIGURAS

### MANUSCRITO 1

<b>Figure 1</b> Flow chart for this correlational, cross-sectional pilot study.....	28
<b>Figure 2</b> Relationship between the adiponectin and the body composition (n = 19).....	31
<b>Figure 3</b> Relationship between the adiponectin and the lipid profile (n = 21).....	33
<b>Figure 4</b> Relationship between the adiponectin and the physical activity level frequency and duration (n =21).....	34
<b>Figure 5</b> Relationship between the adiponectin and the physical activity level intensity (n=21).....	35

### MANUSCRITO 2

<b>Figure 1</b> Flow chart of the systematic search.....	50
<b>Figure 2</b> Relationship between area under the curve and Misclassification rate.....	80
<b>Figure 3</b> Risk of Bias according to QUADAS-2.....	81

## LISTA DE TABELAS

### MANUSCRITO 1

<b>Table 1.</b> Participant demographic and clinical characteristics (n = 21).....	28
<b>Table 2.</b> Relationship between adiponectin, body composition, lipid profile and physical activity level (n = 21).....	30

### MANUSCRITO 2

<b>Table 1.</b> Search strategy of the meta-analysis.....	47
<b>Table 2.</b> Demographic characteristics of the participants in the selected studies.....	51
<b>Table 3.</b> Prevalence of risk factors of the study population.....	58
<b>Table 4.</b> Clinical severity and neuroimaging findings of the study population.....	62
<b>Table 5.</b> Laboratory parameters of the study population.....	68
<b>Table 6.</b> Biomarker expression and prediction, and area under the ROC curve with optimal biomarker cutoff values and measures of diagnostic accuracy to predict the clinical outcome.....	74

## LISTA DE ANEXOS

<b>ANEXO 1.</b> Confirmação de submissão do MANUSCRITO 1 ao periódico Journal of Neurologic Physical Therapy.....	97
<b>ANEXO 2.</b> Confirmação de submissão do MANUSCRITO 2 ao periódico AHA Stroke.....	98
<b>ANEXO 3.</b> MANUSCRITO 1 – Versão em português.....	99
<b>ANEXO 4.</b> MANUSCRITO 2 – Versão em português.....	122
<b>ANEXO 5.</b> Parecer Consubstanciado do Comitê de Ética em Pesquisa da UFSCAR.....	140

## SUMÁRIO

<b>APRESENTAÇÃO</b> .....	14
<b>CONTEXTUALIZAÇÃO</b> .....	15
<i>Público leigo</i> .....	17
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	18
<b>MANUSCRITO 1 – Versão em inglês</b> .....	20
<b>Abbreviations</b> .....	21
<b>Abstract</b> .....	22
<b>Introduction</b> .....	23
<b>Methods</b> .....	24
<i>Study design and ethical aspects</i> .....	24
<i>Setting and participants</i> .....	24
<i>Day 1 assessment</i> .....	25
<i>Clinical assessment</i> .....	25
<i>Physical activity level</i> .....	25
<i>Day 2 assessment</i> .....	25
<i>Body composition</i> .....	25
<i>Day 3 assessment</i> .....	26
<i>Lipid profile and adiponectin level</i> .....	26
<i>Data analysis</i> .....	27
<b>Results</b> .....	27
<i>Relationship between the adiponectin and the body composition</i> .....	29
<i>Relationship between the adiponectin and the lipid profile</i> .....	32
<i>Relationship between the adiponectin and the physical activity level</i> .....	32
<b>Discussion</b> .....	36

<i>Clinical implications of this study</i> .....	37
<i>Study limitations</i> .....	38
<b>Conclusion</b> .....	38
<b>References</b> .....	39
<b>MANUSCRITO 2 – Versão em inglês</b> .....	43
<b>Abstract</b> .....	44
<b>Non-Standard Abbreviations and Acronyms</b> .....	45
<b>Introduction</b> .....	46
<b>Methods</b> .....	46
<i>Eligibility criteria</i> .....	47
<i>Selection Process</i> .....	48
<b>Data Analysis</b> .....	48
<i>Data Extraction</i> .....	48
<i>Risk of bias assessment</i> .....	49
<b>Results</b> .....	49
<i>Study characteristic</i> .....	50
<i>Study population characteristics</i> .....	57
<i>Biomarkers as prognosis of functional recovery</i> .....	73
<i>Measures of diagnostic accuracy</i> .....	80
<i>Risk of bias</i> .....	80
<b>Discussion</b> .....	83
<b>Conclusion</b> .....	85
<b>Reference</b> .....	86
<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	92
<b>ATIVIDADES DURANTE O PERÍODO DO DOUTORADO</b> .....	93

## APRESENTAÇÃO

---

O presente estudo segue a linha de pesquisa “Processos básicos, desenvolvimento e recuperação funcional do sistema nervoso” desenvolvida no Laboratório de Pesquisa em Fisioterapia Neurológica (LAFiN) do Departamento de Fisioterapia (DFisio) da Universidade Federal de São Carlos (UFSCAR). Apresentado de acordo com as recomendações do Programa de Pós-graduação em Fisioterapia (PPGFt), na área de Concentração: Fisioterapia e Desempenho Funcional, e pertencente ao Centro de Ciências Biológicas e Saúde (CCBS) da UFSCAR, este estudo contempla o escopo do LAFiN que envolve estudos com biomarcadores e sua predição na recuperação física funcional após um acidente vascular cerebral (AVC). Reúne uma breve Contextualização, Resumo e dois manuscritos na versão original, na língua inglesa e uma tradução para a língua portuguesa: 1) *Serum adiponectin levels are associated with skeletal muscle mass and high-density lipoprotein in post-stroke individuals, but not with physical activity level: an exploratory study*; e 2) *Molecular biomarkers in post-acute hemorrhagic stroke as predictors of late motor recovery: Systematic Review*; ambos submetidos a revistas internacionais de alto impacto, na área. Finalmente, uma conclusão geral do trabalho, bem como as atividades externas desenvolvidas durante o período do doutorado.

## CONTEXTUALIZAÇÃO

Mais incapacitante que mortal, o acidente vascular cerebral (AVC) é uma doença cerebrovascular de evento súbito e espontâneo, por isquemia ou hemorragia considerada mundialmente uma das maiores causas de incapacidade física (OMS, 2017). Sobreviver a um AVC pode significar permanecer com algum grau de incapacidade e dependência funcional, permanente (MAKRIS, 2018; MURRAY et al., 2012; BROUSSALIS, et al. 2012). Nas últimas 4 décadas, os estudos com biomarcadores ligados ao efeito focal e sistêmico nas doenças cerebrovasculares (MEHTA, MANHAS, RAGHUBIR, 2007) levaram ao entendimento de moléculas biológicas como potencialmente sinalizadoras no diagnóstico e prognóstico da doença cerebrovascular (GANDOLFI et al., 2017; MAAS e FURIE, 2009). Apesar de todo conhecimento da neurociência e dos esforços das organizações governamentais, na prevenção de doenças cerebrovasculares e no alerta da população quanto aos fatores de riscos modificáveis e dos altos níveis de incidência do AVC (OMS 2020), compreender estes fatores biológicos na prevenção dos danos funcionais após instalada a doença é uma ferramenta importante, como recurso terapêutico. Na tentativa de eliminar ou minimizar os efeitos deletérios pós-AVC.

Presente nas diferentes fases da doença, os biomarcadores (BIOMARKERS DEFINITIONS WORKING GROUP, 2001) se tornaram escopo de estudos em todo o mundo (MAKRIS et al., 2018; LAI, HANNEMAN, CASAREZ, 2019; DONKEL, BENADDI, DIPPEL, et al. 2019). Sendo a Adiponectina (ADPc) um dos biomarcadores encontrados na literatura e demonstrado que em altas concentrações está associada às modificações no tecido muscular esquelético, sarcopenia (SCHERBAKOV; SANDEK; DOEHNER, 2014) e à diminuição do risco cardiovascular (LARA-CASTRO C et al., 2007).

A sarcopenia, definida como um fenômeno sindrômico da senescência, gradativo e complexo na diminuição generalizada da massa muscular esquelética, capaz de interferir na capacidade funcional da pessoa idosa (ROSEMBERG, 1977; SCHERBACOV et al, 2015), está presente no exame de imagem do AVC crônico, independentemente da idade e do estado nutricional da pessoa acometida (SCHERBACOV e DOERHNER, 2011). Compreender estes fenômenos fisiopatológicos e conhecer os níveis de biomarcadores nocivos, poderá precipitar ações importantes na contenção dos seus efeitos deletérios na doença.

Na fase crônica do pós-AVC, os níveis mais elevados de ADPc (RYAN, MACKO. PETERS et al., 2009) estão associados as alterações musculares esqueléticas negativas e a sarcopenia, ao longo da recuperação funcional (FEIGIN VL, KRISHNAMURTHI RV, PARMAR P, et al. 2013; FINI NA, HOLLAND AE, KEATING J, SIMEK J, BERNHARDT



J., 2017). Observado desde a fase aguda da lesão cerebral isquêmica, este fenômeno sarcopênico, ainda não compreendido, pode sinalizar alterações importantes que devem seguir sob investigações científicas (SPRINGE et al. 2014), uma vez os achados que envolvem sarcopenia-AVC-adiponectina, descritos na literatura não foram correlacionados nesta população, até o presente estudo.

Entretanto, revisões sistemáticas com biomarcadores moleculares no AVC (LAI, HANNEMAN, CASAREZ, 2019; DONKEL, BENADDI, DIPPEL, et al. 2019; HASAN, McCOLGAN, BENTLEY, et al., 2012) destacaram diferentes biomarcadores sanguíneos associados ao prognóstico *ruim* de recuperação, após uma isquemia cerebral (SHOAEB et al, 2014). Desta forma, estender e generalizar esses achados ao AVC hemorrágico pode ser um erro, uma vez que os mecanismos que envolvem os danos cerebrais diferem daqueles encontrados no AVC isquêmico (MAKRIS et al, 2018).

Biomarcadores moleculares estão classificados em conformidade com sua participação no processo fisiopatológico do AVC, sendo inflamatórios; de estresse oxidativo; dano neuronal; de ativação glial; do metabolismo; e circulação, coagulação ou função vascular (NG, QUEK, CHEUNG, et al. 2017; KAMTCHUM-TATUENE, JICKLING, 2019). Presentes em variadas concentrações, nas diferentes fases de recuperação da doença, os biomarcadores agem de forma positiva ou negativa, no processo de reparação tecidual e funcional (MAKRIS et al., 2018). No entanto, esse mecanismo de ação não é totalmente elucidado, tornando-se necessário uma investigação dos biomarcadores e da sua especificidade em cada fase da doença, e em cada tipo de dano cerebral (isquêmico ou hemorrágico). Predizer precocemente a recuperação de danos causados no AVC auxilia no início precoce do tratamento (MAKRIS et al., 2018) e possivelmente na inibição dos eventos bioquímicos neurotóxicos, pós ictu, e conseqüentemente na promoção de uma recuperação absoluta.

Pensar na recuperação neurológica, associada aos níveis de biomarcadores no pós-AVC, não deve significar distinção de tratamento para pacientes com *bom* ou *ruim* prognóstico, mas sim na presciência de uma recuperação funcional acurada. Investir em terapia física deve ocorrer sempre, na prevenção dos danos causados pela imobilidade e de uma recuperação funcional, igual ou a mais próxima daquele existente anteriormente do evento neurológico.

Desta forma, prever a recuperação do AVC por meio de biomarcadores auxiliará no direcionamento de terapias de reabilitação física, no impedimento da fase incapacitante do AVC, e na instalação das desvantagens funcionais impostas por ele. Além de direcionar estudos para dosimetria e técnicas de recuperação do AVC, que impedirão os efeitos deletérios da

doença, podendo minimizar os gastos públicos com internações, medicalizações e tratamentos de recuperação e reabilitação, no pós-AVC.

O manuscrito 1 que compõem esta tese foi submetido ao *Journal of Neurologic Physical Therapy* (ANEXO 1) e o manuscrito 2 ao *AHA Stroke* (ANEXO 2).

### *Público leigo*

O acidente vascular cerebral (AVC) ou o derrame cerebral é uma doença muito estudada em todo o mundo. A grande preocupação da ciência e dos profissionais da saúde é a “sequela” deixada após o AVC. Neste estudo buscamos conhecer sinalizadores da reação do corpo, nesta doença, e identificar as mudanças no sangue, urina, líquido cerebral e saliva, chamados de biomarcadores moleculares, e assim prever os efeitos negativos causados pelo AVC.

Todos os esforços da comunidade científica, em todo o mundo, são para que os profissionais da reabilitação física possam melhorar seu atendimento e promover o melhor tratamento à pessoa que é acometida pelo AVC. O que não exime a população de viver de forma saudável, na prevenção das doenças como o AVC.

## REFERÊNCIAS

- BIOMARKERS DEFINITIONS WORKING GROUP. **Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework.** *Clin Pharmacol Ther.* 2001; 69:89–95.
- BROUSSALIS E. *et al.* **Current therapies in ischemic stroke. Part A. Recent developments in acute stroke treatment and in stroke prevention.** *Drug Discov Today.* 2012 Apr;17(7-8):296-309.
- FEIGIN, V.L.; KRISHNAMURTHI, R.V.; PARMAR, P. *et al.* **Update on the global burden of ischemic and hemorrhagic stroke in 1990-2013: the GBD 2013 study.** *Neuroepidemiology.* 2015;45(3):161-176. doi: 10.1159/000441085.
- FINI, N.A.; HOLLAND, A.E.; KEATING, J.; SIMEK, J.; BERNHARDT, J. **How physically active are people following stroke? Systematic review and quantitative synthesis.** *Phys Ther.* 2017;97(7):707-717. doi: 10.1093/ptj/pzx038.
- GANDOLFI, M.; SMANIA, N.; VELLA, A. *et al.* **Assessed and Emerging Biomarkers in Stroke and Training-Mediated Stroke Recovery: State of the Art (Article Review)** *Neural Plasticity*, Volume 2017, Article ID 1389475, 15 pages.
- HASAN, N.; McCOLGAN, P.; BENTLEY, P.; *et al.* **Towards the identification of blood biomarkers for acute stroke in humans: a comprehensive systematic review.** *Br J Clin Pharmacol.* Aug 2012;74(2):230-40. doi:10.1111/j.1365-2125.2012.04212.x.
- KAMTCHUM-TATUENE, J.; JICKLING, G.C. **Blood Biomarkers for Stroke Diagnosis and Management.** *Neuromolecular Med.* 12 2019;21(4):344-368. doi:10.1007/s12017-019-08530-0.
- LARA-CASTRO, C.; FU, Y.; CHUNG, B.H.; GARVEY, W.T. **Adiponectin and the metabolic syndrome: mechanisms mediating risk for metabolic and cardiovascular disease.** *Curr Opin Lipidol.* 2007;18(3):263-270. doi: 10.1097/MOL.0b013e32814a645f.
- MAAS, M.B.; FURIE, K.L. **Molecular biomarkers in stroke diagnosis and prognosis.** *Biomark Med.* Aug 2009;3(4):363-383. doi:10.2217/bmm.09.30.
- MAKRIS, K. *et al.* **Blood biomarkers in ischemic stroke: potential role and challenges in clinical practice and research (REVIEW ARTICLE)** *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*, 2018. DOI:10.1080/10408363.2018.1461190.
- MEHTA, S.H.; MANHAS, M.; RAGHUBIR, R. **Molecular targets in cerebral ischemia for Developing Novel Therapeutics (Review).** *Brain Research Reviews* 54 (2007) 34-66.
- MURRAY, C.J. *et al.* **Disability-adjusted life years (DALYs) for 291 diseases and injuries in 21 regions, 1990-2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010.** *Lancet*, v. 380, n. 9859, p. 2197-223, Dec. 15.2012.
- NG, G.J.L.; QUEK, A.M.L.; CHEUNG, C. *et al.* **Stroke biomarkers in clinical practice: A critical appraisal.** *Neurochem Int.* Jul 2017;107:11-22. doi:10.1016/j.neuint.2017.01.005.

ROSENBERG, I.H Sarcopenia: Origins and Clinical Relevance. Symposium: Sarcopenia: Diagnosis and Mechanisms. *The Journal of Nutrition*, Volume 127, Edição 5, maio de 1997, Páginas 990S-991S. <https://doi.org/10.1093/jn/127.5.990S>

RYAN, A.S.; MACKO, R.F.; PETERS, M.N. *et al.* **Plasma adiponectin levels are associated with insulin sensitivity in stroke survivors.** *J Stroke Cerebrovasc Dis.* 2009;18(3):214-220. doi: 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2008.10.001.

SCHERBAKOV, N.; SANDEK, A.; DOEHNER, W. **Stroke-related sarcopenia: specific characteristics.** *J Am Med Dir Assoc.* 2015;16(4):272-276. doi: 10.1016/j.jamda.2014.12.007.

SHOAEB, M.A. *et al.* **CRP in cerebrovascular stroke: Prognostic implications.** Production and hosting by Elsevier 2014. doi:10.1016/j.ejccm.20-14.03.001.

## MANUSCRITO 1 – Versão em inglês

### **Adiponectin concentration is associated with skeletal muscle mass and HDL in stroke individuals**

Cássia Regina Saade-Pacheco<sup>1,2\*</sup>, MSc; Luisa Fernanda García-Salazar<sup>1,3\*</sup>, MSc; Jean Alex Matos Ribeiro<sup>1\*</sup>, MSc; Stella Marcia Matiello<sup>1</sup>, PhD; Aparecida Maria Catai<sup>1</sup>, PhD; Adriana Sanches Garcia-Araújo<sup>1</sup>, PhD; Thiago Luiz Russo<sup>1†</sup>, PhD

\*Authors contributed equally to this manuscript.

<sup>1</sup>Federal University of São Carlos, Department of Physical Therapy, São Carlos, Brazil.

<sup>2</sup>Educational Foundation of the Municipality of Assis, Municipal Institute of Higher Education of Assis, Assis, Brazil.

<sup>3</sup>Universidad del Rosario, School of Medicine and Health Sciences, Rehabilitation Science Research Group, Bogotá, Colombia.

†Corresponding author's contact information: Laboratório de Pesquisa em Fisioterapia Neurológica, Departamento de Fisioterapia, Universidade Federal de São Carlos, Rodovia Washington Luis, km 235 – SP-310, Monjolinho, CEP: 13565-905, São Carlos, São Paulo, Brasil. Telephone: +55 16 3351-9578. Email: russo@ufscar.br (T. L. Russo)

#### **Ethics Approval**

This study was approved by the Ethics and Research Committee at the Federal University of São Carlos, Brazil (Certificate of Presentation for Ethical Appreciation [CAAE] 62417216.9.0000.5504). All patients provided informed consent before participating in this study.

#### **Acknowledgment of financial support**

This study was funded by the Brazilian Government Funding Agencies: Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel – CAPES (Finance Code 001), the São Paulo Research Foundation – FAPESP (funding: 2017/13655-6) and the National Council for Scientific and Technological Development – CNPq (funding: 442972/2014-8 and 190413/2017-4).

## Abbreviations

AC	Atherogenic coefficient
ADPc	Adiponectin concentration
AIP	Atherogenic index of plasma
BCa	Bias-corrected and accelerated
BFM	Body fat mass
BFMI	Body fat mass index
BMI	Body mass index
CI <sub>95</sub>	95% confidence interval
CRI-I	Castelli's risk index-I
CRI-II	Castelli's risk index-II
FMA	Fugl-Meyer Assessment of Motor Recovery after Stroke
HDL	High-density lipoprotein
IQR	Interquartile range
LDL	Low-density lipoprotein
OD	Obesity degree
$r_s$	Spearman's rank correlation coefficient
SAM	StepWatch <sup>®</sup> Activity Monitor
SD	Standard deviation
SMM	Skeletal muscle mass
SMMI	Skeletal muscle mass index
TC	Total cholesterol
TG	Triglycerides
VFA	Visceral fat area

## Abstract

**Background and Purpose:** Higher adiponectin concentration (ADPc) has been associated with the presence of sarcopenia in individuals with cardiovascular diseases. Post-stroke individuals presented higher ADPc than non-stroke ones. However, no previous study has investigated the relationship between the ADPc and skeletal muscle mass in post-stroke individuals. On the other hand, higher ADPc has been related to a more favorable lipid profile and the physical activity level might regulate ADPc. These associations have not been studied in this population. Thus, the main objective of this study was to determine whether the adiponectin concentration is related to: 1) body composition; 2) lipid profile; and 3) physical activity level in chronic post-stroke individuals. **Methods:** Data on body composition and lipid profile were collected using a bioelectrical impedance analyzer (InBody<sup>®</sup> 720) and an automated method analyzer (CELL-DYN Ruby), respectively. The physical activity level was measured by the StepWatch<sup>®</sup> Activity Monitor and the serum adiponectin concentration was analyzed using an enzyme-linked immunosorbent assay kit. Correlation analyses were made using Spearman's rank correlation coefficient ( $r_s$ ). **Results:** Twenty-one post-stroke participants took part in the study. The ADPc was correlated with the following: weight ( $r_s = -0.73$ ), body mass index ( $r_s = -0.50$ ), skeletal muscle mass ( $r_s = -0.78$ ), skeletal muscle mass index ( $r_s = -0.75$ ) and high-density lipoprotein ( $r_s = 0.43$ ). **Discussion and Conclusions:** A greater ADPc is related to a lower skeletal muscle mass and a higher high-density lipoprotein level in chronic post-stroke individuals.

**Key Words:** adiponectin, body composition, skeletal muscle, high-density lipoproteins lipids, physical activity, stroke

## Introduction

About 38,000 people suffer stroke worldwide every day<sup>1</sup> resulting in activity limitations and participation restrictions associated skeletal muscle wasting due to the corticospinal injury.<sup>2</sup> The deleterious muscle changes following stroke, such as muscle fibrosis, intramuscular fat, a shift from type I to type II fibers and muscle atrophy<sup>3-5</sup>, are features that distinguish them from other disease-related muscle wasting.<sup>2</sup> Added to that, their sedentary behavior and lower physically inactive level enhance the skeletal muscle wasting.<sup>1,6</sup>

It has been suggested that the signaling of adiponectin participate in the process of muscular muscle regulation.<sup>7</sup> Higher adiponectin concentration (ADPc) has been associated with the presence of sarcopenia in individuals with cardiovascular diseases and the elderly.<sup>8,9</sup> Ryan et al.<sup>10</sup> have observed that chronic stroke survivors presented 60% higher ADPc than non-stroke individuals. Therefore, it can be speculated that in molecular mechanisms of stroke-related skeletal muscle wasting, the adiponectin protein might be involved in the reduction of skeletal muscle mass. However, to the best of our knowledge, no studies to date have investigated the correlation between the ADPc and skeletal muscle mass in chronic post-stroke individuals.

On the other hand, higher ADPc has been related to a more favorable metabolic profile and decreased cardiovascular risk.<sup>11</sup> A previous study showed a negative association between ADPc and triglycerides and low-density lipoprotein in sedentary individuals with spinal cord injury.<sup>12</sup> In addition, even light-intensity physical activity may modify ADPc in sedentary elderly people, which means that a small amount volume of physical activity helps to regulate adiponectin.<sup>13</sup> Taking into account that chronic post-stroke individuals are sedentary and physically inactive, these associations have not been studied in this population.

The characterization of the relationship between the adiponectin and skeletal muscle mass should clarify the molecular mechanisms related to stroke-induced sarcopenia. In addition, knowing whether the physical activity level is associated with ADPc may support the rationale of the interventions to regulate the ADPc into an optimal range. Thus, the main objective of this study was to determine whether the ADPc is correlated with: 1) body composition; 2) physical activity level; and 3) lipid profile in chronic post-stroke individuals. The hypotheses of this study were that higher serum ADPc are related to: 1) lower skeletal muscle mass; 2) higher physical activity level; and 3) a better lipid profile.



## Methods

### *Study design and ethical aspects*

This cross-sectional pilot study was approved by the Ethics and Research Committee at the Federal University of São Carlos, Brazil (number: 62417216.9.0000.5504), which is in accordance with the Declaration of Helsinki and the National Health Council Resolution 196/96. We followed the STrengthening the Reporting of OBservational studies in Epidemiology (STROBE) statement.<sup>14</sup> All procedures were explained to the participants before they signed the informed consent form.

### *Setting and participants*

Individuals with chronic hemiparesis due to stroke (time since stroke  $\geq$  6 months ) were recruited from the local community and nearby cities in the state of São Paulo, Brazil, between January 2017 and July 2019. Detailed eligibility criteria were reported elsewhere.<sup>15</sup> In brief, the participants included were: 1) 40-80 years of age; 2) able to walk independently; 3) physically inactive or insufficiently active; and 4) had an absence of cognitive impairment. The participants excluded had: 1) cardiac surgery and or myocardial infarction; 2) uncontrolled chronic disease; and 3) participants were active/passive smokers and/or regular consumers of alcoholic beverages.

All procedures were carried out over three non-consecutive days with a minimum of 72h interval. On the first day of the assessment, participants were interviewed to obtain data on personal characteristics and then the height and motor function were measured at the Department of Physical Therapy at the Federal University of São Carlos, Brazil. Then, a wearable activity monitor was then placed on the participants' nonparetic ankle. On the second day of the assessment, participants returned to the department, the activity monitor was removed, and the body composition was assessed between 8 and 10 am. On the third day of the assessment, a blood sample was collected from participants between 7 and 10 am at the Clinical Analysis Laboratory at UNIMED (a cooperative medical system) in São Carlos, Brazil.

## ***Day 1 assessment***

### *Clinical assessment*

Height was the measure using a standard stadiometer (Welmy R-110, Santa Barbara do Oeste, SP, Brazil). Motor impairment was assessed using the Fugl-Meyer Assessment of Motor Recovery after Stroke (FMA).<sup>16</sup> According to the FMA scores, motor impairment was classified as severe (<50), marked (50-84), moderate (85-94) or slight (95-99). A single evaluator with a background in FMA carried out all the clinical assessments.

### *Physical activity level*

The physical activity level was measured by the StepWatch<sup>®</sup> Activity Monitor (SAM, Modus Health, Washington, D.C., USA), a wearable activity monitor.<sup>17,18</sup> All the procedures were made according to procedures and recommendations described elsewhere.<sup>15</sup> Three physical activity domains measured by the SAM were analyzed: 1) activity frequency [mean steps/day]; 2) activity duration [percentage of time in inactivity (0 steps/min), percentage of time in the activity taken at low (1-15 steps/min), medium (16-40 steps/min) and high (> 40 steps/min) cadences]; and 3) activity intensity [percentage of steps taken at low, medium and high cadences, peak activity index (mean steps/min of the fastest 30 minutes over 24 hours, but not necessarily consecutive), and mean maximum steps/min taken during continuous intervals of 60, 30, and 20 minutes].<sup>6</sup>

## ***Day 2 assessment***

### *Body composition*

The weight and body compositions were measured by a bioelectrical impedance analyzer (InBody<sup>®</sup> 720, InBody Co., Ltd., Seoul, Korea). which has an excellent agreement with dual-energy x-ray absorptiometry (DEXA).<sup>19</sup> The measurement protocol was carried out according to the manufacturer's guidelines. Participants were instructed to fast overnight ( $\geq 8$ h), urinate 30 minutes before the test, and remove all metal, plastics, and heavy clothing, to minimize interference with body composition measurements. For the analysis, the following were considered as variables: weight, body mass index (BMI), body fat mass (BFM), body fat

mass index (BFMI), visceral fat area (VFA), obesity degree (OD), skeletal muscle mass (SMM) and skeletal muscle mass index (SMMI). SMMI is used for the diagnosis of sarcopenia.<sup>20</sup> BMI, BFMI and SMMI were calculated using the following formulas<sup>20-22</sup>:

$$\text{BMI} = \frac{\text{Weight}}{\text{Height}^2} \quad \text{BFMI} = \frac{\text{BFM}}{\text{Height}^2} \quad \text{SMMI} = \frac{\text{SMM}}{\text{Height}^2}$$

The same evaluator who was experienced in body composition assessment carried out all the exams.

### ***Day 3 assessment***

#### *Lipid profile and adiponectin level*

A blood sample was collected from the antecubital vein of the unaffected arm and placed in a 5ml sterile tube with polymer gel. Blood samples were centrifuged and serum was stored at -20°C. Participants were asked to: 1) fast overnight (10-12h); 2) not to attend the exam if any inflammatory process was present; 3) not to perform moderate and vigorous physical activity ( $\geq 48$ h); 4) to maintain their usual diet prior to the exam; and 5) to report any recent symptom or event during the blood sampling week (e.g. recent vaccination, ongoing or recent upper respiratory infection, musculoskeletal symptoms and significant headache), and, in case of the presence of any of them, the blood collection was rescheduled. All the female participants were in the menopause period without hormone replacement therapy.

Total cholesterol (TC), high-density lipoprotein (HDL), low-density lipoprotein (LDL), triglycerides (TG) concentrations were measured by an automated method analyzer (CELL-DYN Ruby, Abbott Laboratories, Chicago, Illinois, USA). The lipid ratios [Castelli's risk index-I (CRI-I) and Castelli's risk index-II (CRI-II)] and atherogenic index [atherogenic coefficient (AC) and atherogenic index of plasma (AIP)] were calculated using the following formulas<sup>23</sup>:

$$\text{CRI-I} = \frac{\text{TC}}{\text{HDL}} \quad \text{CRI-II} = \frac{\text{LDL}}{\text{HDL}}$$

$$\text{AC} = \frac{\text{TC} - \text{HDL}}{\text{HDL}} \quad \text{AIP} = \text{Log} \left[ \frac{\text{TG}}{\text{HDL}} \right]$$

Serum ADPc was analyzed using a highly sensitive enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kit (Invitrogen, Camarillo, CA, USA). All steps were completed according to the instructions of the ELISA kit. Each reaction was conducted in duplicate by the same independent researcher who was experienced in serum analysis, and the mean was used for analysis.

### ***Data analysis***

Characteristics of the sample were expressed as absolute numbers (percentage, %), means (standard deviation, SD) or medians (interquartile range, IQR). According to the Shapiro-Wilk test, the adiponectin level ( $W[21] = 0.78$ ,  $p < 0.01$ ) data showed no normality, thus nonparametric tests were used for all analyses.<sup>24</sup>

Spearman's rank correlation coefficient ( $r_s$ ) was used to determine whether there is a significant correlation between the ADPc with the following: 1) body composition (weight, BMI, BFM, BFMI, VFA, OD, SMM and SMMI); 2) lipid profile (TC, HDL, LDL, TG, CRI-I, CRI-II, AC and AIP); and 3) physical activity level (SAM outputs).<sup>24</sup> In addition, we used a syntax file (Supplementary Material) to perform a non-parametric partial correlation in the Statistical Package for the Social Sciences (SPSS)<sup>25</sup> using the variables with a significant correlation coefficient to control by confounding variables in each variable group: 1) body composition; 2) lipid profile; and 3) physical activity level.

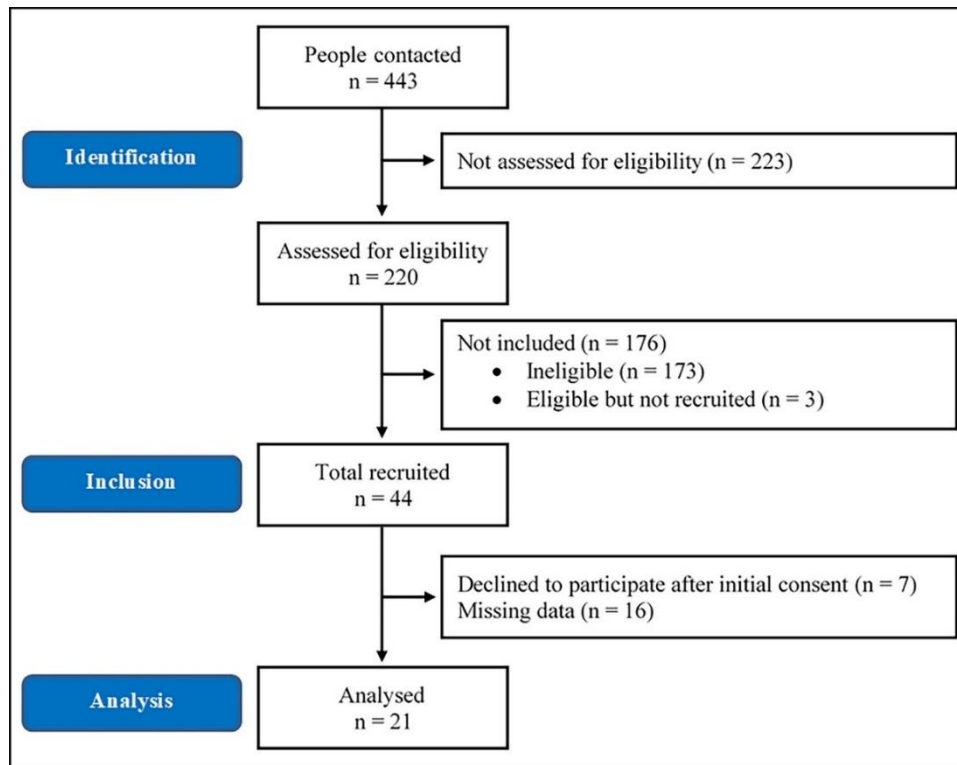
The magnitude of the correlation was based on Munro's classification (low [0.26 to 0.49], moderate [0.50 to 0.69], high [0.70 to 0.89] and very high [0.90 to 1.00]).<sup>26</sup> We used bias-corrected and accelerated (BCa) bootstrap resampling with 10,000 replications to estimate 95% confidence interval ( $CI_{95}$ ).  $CI_{95}$  estimates which did not include zero were considered statistically significant at the level of 5%.<sup>24</sup> All analyses were two-tailed and performed with a significance level of 5% using the SPSS, version 26.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

### **Results**

Four hundred and forty-three individuals were contacted to participate in the study. Out of 443 subjects, 21 participants were analyzed (see Figure 1). Most of them were elderly (57%;  $\geq 60$  years of age), overweight (47%; BMI 25.0-29.9  $\text{kg/m}^2$ )<sup>21</sup>, sedentary (86%;  $< 5000$  steps/day)<sup>27</sup>, and with a severe motor impairment (38%). Additionally, none of them had

sarcopenia (100%; SMMI > 8.87 kg/m<sup>2</sup> for men and > 6.42 kg/m<sup>2</sup> for women)<sup>20</sup>, but the majority presented high cardiovascular risk (76%; AIP > 0.24)<sup>28</sup> (see Table 1).

**Figure 1** Flow chart for this correlational, cross-sectional pilot study.



**Table 1** Participant demographic and clinical characteristics (n = 21).

<b>Characteristics</b>	
Age (years), mean (SD)	61 (8)
Sex, n male (%)	15 (71)
<b>Stroke Characteristics</b>	
Time since stroke (months), median (IQR)	41 (36)
Stroke type, n ischemic (%)	18 (86)
Lesion side, n left (%)	12 (57)
Lower Extremity Fugl Meyer Score, median (IQR)	27 (14)
Fugl Meyer Score (Motor function), median (IQR)	71 (69)
Slight (96-99), n (%)	5 (24)
Moderate (85-95), n (%)	2 (9)
Marked (50-84), n (%)	6 (29)
Severe (< 50), n (%)	8 (38)
<b>Body Composition<sup>a</sup></b>	
Weight (kg), mean (SD)	75 (14)
Body mass index (kg/m <sup>2</sup> ), mean (SD)	28.3 (3.8)
Body fat mass (kg), mean (SD)	28 (9)
Body fat mass index (kg/m <sup>2</sup> ), mean (SD)	10.3 (3.1)
Visceral fat area (cm <sup>2</sup> ), mean (SD)	115.6 (44.2)

(Continue)

*(Tabela 1 Continuation)*

Obesity degree (%)	129 (17)
Skeletal muscle mass (kg), mean (SD)	27 (5)
Skeletal muscle mass index (kg/m <sup>2</sup> ), median (IQR)	9.7 (1.1)
<b>Lipid profile</b>	
Total cholesterol (mg/dL), mean (SD)	178 (31)
High-density lipoprotein (mg/dL), mean (SD)	43 (12)
Low-density lipoprotein (mg/dL), mean (SD)	107 (28)
Triglycerides (mg/dL), mean (SD)	136 (46)
Castelli's risk index-I, median (IQR)	4.04 (0.68)
Castelli's risk index-II, mean (SD)	2.60 (0.82)
Atherogenic coefficient, median (IQR)	3.04 (0.68)
Atherogenic index of plasma, mean (SD)	0.49 (0.25)
<b>Physical Activity Level</b>	
<b>Activity Frequency</b>	
Number of Steps (steps/day), mean (SD)	3266 (1764)
<b>Activity Duration</b>	
Time in inactive (%), mean (SD)	77 (9)
Time in low cadence (%), mean (SD)	79 (8)
Time in medium cadence (%), mean (SD)	20 (7)
Time in high cadence (%), median (IQR)	0 (2)
<b>Activity Intensity</b>	
<b>Steps taken at:</b>	
Low cadence (%), mean (SD)	50 (15)
Medium cadence (%), mean (SD)	44 (12)
High cadence (%), median (IQR)	2 (8)
Peak activity index (steps/min), mean (SD)	28 (10)
Highest step rate in 60 minutes (steps/min), mean (SD)	11 (5)
Highest step rate in 30 minutes (steps/min), mean (SD)	15 (7)
Highest step rate in 20 minutes (steps/min), mean (SD)	18 (8)
Adiponectin (ng/mL), median (IQR)	0.84 (0.54)

**Note:** Continuous variables with normal distribution are presented as means (standard deviations); nonnormal variables are reported as medians (interquartile ranges); Categorical variables are presented as absolute numbers (percentages). Inactive (0 steps/min); Low cadence (1-15 steps/min); Medium cadence (16-40 steps/min); High cadence (> 40 steps/min).

**Abbreviations:** %, percentage; cm<sup>2</sup>, square centimeter; IQR, interquartile range; kg, kilogram; kg/m<sup>2</sup>, kilogram per square meter; mg/dL, milligram per deciliter; ng/ml, nanogram per milliliter; SD, standard deviation; steps/day, steps per day; steps/min, steps per minute

<sup>a</sup>n = 19

### ***Relationship between the adiponectin and the body composition***

The relationship between the ADPc and the body composition is presented in Table 2. The ADPc presented the following findings: 1) a moderate negative correlation with BMI; and 2) a high negative correlation with weight, SMM and SMMI (please see Supplementary Material, Figure2).

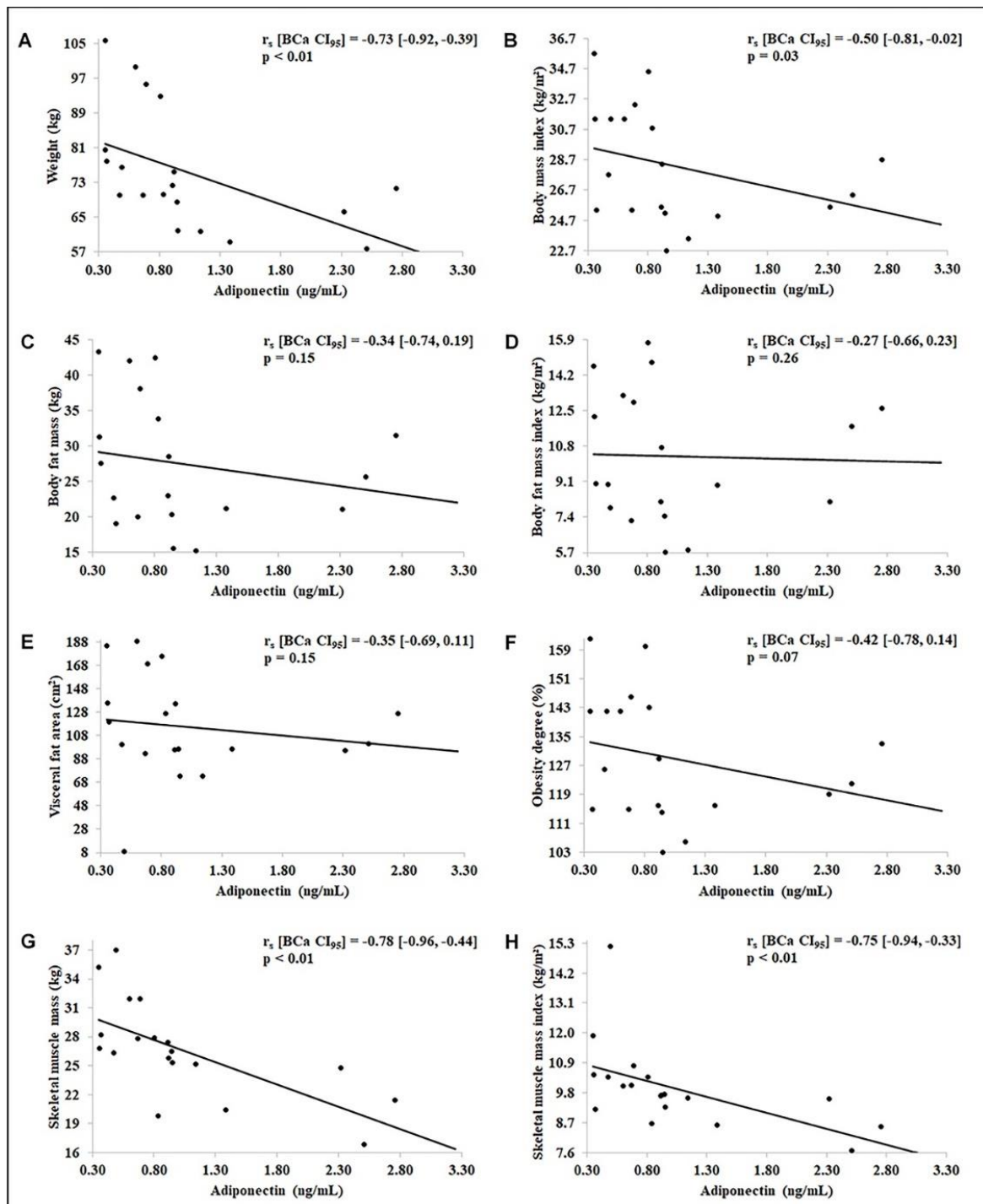
**Table 2** Relationship between adiponectin, body composition, lipid profile and physical activity level (n = 21).

Variables	Adiponectin (ng/mL)	
	r <sub>s</sub> [BCa CI <sub>95</sub> ]	P
<b>Body Composition<sup>a</sup></b>		
Weight (kg)	-0.73 [-0.92, -0.39]	0.00*
Body mass index (kg/m <sup>2</sup> )	-0.50 [-0.81, -0.02]	0.03*
Body fat mass (kg)	-0.34 [-0.74, 0.19]	0.15
Body fat mass index (kg/m <sup>2</sup> )	-0.27 [-0.66, 0.23]	0.26
Visceral fat area (cm <sup>2</sup> )	-0.35 [-0.69, 0.11]	0.15
Obesity degree (%)	-0.42 [-0.78, 0.14]	0.07
Skeletal muscle mass (kg)	-0.78 [-0.96, -0.44]	0.00*
Skeletal muscle mass index (kg/m <sup>2</sup> )	-0.75 [-0.94, -0.33]	0.00*
<b>Lipid profile</b>		
Total cholesterol (mg/dL)	0.31 [-0.17, 0.73]	0.17
High-density lipoprotein (mg/dL)	0.43 [0.01, 0.74]	0.05*
Low-density lipoprotein (mg/dL)	0.15 [-0.34, 0.59]	0.53
Triglycerides (mg/dL)	-0.14 [-0.64, 0.38]	0.54
Castelli's risk index-I	-0.40 [-0.79, 0.13]	0.07
Castelli's risk index-II	-0.27 [-0.70, 0.26]	0.23
Atherogenic coefficient	-0.40 [-0.78, 0.08]	0.07
Atherogenic index of plasma	-0.36 [-0.74, 0.11]	0.11
<b>Physical Activity Level</b>		
Activity Frequency		
Number of Steps (steps/day)	-0.08 [-0.52, 0.40]	0.72
Activity Duration		
Time in inactive (%)	0.01 [-0.53, 0.51]	0.96
Time in low cadence (%)	0.29 [-0.17, 0.67]	0.21
Time in medium cadence (%)	-0.26 [-0.67, 0.26]	0.26
Time in high cadence (%)	-0.22 [-0.67, 0.27]	0.33
Activity Intensity		
Steps taken at:		
Low cadence (%)	0.34 [-0.13, 0.72]	0.13
Medium cadence (%)	-0.31 [-0.75, 0.20]	0.18
High cadence (%)	-0.23 [-0.67, 0.26]	0.32
Peak activity index (steps/min)	-0.30 [-0.67, 0.14]	0.19
Highest step rate in 60 minutes (steps/min)	-0.18 [-0.58, 0.24]	0.42
Highest step rate in 30 minutes (steps/min)	-0.18 [-0.57, 0.25]	0.44
Highest step rate in 20 minutes (steps/min)	-0.19 [-0.59, 0.25]	0.41

**Note:** 95% bias corrected and accelerated confidence intervals reported in square brackets. Confidence intervals based on 10,000 bootstrap samples. Inactive (0 steps/min), low cadence (1-15 steps/min), medium cadence (16-40 steps/min) and high cadence (> 40 steps/min). **Abbreviations:** %, percentage; BCa, bias corrected accelerated; CI<sub>95</sub>, 95% confidence interval; cm<sup>2</sup>, square centimeter; FMA, Fugl-Meyer Assessment of Motor Recovery after Stroke; kg, kilogram; kg/m<sup>2</sup>, kilogram per square meter; mg/dL, milligram per deciliter; ng/ml, nanogram per milliliter; steps/day, steps per day; steps/min, steps per minute.

\*p ≤ 0.05; <sup>a</sup>n = 19

**Figure 2.** Relationship between the adiponectin and the body composition (n = 19). BCa, bias corrected accelerated; CI<sub>95</sub>, 95% confidence interval; cm<sup>2</sup>, square centimeter; kg, kilogram; kg/m<sup>2</sup>, kilogram per square meter; ng/ml, nanogram per milliliter; r<sub>s</sub>, Spearman's rank correlation coefficient.



When controlled by SMM, there were no correlation between ADPc and weight ( $r[16] = -0.28$ ,  $p = 0.26$ ) or BMI ( $r[16] = -0.22$ ,  $p = 0.39$ ). When controlled by weight, the ADPc presented the following findings: 1) a low negative correlation with SMM ( $r[16] = -0.48$ ,  $p =$



0.05); and 2) a moderate negative correlation with SMMI ( $r[16] = -0.53, p = 0.02$ ). When controlled by BMI, the ADPc presented the following findings: 1) a moderate negative correlation with SMMI ( $r[16] = -0.65, p < 0.01$ ); and 2) a high negative correlation with SMMI ( $r[16] = -0.70, p < 0.01$ ).

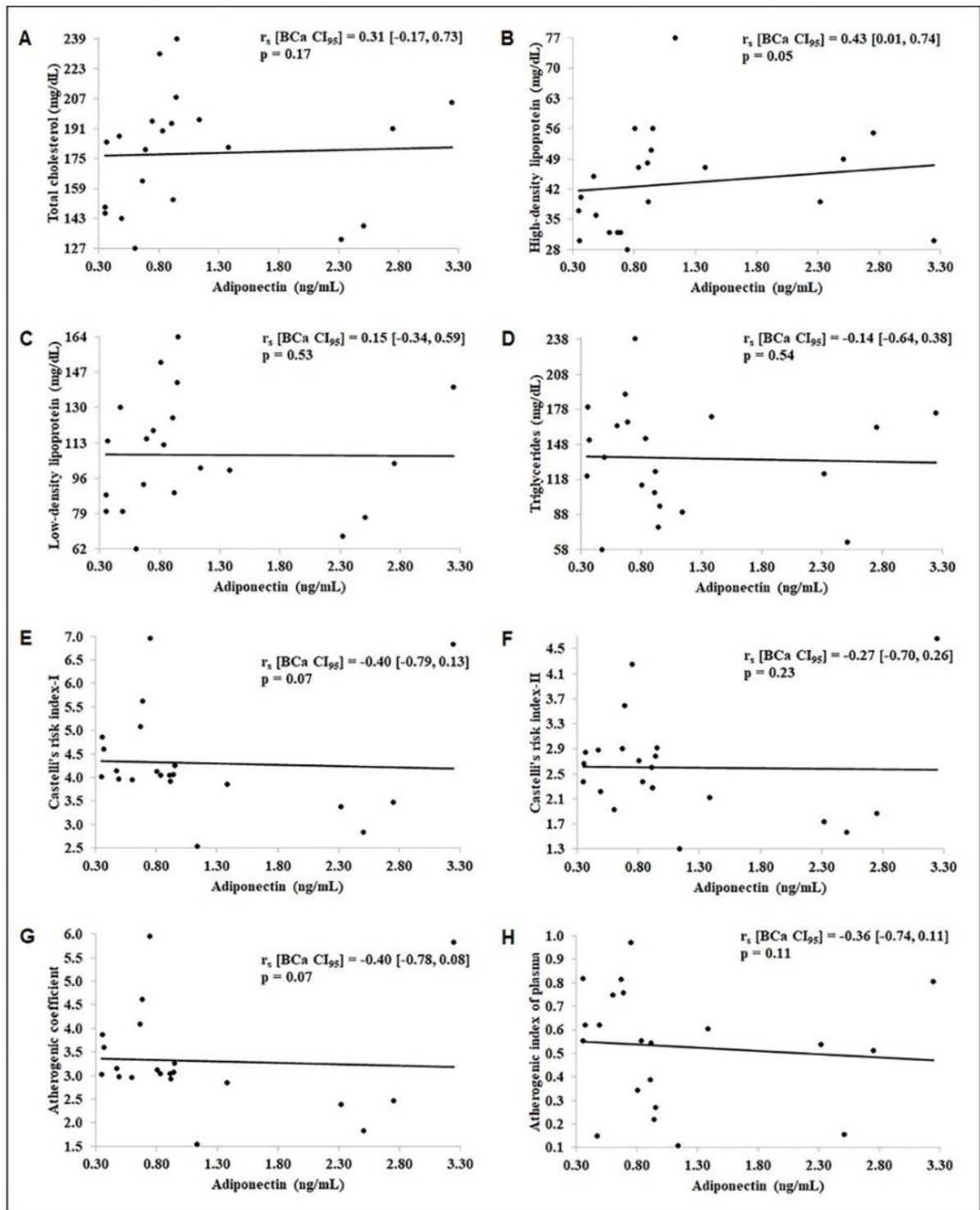
### ***Relationship between the adiponectin and the lipid profile***

The relationship between the ADPc and the lipid profile are presented in Table 2 (see on page 78). The ADPc presented only correlation with HDL (Figure 3; see next page).

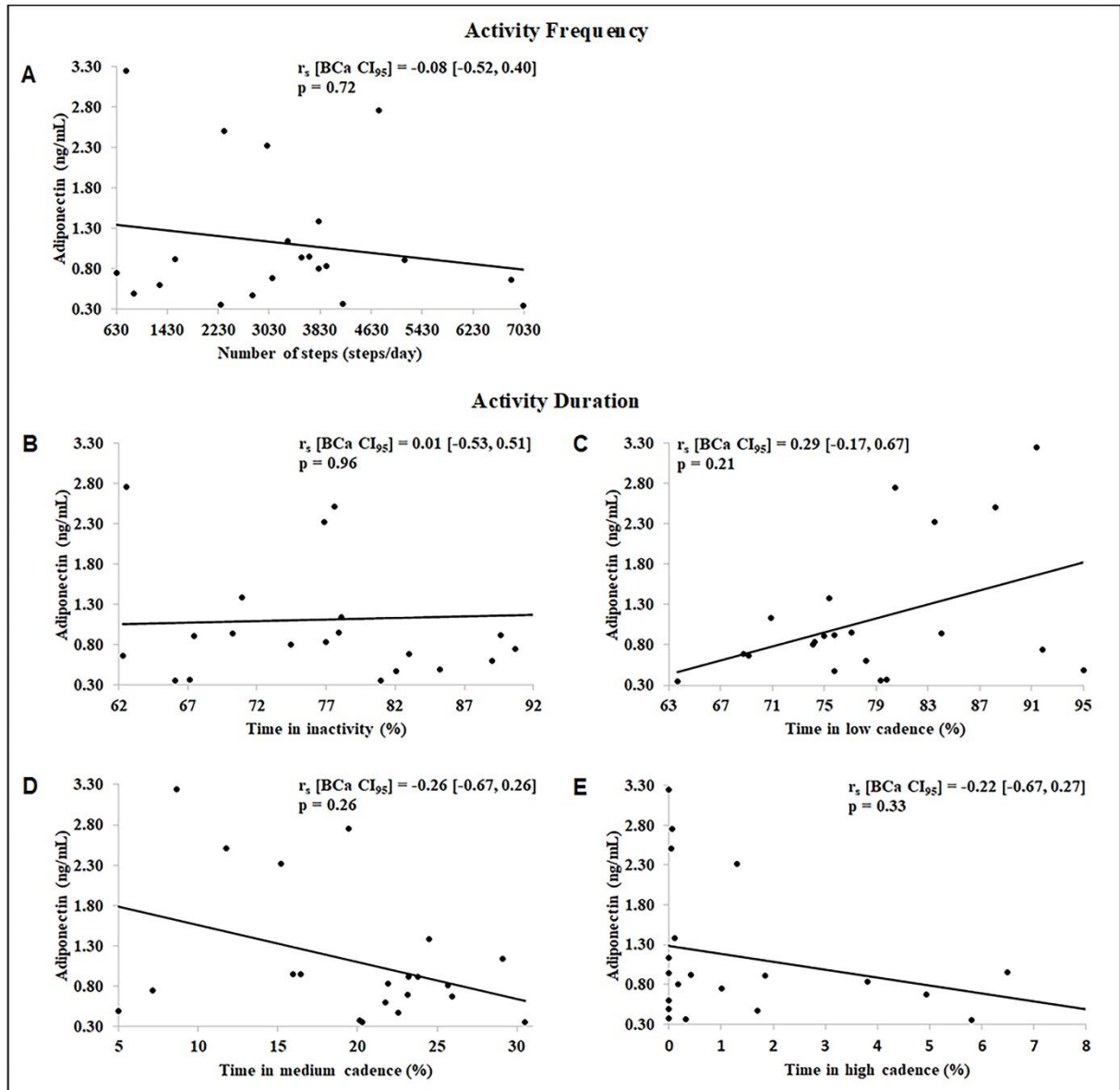
### ***Relationship between the adiponectin and the physical activity level***

The relationship between the ADPc and the physical activity level are presented in Table 2 (see on page 78). None of physical activity level variables were correlated with ADPc (Figures 4, see on page 82; and 5, see on page 83).

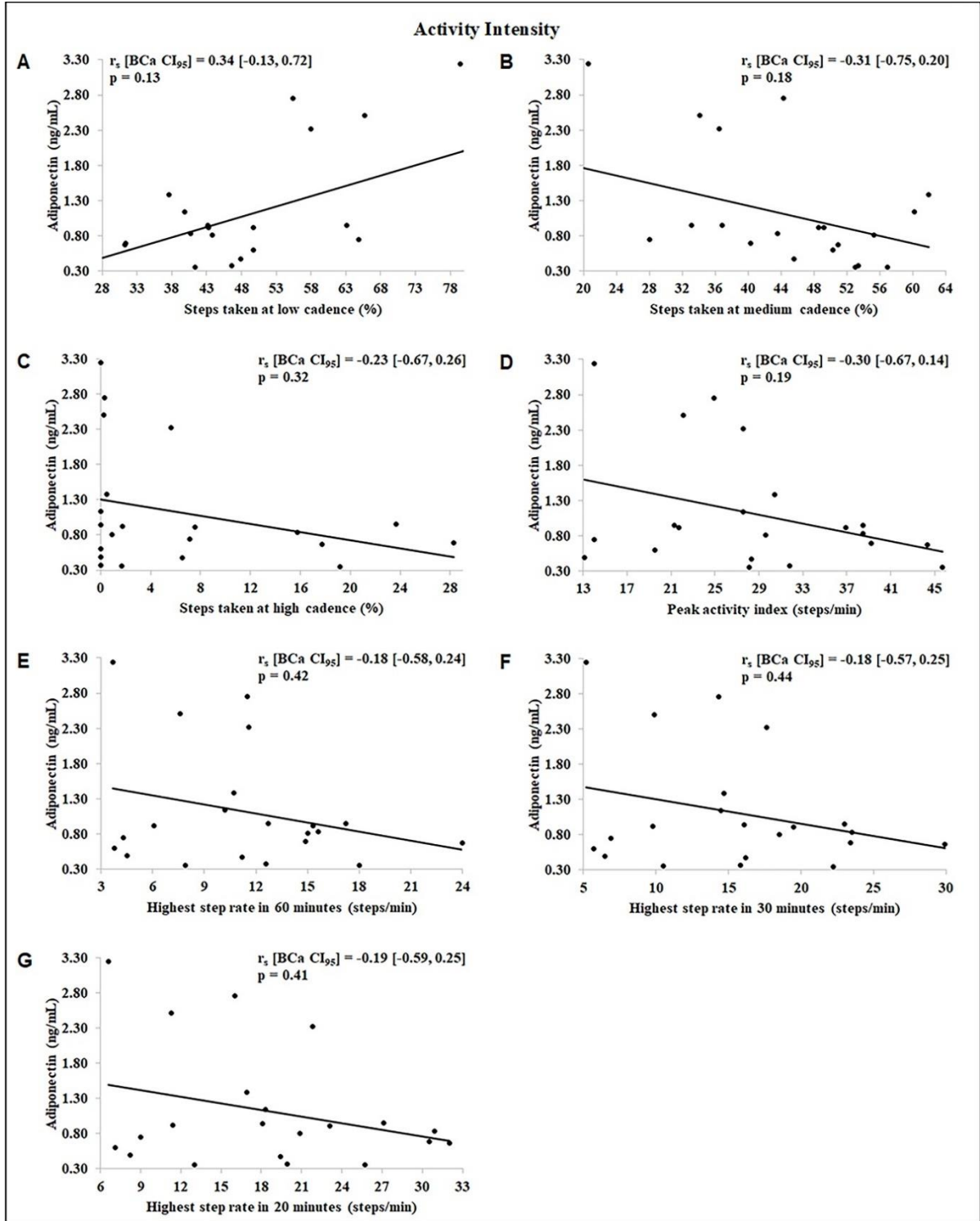
**Figure 3.** Relationship between the adiponectin and the lipid profile (n = 21). BCa, bias corrected accelerated; CI<sub>95</sub>, 95% confidence interval; mg/dL, milligram per deciliter; ng/ml, nanogram per milliliter; r<sub>s</sub>, Spearman's rank correlation coefficient.



**Figure 4.** Relationship between the adiponectin and the physical activity level frequency and duration (n = 21). Inactive (0 steps/min), low cadence (1-15 steps/min), medium cadence (16-40 steps/min) and high cadence (> 40 steps/min). %, percentage; BCa, bias corrected accelerated; CI<sub>95</sub>, 95% confidence interval; ng/ml, nanogram per milliliter; r<sub>s</sub>, Spearman's rank correlation coefficient; steps/day, steps per day.



**Figure 5.** Relationship between the adiponectin and the physical activity level intensity (n = 21). Low cadence (1-15 steps/min), medium cadence (16-40 steps/min) and high cadence (> 40 steps/min). %, percentage; BCa, bias corrected accelerated; CI<sub>95</sub>, 95% confidence interval; ng/mL, nanogram per milliliter; r<sub>s</sub>, Spearman's rank correlation coefficient; steps/day, steps per day; steps/min, steps per minute.



## Discussion

This study investigated whether the serum ADPc correlated with: 1) body composition; 2) lipid profile; and 3) physical activity level in chronic post-stroke individuals. For the first time, it was shown that serum ADPc presented a correlation with weight, BMI, SMM, SMMI, and HDL in this population, although no correlation was observed with physical activity level variables.

Regarding the negative correlation between weight and BMI with ADPc, our results are consistent with previous studies.<sup>29-31</sup> For instance, in overweight and obese individuals, body fat mass seems to downregulate the ADPc.<sup>31</sup> On the other hand, in our study, the relationships between ADPc and weight and BMI disappeared after partial correlation correcting for SMM, which suggests that body composition, i.e., skeletal muscle mass, play a role in regulating ADPc in chronic post-stroke individuals instead of anthropometric measurements.

Furthermore, a strong negative correlation was detected between ADPc and SMM and SMMI, a biomarker of sarcopenia.<sup>20</sup> Post-stroke individuals have greater secretion of adiponectin in an attempt to compensate the underlying effects of cerebral lesion.<sup>10</sup> However, it may be possible that this increased secretion of adiponectin acts in the upregulation of catabolic pathways and proteolysis in skeletal muscle tissue resulting in muscle wasting following stroke.<sup>32</sup> Higher ADPc has been associated with metabolic impairments and a hyper-catabolic state in patients with heart failure<sup>33,34</sup> and enhances skeletal muscle proteolysis via activation of AdipoRs-AMPK signaling pathway.<sup>35</sup>

It is noteworthy to highlight that chronic post-stroke individuals have a systemic inflammation that may impact mitochondrial function promoting catabolism.<sup>2</sup> Although higher ADPc stimulates mitochondrial biogenesis in skeletal muscle mass, it has been reported that inflammation profile might impair mitochondrial biogenesis. For instance, systemic inflammation was associated with skeletal muscle proteolysis in hemodialysis and elderly heart failure patients.<sup>36,37</sup> Besides, Ribeiro et al. showed that the higher C-reactive protein level is associated with a higher energetic demand in chronic post-stroke individuals.<sup>15</sup> Taken together, these results suggest that our population presents an inflammatory condition that seems to interfere in the adiponectin function related to skeletal muscle mass regulation.

As well as circulating adiponectin, its receptors are determinants to relay the adiponectin signal to skeletal muscle function. For instance, congestive heart failure individuals have presented increased adiponectin expression in the skeletal muscle, but downregulation of adiponectin receptors, leading to functional adiponectin resistance.<sup>38</sup> This reasoning could also

explain how this ADPc might have a negative effect on stroke-related skeletal muscle wasting, nevertheless future studies are warranted to confirm this hypothesis.

It has been previously reported that serum ADPc has a positive correlation with HDL and a negative one with LDL and triglycerides,<sup>11,12</sup> having a key role in dyslipidemia. However, this study showed that in chronic post-stroke individuals, higher ADPc was associated with a higher concentration of HDL but no correlations were observed with other variables of the lipid profile. This correlation would be related to the effect of HDL level on the modulation of a new stroke event or as a control of risk factors,<sup>11</sup> suggesting a possible counter-regulating protective response.<sup>10</sup>

On the other hand, in the present study, no association was observed between serum ADPc and physical activity variables. Since our participants were physically inactive and most of them were very sedentary (3266 steps/day and 18h per day spent on inactive),<sup>27</sup> it seems that the physical activity volume and intensity were not enough to alter ADPc. Elhakeem et al.<sup>13</sup> observed that more time spent on light-intensity physical activity (1.5–3 METs) and less sedentary time were related to higher ADPc in the elderly, which suggests cardiovascular protective effects induced by daily physical activity. However, in chronic post-stroke individuals, the presence of a systemic inflammatory process could minimize these protective effects. Future studies should compare active and sedentary chronic post-stroke individuals, and also consider variables of cardiorespiratory fitness, such as  $\dot{V}O_2\text{max}$  and physical activity energy expenditure, to confirm this hypothesis.

### ***Clinical implications of this study***

Although this study is an exploratory study, our results highlighted the relation between ADPc and stroke-related skeletal muscle mass wasting. This study brings another molecular factor that interferes with the muscle mass wasting in this population, and which according to previous studies, this protein can be modified by the inclusion of moderate to high intensity exercises, which would also promote other protective effects on the cardiovascular system through the activation of adiponectin pathways.

### *Study limitations*

Despite the fact that this is an exploratory study, our results must be interpreted with caution because of some limiting factors, such as the inclusion of a convenience sample and no covariation analysis of medication taken by the participants. Individuals with cardiovascular disease are frequently medicated with drugs that may influence ADPc.

### **Conclusion**

In conclusion, the serum adiponectin level is related to body composition and lipid profile, but not by the physical activity level. A greater level of adiponectin has been related to a lower skeletal muscle mass and a higher high-density lipoprotein level in chronic post-stroke individuals.

## References

1. Feigin VL, Krishnamurthi RV, Parmar P, et al. Update on the global burden of ischemic and hemorrhagic stroke in 1990-2013: the GBD 2013 study. *Neuroepidemiology*. 2015;45(3):161-176. doi: 10.1159/000441085.
2. Scherbakov N, Sandek A, Doehner W. Stroke-related sarcopenia: specific characteristics. *J Am Med Dir Assoc*. 2015;16(4):272-276. doi: 10.1016/j.jamda.2014.12.007.
3. Billinger SA, Coughenour E, Mackay-Lyons MJ, Ivey FM. Reduced cardiorespiratory fitness after stroke: biological consequences and exercise-induced adaptations. *Stroke Res Treat*. 2012;2012:959120. doi: 10.1155/2012/959120.
4. Silva-Couto MA, Prado-Medeiros CL, Oliveira AB, et al. Muscle atrophy, voluntary activation disturbances, and low serum concentrations of IGF-1 and IGFBP-3 are associated with weakness in people with chronic stroke. *Phys Ther*. 2014;94(7):957-967. doi: 10.2522/ptj.20130322.
5. Faturi FM, Santos GL, Ocamoto GN, Russo TL. Structural muscular adaptations in upper limb after stroke: a systematic review. *Top Stroke Rehabil*. 2019;26(1):73-79. doi: 10.1080/10749357.2018.1517511.
6. Fini NA, Holland AE, Keating J, Simek J, Bernhardt J. How physically active are people following stroke? Systematic review and quantitative synthesis. *Phys Ther*. 2017;97(7):707-717. doi: 10.1093/ptj/pzx038.
7. Krause MP, Milne KJ, Hawke TJ. Adiponectin – consideration for its role in skeletal muscle health. *Int J Mol Sci*. 2019;20(7):2019. doi: 10.3390/ijms20071528.
8. Harada H, Kai H, Shibata R, et al. New diagnostic index for sarcopenia in patients with cardiovascular diseases. *PLoS One*. 2017;12(5):e0178123. doi: 10.1371/journal.pone.0178123.
9. Loncar G, Bozic B, von Haehling S, et al. Association of adiponectin with peripheral muscle status in elderly patients with heart failure. *Eur J Intern Med*. 2013;24(8):818-823. doi: 10.1016/j.ejim.2013.09.011.
10. Ryan AS, Macko RF, Peters MN, et al. Plasma adiponectin levels are associated with insulin sensitivity in stroke survivors. *J Stroke Cerebrovasc Dis*. 2009;18(3):214-220. doi: 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2008.10.001.



11. Lara-Castro C, Fu Y, Chung BH, Garvey WT. Adiponectin and the metabolic syndrome: mechanisms mediating risk for metabolic and cardiovascular disease. *Curr Opin Lipidol.* 2007;18(3):263-270. doi: 10.1097/MOL.0b013e32814a645f.
12. Schreiber R, Souza CM, Paim LR, et al. Impact of regular physical activity on adipocytokines and cardiovascular characteristics in spinal cord-injured subjects. *Arch Phys Med Rehabil.* 2018;99(8):1561-1567. doi: 10.1016/j.apmr.2018.02.010.
13. Elhakeem A, Cooper R, Whincup P, Brage S, Kuh D, Hardy R. Physical activity, sedentary time, and cardiovascular disease biomarkers at age 60 to 64 years. *J Am Heart Assoc.* 2018;7(16):e007459. doi: 10.1161/JAHA.117.007459.
14. Vandembroucke JP, von Elm E, Altman DG, et al. Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE): explanation and elaboration. *Int J Surg.* 2014;12(12):1500-1524. doi: 10.1016/j.ijvsu.2014.07.014.
15. Ribeiro JAM, Oliveira AGS, Thommazo-Luporini LD, et al. Underlying mechanisms of oxygen uptake kinetics in chronic post-stroke individuals: a correlational, cross-sectional pilot study. *PLoS One.* 2020;15(11):e0241872. doi: 10.1371/journal.pone.0241872.
16. Fugl-Meyer AR, Jääskö L, Leyman I, Olsson S, Steglind S. The post-stroke hemiplegic patient. 1. a method for evaluation of physical performance. *Scand J Rehab Med.* 1975;7(1):13-31.
17. Macko RF, Haeuber E, Shaughnessy M, Coleman KL, Boone DA, Smith GV, Silver KH. Microprocessor-based ambulatory activity monitoring in stroke patients. *Med Sci Sports Exerc.* 2002;34(3):394-399. doi: 10.1097/00005768-200203000-00002.
18. Haeuber E, Shaughnessy M, Forrester LW, Coleman KL, Macko RF. Accelerometer monitoring of home- and community-based ambulatory activity after stroke. *Arch Phys Med Rehabil.* 2004;85(12):1997-2001. doi: 10.1016/j.apmr.2003.11.035.
19. Ling CHY, Craen AJM, Slagboom PE, et al. Accuracy of direct segmental multi-frequency bioimpedance analysis in the assessment of total body and segmental body composition in middle-aged adult population. *Clin Nutr.* 2011;30(5):610-615. doi: 10.1016/j.clnu.2011.04.001.
20. Chen L-K, Liu L-K, Woo J, et al. Sarcopenia in Asia: consensus report of the Asian working group for sarcopenia. *J Am Med Dir Assoc.* 2014;15(2):95-101. doi: 10.1016/j.jamda.2013.11.025.
21. Nuttall FQ. Body mass index: obesity, BMI, and health: a critical review. *Nutr Today.* 2015;50(3):117-128. doi: 10.1097/NT.0000000000000092.

22. Liu P, Ma F, Lou H, Liu Y. The utility of fat mass index vs. body mass index and percentage of body fat in the screening of metabolic syndrome. *BMC Public Health*. 2013;13:629. doi: 10.1186/1471-2458-13-629.
23. Olamoyegun MA, Oluyombo R, Asaolu SO. Evaluation of dyslipidemia, lipid ratios, and atherogenic index as cardiovascular risk factors among semi-urban dwellers in Nigeria. *Ann Afr Med*. 2016;15(4):194-199. doi: 10.4103/1596-3519.194280.
24. Field A. *Discovering statistics using IBM SPSS statistics*. 5th ed. California: SAGE Publications Ltd; 2017.
25. International Business Machines Corporation (IBM). Partial rank correlations in SPSS. Available from: <https://www.ibm.com/support/pages/partial-rank-correlations-spss>. [Accessed Nov 19th, 2020].
26. Munro BH. Correlation. In: Munro BH. *Statistical methods for health care research*. 4th ed. Philadelphia: Lippincott; 2001. pp. 223-243.
27. Tudor-Locke C, Craig CL, Thyfault JP, Spence JC. A step-defined sedentary lifestyle index: <5000 steps/day. *Appl Physiol Nutr Metab*. 2013;38(2):100–114. doi: 10.1139/apnm-2012-0235.
28. Dobiášová M. AIP – atherogenic index of plasma as a significant predictor of cardiovascular risk: from research to practice. *Vnitr Lek*. 2006;52(1):64-71.
29. Arita Y, Kihara S, Ouchi N, et al. Paradoxical decrease of an adipose-specific protein, adiponectin, in obesity. *Biochem Biophys Res Commun*. 1999;257(1):79-83. doi: 10.1006/bbrc.1999.0255.
30. Gariballa S, Alkaabi J, Yasin J, Essa AA. Total adiponectin in overweight and obese subjects and its response to visceral fat loss. *BMC Endocr Disord*. 2019;19(1):55. doi: 10.1186/s12902-019-0386-z.
31. Varady KA, Bhutani S, Klempel MC, et al. Alternate day fasting for weight loss in normal weight and overweight subjects: a randomized controlled trial. *Nutr J*. 2013;12(1):146. doi: 10.1186/1475-2891-12-146.
32. Springer J, Schust S, Peske K, et al. Catabolic signaling and muscle wasting after acute ischemic stroke in mice: indication for a stroke-specific sarcopenia. *Stroke*. 2014;45(12):3675-3683. doi: 10.1161/STROKEAHA.114.006258.
33. Szabó T, Scherbakov N, Sandek A, et al. Plasma adiponectin in heart failure with and without cachexia: catabolic signal linking catabolism, symptomatic status, and prognosis. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2014;24(1):50-56. doi: 10.1016/j.numecd.2013.04.015.

34. Springer J, Anker SD, Doehner W. Adiponectin resistance in heart failure and the emerging pattern of metabolic failure in chronic heart failure. *Circ Heart Fail.* 2010;3(2):181-182. doi: 10.1161/CIRCHEARTFAILURE.110.945063.
35. Ito R, Higa M, Goto A, et al. Activation of adiponectin receptors has negative impact on muscle mass in C2C12 myotubes and fast-type mouse skeletal muscle. *PLoS One.* 2018;13(10): e0205645. doi: 10.1371/journal.pone.0205645.
36. Deger SM, Hung AM, Gamboa JL, et al. Systemic inflammation is associated with exaggerated skeletal muscle protein catabolism in maintenance hemodialysis patients. *JCI Insight.* 2017;2(22): e95185. doi: 10.1172/jci.insight.95185.
37. Koshikawa M, Harada M, Noyama S, et al. Association between inflammation and skeletal muscle proteolysis, skeletal mass and strength in elderly heart failure patients and their prognostic implications. *BMC Cardiovasc Disord.* 2020;20(1):228. doi: 10.1186/s12872-020-01514-0.
38. Van Berendoncks AM, Garnier A, Beckers P, et al. Functional adiponectin resistance at the level of the skeletal muscle in mild to moderate chronic heart failure. *Circ Heart Fail.* 2010;3(2):185-194. doi: 10.1161/CIRCHEARTFAILURE.109.885525.

## MANUSCRITO 2 – Versão em Inglês

### **Molecular biomarkers in post-acute hemorrhagic stroke as predictors of late motor recovery: Systematic Review.**

Cássia Regina Saade Pacheco\*<sup>1,2</sup>, MSc; Jean Alex Matos Ribeiro\*<sup>1</sup>, MSc; Luisa Fernanda García Salazar\*<sup>1,3</sup>, MSc; Erika Shirley Moreira da Silva<sup>1</sup>, MSc; Simone Garcia de Oliveira<sup>1</sup>, MSc; Ana Flávia Silveira<sup>1</sup>, PT; Adriana Garcia Sanches<sup>1</sup>, PhD; Thiago Luiz Russo<sup>1</sup>, PhD;

#### ***Affiliations:***

\*Authors contributed equally to this manuscript.

<sup>1</sup> Physical Therapy Department, Federal University of São Carlos, São Carlos, Brazil.

<sup>2</sup> Educational Foundation of the Municipality of Assis - FEMA, Municipal Institute of Higher Education of Assis – IMESA, Assis/SP, Brazil.

<sup>3</sup> Universidad del Rosario, School of Medicine and Health Sciences, Rehabilitation Science Research Group, Bogotá, Colombia.

**Cover Title:** Predictive biomarkers in hemorrhagic stroke

#### **Ethics Approval**

This study was approved by the Ethics and Research Committee at the Federal University of São Carlos, Brazil (Certificate of Presentation for Ethical Appreciation [CAAE] 62417216.9.0000.5504). All patients provided informed consent before participating in this study.

#### **Acknowledgment of financial support**

This study was funded by the Brazilian Government Funding Agencies: Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel – CAPES (Finance Code 001), the São Paulo Research Foundation – FAPESP (funding: 2017/13655-6) and the National Council for Scientific and Technological Development – CNPq (funding: 442972/2014-8).

## Abstract

**Background and purpose:** Over the last decades, molecular biomarkers in stroke diagnosis and prognosis have gained clinicians' attention around the world due to their broad application and insights into neuronal and systemic physiological mechanisms following brain injury. The most recent systematic reviews of molecular biomarkers for acute stroke highlight that different blood biomarkers are associated with poor prognosis in ischemic stroke individuals. However, these results might not be generalizable to post-acute hemorrhagic stroke since the underlying mechanisms of this brain damage differ from those found in ischemic stroke. Thus, the main purpose of this review was to synthesize the potential predictive molecular biomarkers for late motor recovery following acute hemorrhagic stroke. **Methods:** We performed a systematic review following the PRISMA guidelines. The research was done in PubMed (Medline), EMBASE, Web of Science, and CINAHL without limited date or publication restrictions. We included studies that addressed the following: collected blood, saliva, urine or cerebrospinal fluid samples within 72 hours after hemorrhagic stroke and that correlated with functionality scales. **Results:** Ten thousand one hundred and sixty-two articles were identified and 181 were considered as eligible. Finally, we included 61 studies, with 79 biomarkers analyzed, of which 52 were considered as predictors, 18 as no predictors and 9 presented controversy results. **Conclusion:** This systematic review showed that the majority of biomarkers studied until now appear to predict functional recovery after hemorrhagic stroke, however no clear recommendations can be provided to identify the most promising and consistent biomarker because of the heterogeneity of molecules studied.

**Keywords:** Biomarkers; Prognosis; Functionality; Intracerebral Hemorrhage.

## Non-Standard Abbreviations and Acronyms

AEM	automated enzymatic method
AHA	automated hematology analyzer
ALP	alkaline phosphatase
ALT	alanine aminotransferase
AST	aspartate aminotransferase
AUC	area under the curve
BNP	brain natriuretic peptide
CCL	c-c motif chemokine ligand
CRP	c-reactive protein
CXCL	c-x-c motif chemokine ligand
CyPA	cyclophilin A
GCS	Glasgow Coma Scale
eGFR	estimated glomerular filtration rate
GFAP	glial fibrillary acidic protein
HGH	human growth hormone
Lp-PLA2	lipoprotein-associated phospholipase A2
MIF	macrophage migration inhibitory factor
MMP	matrix metalloproteinase
mRS	modified Rankin Scale
NGAL	neutrophil gelatinase-associated lipocalin
NIHSS	National Institutes of Health Stroke Scale
NLR	neutrophil-to-lymphocyte ratio
NLR	neutrophil-to-lymphocyte ratio
NSE	neuron-specific enolase
PLR	platelet-to-lymphocyte ratio
ROC	receiver operating characteristic
ROOH	lipid hydroperoxides
S100B	calcium-binding protein B
SAA	serum amyloid A
SCUBE1	Signal peptide-Cub-Epidermal growth factor domain-containing protein 1
UACR	urine albumin-creatinine ratio
VEGF	vascular endothelial growth factor

## Introduction

Over the last decades, molecular biomarkers in stroke diagnosis and prognosis have gained the attention of clinicians around the world due to their broad application to facilitate diagnosis, characterize clinical size and severity, estimate long-term prognosis and select an appropriate treatment option. Nevertheless, clarifying neuronal and systemic physiological mechanisms after brain injury<sup>1</sup> is limited for most commonly used biomarkers, such as brain imaging techniques (magnetic resonance imaging and computed tomography). These biomarkers might help clinicians to identify the most vulnerable individuals to the worst functional prognosis for up to one year after injury<sup>2, 3</sup> and ensure they receive the amount of rehabilitation needed to maximize outcome after stroke from an intensive care unit.<sup>3</sup>

The most recent systematic reviews of molecular biomarkers for acute stroke<sup>4,5</sup> highlight that different blood biomarkers are associated with poor prognosis in ischemic stroke individuals. However, these results might not be generalizable to post-acute hemorrhagic stroke since the underlying mechanisms of this brain damage differ from those found in ischemic stroke<sup>1</sup>, as well as the expression of the biomarker. For instance, Shoaeb *et al.*<sup>6</sup> found a higher level of C-reactive protein (CRP) in ischemic stroke than hemorrhagic stroke and predicted poor functionality in ischemic stroke but not in hemorrhagic stroke. Furthermore, emerging new molecular biomarkers to predict long-term functional outcome in stroke, such as urine biomarkers<sup>3</sup>, might be a useful tool in addition to blood biomarkers, but are not included in recent systematic reviews.<sup>4,5,7</sup>

Thus, the main purpose of this review was to synthesize potential predictive molecular biomarkers for late motor recovery following hemorrhagic stroke. Moreover, the secondary aim was to synthesize the available cutoff values of predictive biomarkers according to the receiver operating characteristic (ROC) curve analysis.

## Methods

This review followed the PRISMA<sup>8</sup> and Cochrane Collaboration recommendations. The review is registered in the International Prospective Register of Systematic Reviews (PROSPERO, Identifier: CRD42020149508).

The literature search was carried out in four databases: Pubmed (Medline); EMBASE; Web of Science; and CINAHL. The articles were selected and analyzed considering the initial

question established with the PICO criteria. The mesh terms were analyzed to identify the most appropriate terms, and these terms were included in the search strategy (Table 1). Publications in Portuguese, English, and Spanish were accepted. The publication period was not limited.

**Table 1.** Search strategy of the meta-analysis. The search was organized by MeSH headings [MeSH] and searches of titles, abstracts, and keywords [tiab].

---

<p>(“stroke” OR “cerebrovascular disorder” OR “cerebrovascular disorders” OR “cerebral vascular disorder” OR “cerebral vascular disorders” OR “cerebrovascular accident” OR “cerebrovascular accidents” OR “cerebral vascular accident” OR “cerebral vascular accidents”)</p> <p>AND (biomarker OR biomarkers OR “molecular biology” OR cytokine OR cytokines OR chemokine OR chemokines OR myokine OR myokines OR adipokine OR adipokines OR neuroimmunokine OR neuroimmunokines OR “neurotropic factor” OR “neurotropic factors” OR “neurotrophic factor” OR “neurotrophic factors” OR neuropeptide OR neuropeptides OR “growth factor” OR “growth factors” OR “growth factor-like molecule” OR “growth factor-like molecules” OR lipids OR steroids OR vitamin OR vitamins OR plasma OR serum OR “blood biomarker” OR “blood biomarkers” OR “serum biomarker” OR “serum biomarkers” OR “plasma biomarker” OR “plasma biomarkers” OR “immune biomarker” OR “immune biomarkers” OR “immunologic biomarker” OR “immunologic biomarkers” OR “urinary biomarker” OR “urinary biomarkers” OR “urine biomarker” OR “urine biomarkers” OR “saliva biomarker” OR “saliva biomarkers” OR “blood marker” OR “blood markers” OR “serum marker” OR “serum markers” OR “plasma marker” OR “plasma markers” OR “immune marker” OR “immune markers” OR “immunologic marker” OR “immunologic markers” OR “biological marker” OR “biological markers” OR “biologic marker” OR “biologic markers” OR “urinary marker” OR “urinary markers” OR “urine marker” OR “urine markers” OR “saliva marker” OR “saliva markers” OR “blood indicator” OR “blood indicators” OR “serum indicator” OR “serum indicators” OR “plasma indicator” OR “plasma indicators” OR “immune indicator” OR “immune indicators” OR “immunologic indicator” OR “immunologic indicators” OR “biological indicator” OR “biological indicators” OR “biologic indicator” OR “biologic indicators” OR “urinary indicator” OR “urinary indicators” OR “urine indicator” OR “urine indicators” OR “saliva indicator” OR “saliva indicators” OR “blood factor” OR “blood factors” OR “serum factor” OR “serum factors” OR “plasma factor” OR “plasma factors” OR “immune factor” OR “immune factors” OR “immunologic factor” OR “immunologic factors” OR “biological factor” OR “biological factors” OR “biologic factor” OR “biologic factors” OR “urinary factor” OR “urinary factors” OR “urine factor” OR “urine factors” OR “saliva factor” OR “saliva factors” OR “saliva” OR “urine”)</p> <p>AND (“motor activity” OR “motor activities” OR “international classification of functioning, disability and health” OR ICF OR “international classification of impairments, disabilities and handicaps” OR ICIDH OR “motor skill” OR “motor skills” OR rehabilitation OR “stroke rehabilitation” OR “stroke rehabilitations” OR “recovery of function” OR “function recovery” OR “function recoveries” OR “physical recovery” OR “physical recoveries” OR “functional recovery” OR “functional recoveries” OR “stroke recovery” OR “motor recovery” OR “motor recoveries” OR severity OR disability OR mobility OR “functional independence” OR “physical independence” OR “motor function” OR “motor functions” OR “health outcome” OR “health outcomes” OR “physical outcome” OR “physical outcomes” OR “functional outcome” OR “functional outcomes” OR “motor performance” OR “motor performances” OR “physical function” OR “physical functions”)</p> <p>AND (adult) NOT (animals) NOT (review)</p>
--

---

### *Eligibility criteria*

The inclusion criteria in this review were as follows: 1- observational, prospective and retrospective study; 2- studies that included individuals over 18 years of age who suffered acute hemorrhagic stroke confirmed by imaging tests; 3- studies with an analysis of molecular



biomarkers present: in blood, urine, saliva and cerebrospinal fluid, collected in the first 72 hours after stroke; 4- studies that evaluated at least one functional recovery scale. Review articles, intervention studies, or studies with individuals who suffered ischemic and hemorrhagic strokes that did not present separate data were excluded. Studies that did not perform a prediction analysis of biomarkers about functional recovery were also excluded.

### *Selection Process*

The *State-of-the-Art through Systematic Review* (StArt) was used to systematize and organize the data search and extraction (Available from: [http://lapes.dc.ufscar.br/tools/start\\_tool](http://lapes.dc.ufscar.br/tools/start_tool)). The search took place in April 2020 by two reviewers who independently carried out the selection process considering the inclusion criteria. Potentially eligible articles were initially selected based on their titles and abstracts. The articles were divided and read in full by three independent pairs, following the inclusion criteria. Disagreements between reviewers were resolved by consensus, and a third reviewer was available for arbitration. The authors were contacted when articles or information needed for analysis were not available.

## **Data Analysis**

### *Data Extraction*

Data extraction was standardized, considering participants and assessments of interest. The data extracted from each study were as follows: author; year of study; size of the sample; characteristics of individuals (sex, age, and stroke location). Clinical severity and neuroimaging findings, laboratory parameters, and the prevalence of risk factors. Time of biomarker collection, clinical and functional scales, time of functional outcome assessment and classification of poor and good outcome according to functional scale.

The molecular biomarkers were allocated in different categories according to their participation in the stroke's pathophysiological process: Inflammation, oxidative stress, neuronal damage, glial activation, metabolism and circulation, coagulation, or vascular function.<sup>9,10</sup> The relationship between biomarkers and motor recovery was established according to the statistical analysis of each of the studies included in this review. Thus, biomarkers were considered as independent predictors, predictors, or non-predictors. Moreover, the biomarker's expression for the group of post-stroke individuals with poor or good functional recovery was described, considering the classification made by each of the studies.

For each included study, we tabulated the optimal biomarkers cutoff values according to ROC curve analysis to detect functional recovery after hemorrhagic stroke, and their respective area under the curve (AUC) values, sensitivity, and specificity. Diagnostic accuracy was defined using AUC values: excellent (0.9-1.0), very *good* (0.8-0.9), *good* (0.7-0.8), sufficient (0.6-0.7) and bad accuracy (0.5-0.6).<sup>11, 12</sup> We also tabulated the true positive (TP), true negative (TN), false positive (FP) and false negative (FN), calculated the misclassification rate for each cutoff point and classified them as: very low (0-10%), low (10-30%), moderate (30-50%), high (50-70%) and very high misclassification rate (> 70%). The equation is described below.<sup>11</sup>

$$\text{Misclassification rate} = \frac{\text{FP} + \text{FN}}{\text{TP} + \text{TN} + \text{FP} + \text{FN}} \times 100$$

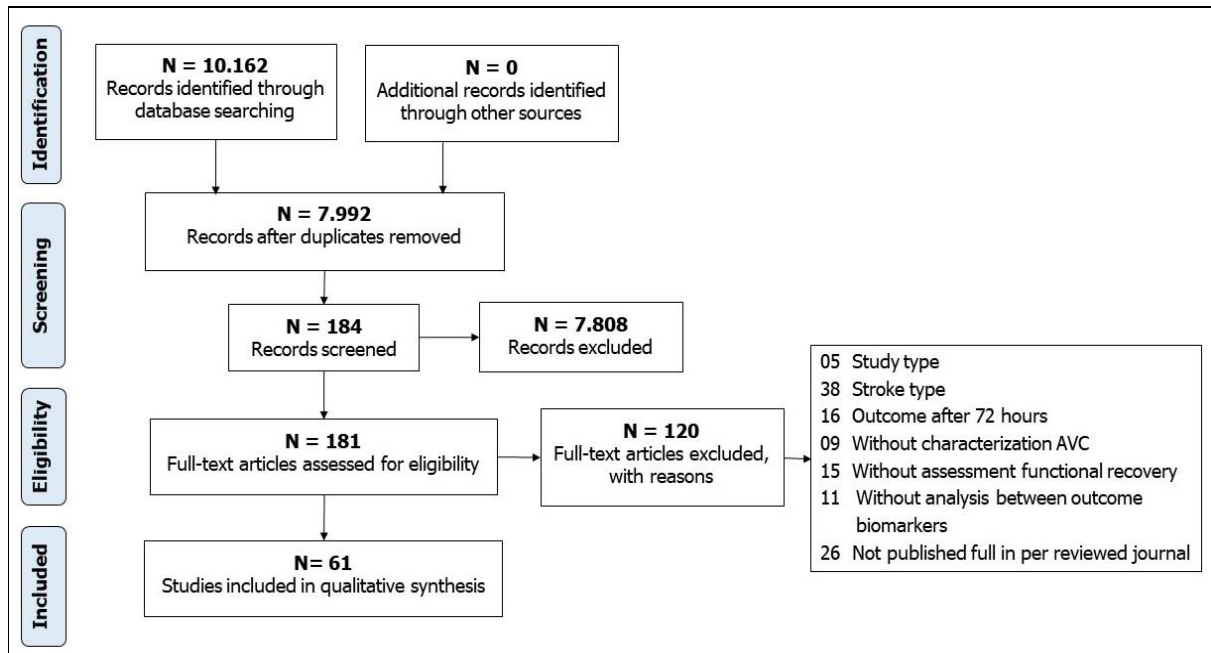
#### *Risk of bias assessment*

The risk of bias of each study was assessed by the Quality Assessment of Diagnostic Accuracy Studies (QUADAS-2).<sup>13</sup> The seven QUADAS-2 items were designed to assess the risk of bias and/or the applicability to the general population of four methodological points: patient selection, the index test, the reference standard used, and the flow of patients through the study or timing of the index test.<sup>14</sup> This tool considers not only the validity of those items (i.e., content validity), but also whether the items inform an underlying construct (i.e., construct validity). Each study was evaluated by two independent researchers and a third one was considered if there were discrepancies.

## **Results**

Ten thousand one hundred and sixty-two articles were identified through an electronic search. After excluding duplicate studies and screening the titles and abstracts, 181 articles were considered for eligibility and read in full text. Finally, 61 articles were included (Figure 1). The studies that presented the data in percentage, median, interquartile or minimum/maximum, were transformed into mean and standard deviation as suggested by the Cochrane Collaboration.<sup>15</sup>

**Figure 1.** Flow Diagram. PRISMA, 2009.



### *Study characteristics*

A description of the characteristics of the included studies is shown in Table 2 (next page). The studies included a total of 11,646 participants, of whom 6,696 were men and 4,881 women. Only one study did not specify age, gender, and stroke location of the participants in the study.<sup>3</sup> Most studies performed the analysis classifying motor recovery according to the Modified Rankin Scale (mRS) and grouping participants into a poor ( $\geq 3$ ) and good result ( $\leq 2$ ), however the cutoff score differed between the studies. Five studies<sup>17-21</sup> considered the relationship with the group of individuals with good recovery.

**Table 2.** Demographic characteristics of the participants in the selected studies.

Author, year	Total sample size (M/F)	Age (years)	Stroke location	Time of biomarker collection (hours)	Biomarker	Time of functional outcome assessment (days)	Clinical Scales	Definition outcome mRS (1-poor, 2-good)
Alexandrova <sup>24</sup> , 2011	46 (23/23)	63.0±12.0	ICH	< 48	CRP (mg/l), ROOH (pg/ml)	2 and 7	GCS, NIHSS, MSS	1: ≥ 3
Bakhshayesh <sup>26</sup> , 2014	63 (34/29)	69.68±1.88	ICH	< 72	Ferritin (ng/ml)	90	GCS, NIHSS, mRS	1: ≥ 3
Bian <sup>28</sup> , 2019	164 (95/69)	66.0±5.10	sBGH	< 24	Lp-PLA2 (ng/ml)	90	NIHSS, mRS	1: > 2
Brea <sup>29</sup> , 2009	44 (26/18)	61.5±12.7	ICH	< 24 and 72	S100B (µg/L) NSE (ng/mL)	90	NIHSS, mRS	1: > 2
Chen <sup>30</sup> , 2017	2444 (1570/874)	62.5±14.2	ICH	< 6	Cholesterol (mg/dL)	90	NIHSS, GCS, mRS	1: > 2
Chen <sup>31</sup> , 2018	105 (63/42)	67.0±3.06	sBGH	< 24	CyPA (ng/mL)	90	NIHSS, GCS, mRS	1: > 2
Chen <sup>32</sup> , 2019	106 (61/45)	67.0±4.59	sBGH	< 24	NGAL (ng/mL)	90	NIHSS, GCS, mRS	1: >2
Crago <sup>57</sup> , 2015	99 (37/62)	50.4±10.1	sSAH	< 72, 120-168, 240	Estrogen (pg/ml)	90 and 365	NIHSS, mRS	1: 3-6
Dong <sup>58</sup> , 2015	110 (67/43)	64.2±9.7	sBGH	< 24	TSP-1 (ng/mL)	7 and 180	NIHSS, mRS	1: > 2
Du <sup>59</sup> , 2014	128 (78/50)	66.2±9.4	sBGH	< 24	8-Iso-Prostaglandin F2α (pg/ml)	180	NIHSS, mRS	1: > 2
El Hussein <sup>73</sup> , 2018	54 (42/12)	66±21.93	SIH	< 24	SNP rs10940495 in the gp130 locus (ng/µL)	180	GCS, mRS	1: ≥ 3
Gerner <sup>2</sup> , 2018	745(390/355)	74.0±4.59 72.0±5.61 70.0±6.63	ICH	< 72	Troponin I (ng/mL)	180 and 365	NIHSS, GCS, mRS	1: 4-6

*(Continue)*

*(Table2 Continuation)*

Author, year	Total sample size (M/F)	Age (years)	Stroke location	Time of biomarker collection (hours)	Biomarker	Time of functional outcome assessment (days)	Clinical Scales	Definition outcome mRS (1-poor, 2-good)
Goyal <sup>19</sup> , 2018	299(179/120)	61.0±13.0	ICH	< 24 and 48	Mg (mg/dL)	2	NIHSS, mRS	2: 0-1
Hu <sup>33</sup> , 2016	68 41/27)	60.7±12.9	ICH	< 72	Fibulin-5 (µg/l)	90	NIHSS, GCS, mRS	1: ≥ 3
Hu <sup>60</sup> , 2019	96 (54/42)	65.0±4.08	ICH	< 24	Klotho (pg/ml)	90	NIHSS, GCS, mRS	1: > 2
Huang <sup>3</sup> , 2013	69	Not reported	Not reported	< 72	eGFR (ml/min per 1.73 m <sup>2</sup> ), UACR (mg/g)	90, 365	NIHSS, GCS, mRS	1: 3-6
Huangfu <sup>34</sup> , 2020	159 (88/71)	64.0±4.08	sBGH	< 24	SAA (mg/l)	90	NIHSS, mRS	1: > 2
Hviid <sup>61</sup> , 2019	44 (13/31)	58.0±10.0	ICH	< 24	Neurofilament (pg/ml)	30	GCS, mRS	1: > 4
Inoue <sup>35</sup> , 2013	273 (92/181)	70.0±11.0	ICH	< 24	Calcium (mg/dL)	30	NIHSS, mRS	1: 0-2
James <sup>22</sup> , 2009	28 (14/14)	62.0±4.1	SIH	< 24	S100B (µg/L) BNP (10µl)	2	NIHSS, GCS, ICH score, BI, mRS	-
Ji <sup>37</sup> , 2017	128 (77/51)	64.0±4.08	sBGH	< 24	Periostin (ng/ mL)	180	NIHSS, mRS	1: > 2
Jiang <sup>38</sup> , 2014	172 (99/73)	68.4±9.7	sBGH	< 6	YKL-40 (ng/mL)	90	NIHSS, mRS	1: > 2
Kim <sup>21</sup> , 2009	585(288/297)	63.0±12	ICH	< 24	WBC (10×10 <sup>3</sup> /µL), AST (40 IU/L), ALT (41 IU/L), Glucose (mmol/l) Platelet(150×10 <sup>3</sup> /µL)	30 and 90	GCS, mRS	2: 0-3

*(Continue)*

*(Table2 Continuation)*

Author, year	Total sample size (M/F)	Age (years)	Stroke location	Time of biomarker collection (hours)	Biomarker	Time of functional outcome assessment (days)	Clinical Scales	Definition outcome mRS (1-poor, 2-good)
Landreneau <sup>39</sup> , 2018	128 (50/78)	67.5±5.10	Ssah	6, 24 and 72	IL-1β, IL-1ra, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, CX3CL1, G-CSF, GM-CSF, CXCL10, CCL2, CCL7, CCL22 and TNF (pg/ml)	90	NIHSS, mRS	1: 4-6
Lattanzi <sup>62</sup> , 2018	208 (132/76)	66.7±12.4	sICH	< 24	WBC(×1000/mm <sup>3</sup> ), NLR	30	NIHSS, mRS	1: ≥ 3
Li <sup>40</sup> , 2013	59 (41/18)	56.0±11.0	sBGH	< 24	MMP-3 (ng/mL), MMP-9 (ng/mL), VEGF (pg/mL), Ang-1 (ng/mL)	90	NIHSS, GCS, mRS	1: > 3
Li <sup>63</sup> , 2020	162 (94/68)	66.0±4.58	sBGH	< 24	Osteopontin (pmol/l)	90	NIHSS, mRS	1: > 2
Lin <sup>41</sup> , 2016	110 (67/43)	64.2±9.7	sBGH	< 24	sCD40L (ng/ml)	180	NIHSS, mRS	1: > 2
Lin <sup>42</sup> , 2017	120 (72/48)	64.0±4.08	sBGH	< 24	MIF (ng/ml)	180	NIHSS, mRS	1: > 2
Lv <sup>72</sup> , 2018	81 (34/47)	55.9±10.14	sSAH	< 24	IL-1β, IL-18 and TNF-α (pg/ml)	180	HHG, mRS	1: > 2
Mao <sup>36</sup> , 2019	658(340/318)	65.31±4.54 66.78±5.21 63.49±6.68	sICH	< 72	Calcium (mg/dL)	180	NIHSS, mRS	1: >2
Pérez de la Ossa <sup>27</sup> , 2010	91(60/31)	66.6±10.0 69.7±10.0	ICH	< 3, 24 and 72	Ferritin (ng/ml)	180	NIHSS, mRS	1: > 2
Qiu <sup>43</sup> , 2016	128 (77/51)	66.3±9.8	sBGH	< 24	SCUBE1 (ng/ml)	180	NIHSS, mRS	1: > 2
Qureshi <sup>44</sup> , 2011	60 (34/26)	62.0±15.1	ICH	< 24	Glucose (mmol/l)	90	NIHSS, GCS, mRS	1: > 3

*(Continue)*

*(Table2 Continuation)*

Author, year	Total sample size (M/F)	Age (years)	Stroke location	Time of biomarker collection (hours)	Biomarker	Time of functional outcome assessment (days)	Clinical Scales	Definition outcome mRS (1-poor, 2-good)
Sheng <sup>45</sup> , 2018	128 (54/74)	59.0±11.7	sSAH	< 24 and 72	miR-1297 (expression levels)	365	WFNS, HHG	1: 3-5
ShoaeB <sup>6</sup> , 2014	25 (13/12)	60.3±8.0	sICH, sSAH	< 24	CRP (mg/l)	7	NIHSS, mRS	1: > 2
SobrinO <sup>17</sup> , 2009	95 (63/32)	65.0±12.3 69.2±8.9	ICH	24 and 72	VEGF (pg/mL), Ang-1 (ng/ml), G-CSF (pg/mL)	90	NIHSS, mRS	2: ≤ 2
Sun <sup>46</sup> , 2017	352(234/118)	64.2±13.8	ICH	< 24	NLR	90	NIHSS, mRS	1: ≥ 3
Sun <sup>47</sup> , 2017	112 (69/43)	64.4±9.8	sBGH	< 24	Caspase-3 (ng/ml)	180	NIHSS, mRS	1: 3-6
Tang <sup>18</sup> , 2014	43 (28/15)	60.1±14.7	ICH	< 48 and 72	Hyaluronic acid (ng/ml)	90	NIHSS, mRS	2: ≤ 2
Tao <sup>71</sup> , 2017	247 (88/159)	55.9±11.9	sSAH	< 24	NLR, PLR, Neutrophils, Lymphocytes	90	aSAH, WFNS, mRS	1: ≥ 3
Wang <sup>64</sup> , 2014	114 (69/45)	65.7±10.5	sBGH	< 6	Plasma adrenomedullin (pg/mL)	90	NIHSS, mRS	1: > 2
Wang <sup>23</sup> , 2016	50 (35/15)	60.0±11.0	sICH	72	miR-130 <sup>a</sup> (expression levels)	14, 90	NIHSS, mRS	-
Wang <sup>50</sup> , 2018	335(222/113)	63.8±13.8	ICH	24	Total bile acids (μmol/l)	90	NIHSS, mRS	1: ≥ 3
Wang <sup>48</sup> , 2018	162 (90/72)	64±4.08	sBGH	24	Tenascin-C (ng/mL)	90	NIHSS, mRS	1 : > 2

*(Continue)*

*(Table2 Continuation)*

Author, year	Total sample size (M/F)	Age (years)	Stroke location	Time of biomarker collection (hours)	Biomarker	Time of functional outcome assessment (days)	Clinical Scales	Definition outcome mRS (1-poor, 2-good)
Wang <sup>49</sup> , 2020	54 (23/31)	58.5±5.66	sSAH	24	Calprotectin (ng/mL)	90	aSAH, mRS	1: > 3
Wu <sup>51</sup> , 2014	380(231/149)	60±4.08	ICH	36	Uric Acid (mmol/L)	14, 90, 365	NIHSS, mRS	1: > 3
Xiong <sup>52</sup> , 2015	81 (47/34)	59.7±10.4 61.9±11.8	ICH	24	Hepcidin (ng/ml) Iron (µg/dL)	36	NIHSS, mRS	1: > 2
Xiong <sup>53</sup> , 2015	43 (28/15)	68.7±11.2	ICH	6	GFAP (ng/ml)	90	mRS	1: 3-5
Yan <sup>65</sup> , 2016	112 (66/46)	63.2±9.6	sBGH	< 24	Galectin-3 (ng/ml)	180	NIHSS, mRS	1: > 2
You <sup>20</sup> , 2016	365(243/122)	64.1±21.9	ICH	24	Calcium (mg/dL)	24	mRS	2: < 1
Zhang <sup>66</sup> , 2012	89 (54/35)	64.5±10.9	sBGH	24	Copeptin (pmol/L)	365	NIHSS, mRS	1: > 2
Zhang <sup>54</sup> , 2020	104 (57/47)	61.9±4.84	sICH	24	Omentin-1(ng/ml)	90	Fisher, mRS	1: 3-5
Zhao <sup>67</sup> , 2013	132 (82/50)	61.9±11.5	sICH	6	Gelsolin (mg/l)	180	NIHSS, mRS	1: > 2
Zhao <sup>68</sup> , 2017	228 (145/83)	62.4±12.9	sICH	24	Glucose (mmol/l)	180	NIHSS, mRS	1: ≥ 3
Zheng <sup>16</sup> , 2016	82 (56/26)	61.3±4.7	ICH	72	VEGF (pg/mL)	90	NIHSS, mRS	1: ≥ 3
Zheng <sup>55</sup> , 2018	128 (77/51)	66.3±9.8	sBGH	24	Myeloperoxidase (ng/ml)	180	NIHSS, mRS	1: > 2
Zhou <sup>70</sup> , 2015	69 (45/24)	61.0±11.0	Sich	48	Homocysteine (µmol/L)	180	mRS	1: ≥ 3
Zhou <sup>69</sup> , 2016	46 (30/16)	68.1±11.6	ICH	6	S100B (µg/L)	90	NIHSS, mRS	1: ≥ 3

*(Continue)*



(Table2 Continuation)

Author, year	Total sample size (M/F)	Age (years)	Stroke location	Time of biomarker collection (hours)	Biomarker	Time of functional outcome assessment (days)	Clinical Scales	Definition outcome mRS (1-poor, 2-good)
Zhu <sup>56</sup> , 2019	196 (93/103)	57.5±10.3	ASAH	24	Alkaline (U/L)	180	aSAH, mRS	1: 3-6
Zweifel <sup>25</sup> , 2011	40 (22/18)	71±3.57	ICH	24	HGH (ng/ml) Glucose (mmol/L) CRP (mg/ml) WBC (counts)	90	BI, mRS	1: ≥ 3

8-iso-PGF2 $\alpha$  indicates 8-iso-prostaglandin F2 $\alpha$ ; ALP, alkaline phosphatase; ALT, Alanine Aminotransferase; ASAH: Aneurysmal subarachnoid hemorrhage; AST, Aspartate Aminotransferase; BI, barthel index; BNP, Brain natriuretic peptide; CCL2, chemokine (C-C motif) ligand 2; CCL7: chemokine (C-C motif) ligand 7; CCL22, C-C motif chemokine 22; CRP, C-reactive protein; CXCL10, C-X-C motif chemokine ligand 10; CyPA, Cyclophilin A; G, good outcome group; GCS, glasgow coma scale, G-CSF, granulocyte-colony stimulating factor; GFAP, Glial fibrillary acidic protein; eGFR, estimated glomerular filtration rate; GM-CSF, granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, HGH. Human growth hormone; HHG, Hunt-Hess Grade; ICH, intracerebral hemorrhage; IL, Interleukin; Lp-PLA2, lipoprotein-associated phospholipase A2; MIF, Macrophage migration inhibitory factor; MMP: Matrix metalloproteinase; mRS, modified ranking scale; NIHSS, national institutes of health stroke scale; NGAL, neutrophil gelatinase-associated lipocalin; NLR, Neutrophil-to-lymphocyte ratio, NSE, Neuron-specific enolase; NfL, neurofilament light chain; P, poor outcome group; PLR, Platelet to lymphocyte ratio; ROOH, lipid hydroperoxides; S100B, calcium-binding protein B; sBGH, spontaneous basal ganglia hemorrhage; sICH, spontaneous Intracerebral hemorrhage; SCUBE1, Signal peptide-Cub-Epidermal growth factor domain-containing protein 1; sSAH, spontaneous subarachnoid hemorrhage, SIH, supratentorial Intracerebral hemorrhage; SSS, scandinavian stroke scale. TNF, tumor necrosis factor; TSP-1: Thrombospondin-1; UACR, urine albumin-creatinine ratio; VEGF, vascular endothelial growth factor and WFNS, modified world federation of neurological surgeons grade.

Among all the studies included in this review, 79 biomarkers were tested. Most molecular biomarkers were extracted from serum (CRP<sup>6,24,25</sup>, ROOH<sup>24</sup>, Ferritin<sup>26,27</sup>, Lp-PLA2<sup>28</sup>, NSE<sup>29</sup>, S100B<sup>22,29</sup>, Cholesterol<sup>30</sup>, CyPA<sup>31</sup>, NGAL<sup>32</sup>, Magnesium<sup>19</sup>, Fibulin-5<sup>33</sup>, eGFR<sup>3</sup>, SAA<sup>34</sup>, Calcium<sup>20,35,36</sup>, BNP<sup>22</sup>, Periostin<sup>37</sup>, YKL-40<sup>38</sup>, AST<sup>21</sup>, ALT<sup>21</sup>, CCL2<sup>39</sup>, CXCL10<sup>39</sup>, CX3CL1<sup>39</sup>, CCL7<sup>39</sup>, CCL22<sup>39</sup>, G-CSF<sup>17,39</sup>, GM-CSF<sup>39</sup>, IL-1ra<sup>39</sup>, IL-4<sup>39</sup>, IL-6<sup>39</sup>, IL-8<sup>39</sup>, IL-10<sup>39</sup>, IL-1 $\beta$ <sup>39</sup>, TNF<sup>39</sup>, MMP-3<sup>40</sup>, MMP-9<sup>40</sup>, Angiopoietin 1<sup>17,40</sup>, sCD40L<sup>41</sup>, MIF<sup>42</sup>, SCUBE1<sup>43</sup>, Glucose<sup>21,44</sup>, miR-1297<sup>45</sup>, VEGF<sup>16,17,40</sup>, NLR<sup>46</sup>, Caspase-3<sup>47</sup>, Tenascin-C<sup>48</sup>, Calprotectin<sup>49</sup>, miR-130a<sup>23</sup>, Bile acids<sup>50</sup>, Uric acids<sup>51</sup>, Hepsidin<sup>52</sup>, Iron<sup>52</sup>, GFAP<sup>53</sup>, Phosphate<sup>20</sup>, Omentin-1<sup>54</sup>, Myeloperoxidase<sup>55</sup>, ALP<sup>56</sup>, HGH<sup>25</sup>), twenty biomarkers were extracted for plasma (Estrogen<sup>57</sup>, TSP-1<sup>58</sup>, 8-iso-PGF2 $\alpha$ <sup>59</sup>, Klotho<sup>60</sup>, Neurofilament<sup>61</sup>, WBC<sup>21,25,62</sup>, NLR<sup>62</sup>, Osteopontin<sup>63</sup>, Hyaluronic acid<sup>18</sup>, Adrenomedullin<sup>64</sup>, Galectin-3<sup>65</sup>, Copeptin<sup>66</sup>, Gelsolin<sup>67</sup>, Glucose<sup>25,68</sup>, S100B<sup>69</sup>, Homocysteine<sup>70</sup>, CRP<sup>25</sup>, Platelets<sup>21</sup>, Neutrophils<sup>62</sup>, Lymphocytes<sup>62</sup>) and two biomarkers were extracted for whole blood (NLR<sup>71</sup>, PLR<sup>71</sup>); three biomarkers from cerebrospinal fluid (IL-1 $\beta$ <sup>72</sup>, IL-18<sup>72</sup>, TNF- $\alpha$ <sup>72</sup>), one from urine (UACR<sup>3</sup>), only one was extracted for DNA (SNP rs10940495 in the gp130 locus<sup>73</sup>), and for one biomarker (Troponin I)<sup>2</sup> the type of extraction was not reported.

Most biomarkers were analyzed with the blood sample collected within 24 hours; only fourteen<sup>2,3,16-18,23,26,27,29,33,36,39,45,72</sup> biomarkers were analyzed with the sample collected within 72 hours. Most studies used ELISA as an analysis technique for biomarkers. However, copeptin<sup>66</sup> and Troponin I<sup>2</sup> techniques used Chemiluminescence Immunoassay, and S100B<sup>69</sup> used Electro-chemiluminescence Immunoassay. AHA and AEM techniques were used to analyze the NLR<sup>71</sup>, PLR<sup>71</sup>, and ALP<sup>56</sup>, respectively.

### *Study population characteristics*

The main clinical characteristics and laboratory results of the post-stroke individuals are presented in Tables 3, 4 and 5. There was a heterogeneity among studies in relation to body mass index (22.4-29.0 kg/m<sup>2</sup>), glucose (5.9-67.2 mmol/L), CRP (3.2-27.2 mg/L), D-dimer (1.7-3.9 mg/L) of individuals, as well as the amount of hypertensive (18-97.4%) and diabetics (0-91.6%) in individuals between studies. The group of poor outcomes was older (57%), and presented higher glucose (68%), CRP (88%) and D-dimer levels (67%) than the good one.

**Table 3.** Prevalence of risk factors of the study population

First author Year	Age* (years)	BMI* (kg/m <sup>2</sup> )	Hypertension n (%)	Diabetes n (%)	Glucose (mmol/L)	CRP* (mg/L)
Alexandrova <sup>24</sup> , 2011	T: 63 ± 12 P: 63 ± 10 G: 63 ± 11	-	T: 40 (87) P: 23 (92) G: 6 (75)	T: 4 (9) P: 3 (12) G: 0 (0)	T: 6.6 (2.6) P: 6.1 (2.5) G: 6.7 (2.6)	T: 18 (49) P: 6 (19) G: 9 (36)
Bakhshayesh <sup>26</sup> , 2014	T: 70 ± 12 P: 68 ± 11 G: 66 ± 9	-	T: 47 (71.4) P: 19 (59.4) G: 11 (78.6)	T: 16 (25.4) P: 8 (88.9) G: 1 (11.1)	-	-
Bian <sup>28</sup> , 2019	T: 66 ± 20 P: 72 ± 15 G: 64 ± 16†	T: 24.5 (3.0) P: 24.9 (2.6) G: 24.0 (3.0)†	T: 137 (53.5) P: 68 (80.0) G: 69 (87.3)	T: 46 (28.1) P: 30 (35.3) G: 16 (20.3)†	P: 14.3 (7.5) G: 13.3 (5.3)†	P: 14.6 (5.8) G: 13.0(3.8)†
Brea <sup>29</sup> , 2009	T: 62 ± 13	-	T: (60.0)	T: (14.8)	T: 67.2 (27.8)	-
Chen <sup>30</sup> , 2017	T: 63 ± 14	T: 24.7±4.3	T: 2102 (86.6)	T: 619 (25.6)	T: 8.5±3.8	-
Chen <sup>31</sup> , 2018	T: 67 ± 13	-	T: 93 (88.6)	T: 25 (25.7)	-	-
Chen <sup>32</sup> , 2019	T: 67 ± 19 P: 74 ± 15 G: 66 ± 16†	T: 26.2±2.3 P: 26.5±2.3 G: 25.8±2.3	T: 92 (86.8) P: 48 (85.7) G: 44 (88.0)	T: 32 (30.2) P: 22 (39.3) G: 10 (20.0)†	T: 13.5±4.3 P: 14.4±4.6 G: 12.6±3.7†	T: 13.3±4.1 P: 14.5±4.2 G: 12.0±3.6†
Crago <sup>57</sup> , 2015	T: 50 ± 10	-	-	-	-	-
Dong <sup>58</sup> , 2015	T: 64 ± 10 P: 67 ± 10 G: 62 ± 9†	-	T: 96 (87.3) P: 47 (83.9) G: 49 (90.7)	T: 27 (24.6%) P: 19 (33.9) G: 8 (14.8)†	P: 14.2±4.5 G: 12.6±2.8†	P: 13.6±4.3 G: 11.7±3.7†
Du <sup>59</sup> , 2014	T: 66 ± 9 P: 68 ± 9 G: 64±9†	-	T: 109 (85.2) P: 55 (83.3) G: 54 (87.1)	T: 38 (29.7) P: 25 (37.9) G: 13 (21.0)†	T: 11.7±4.2 P: 12.7±4.9 G: 10.5±2.9†	T: 11.6±4.4 P: 13.2±5.2 G: 9.9±2.5†
El Husseini <sup>73</sup> , 2018	T: 66 (21) P: 67 G: 66	-	T: 47 (88.9) P: 33 (91.6) G: 14 (82.4)	T: 13 (24.1) P: 33 (91.6) G: 14 (82.4)†	-	-
Gerner <sup>2‡</sup> , 2018	T: 74 (15) 72 (19) 70 (21)	-	T: 357 (81.7) 188 (83.6) 74 (89.2)	T: 123 (28.2) 54 (24.0) 24 (28.9)	-	-
Goyal <sup>19</sup> , 2018	61±13	29±8	260 (87)	102 (34)	T: 8.7±4.6	-
Hu <sup>33</sup> , 2016	T: 61±13 P: 60±15 G: 61±12	-	T: 53 (77.9) P: 18 (81.8) G: 29 (78.4)	T: 12 (17.6) P: 4 (18.2) G: 8 (21.6)	T: 7.1±1.9	-
Hu <sup>60</sup> , 2019	T: 65 (19) P: 71 (14) G: 65 (17)†	T: 24.7 (3.1) P: 24.9 (2.8) G: 24.1 (3.6)	T: 83 (86.5) P: 41 (83.7) G: 42 (89.4)	T: 29 (30.2) P: 20 (40.8) G: 9 (19.2)†	T: 12.8 (5.8) P: 15.5 (8.5) G: 12.4 (3.5)†	T: 13.7 (4.2) P: 14.6 (5.0) G: 13.4 (4.4)†
Huang <sup>3</sup> , 2013	-	-	-	-	-	-
Huangfu <sup>34</sup> , 2020	T: 64 (17) P: 67 (22) G: 59 (18)†	T: 24.9 (2.4) P: 25.2 (2.8) G: 24.8 (2.0)	T: 127 (79.9) P: 65 (75.6) G: 62 (84.9)	T: 44 (27.7) P: 30 (34.9) G: 14 (19.2)†	P: 14.2 (4.1) G: 13.3 (4.5)†	P: 15.3 (5.6) G: 13.7 (4.2)†
Hviid <sup>61</sup> , 2019	T: 58±10	-	T: 8 (18)	T: 1 (2)	-	-
Inoue <sup>35</sup> , 2013	T: 70±11	T: 22.4±3.8	T: 246 (90.1)	T: 63 (23.1)	T: 7.9±2.8	T: 3.6±8.3
James <sup>22</sup> , 2009	T: 62±4	-	-	-	-	-

*(Continue)*

(Table 3 Continuation)

First author Year	Age* (years)	BMI* (kg/m <sup>2</sup> )	Hypertension n (%)	Diabetes n (%)	Glucose (mmol/L)	CRP* (mg/L)
Ji <sup>37</sup> , 2017	T: 64 (18) P: 69 (16) G: 62 (15)†	-	T: 114 (89.1) P: 58 (89.2) G: 56 (88.9)	T: 32 (25.0) P: 21 (32.3) G: 11 (17.5)	T: 14.8 (6.8) P: 13.2 (5.6) G: 12.3 (3.9)†	T: 12.2 (6.1) P: 13.3 (5.5) G: 11.9(6.0)†
Jiang <sup>38</sup> , 2014	T: 68±10 P: 70±10 G: 66±9†	-	T: 139 (80.8) P: 82 (83.7) G: 57 (77.0)	T: 45 (26.2) P: 28 (28.6) G: 17 (23.0)	T: 10.5±3.4 P: 11.3±4.2 G: 9.3±3.2†	T: 12.3±4.5 P: 13.9±4.6 G: 10.2±3.3†
Kim <sup>21</sup> , 2009	T: 63±12	-	-	-	-	-
Landreneau <sup>39</sup> , 2018	T: 68 (21)	-	-	-	-	-
Lattanzi <sup>62</sup> , 2018	T: 67±12 P: 67±13 G: 67±12	-	T: 129 (65.5) P: 67 (60.4) G: 62 (63.9)	T: 44 (21.2) P: 20 (18.0) G: 24 (24.7)	-	-
Li <sup>40</sup> , 2013	T: 56±11 P: 60±14 G: 56±11	T: 25.3±3.5 P: 24.7±3.8 G: 25.4±3.5	T: 52 (88.1) P: 8 (88.9) G: 44 (88.0)	T: 11 (18.6) P: 2 (22.2) G: 9 (18.0)	T: 7.0±2.1 P: 6.0±0.8 G: 7.2±2.2	-
Li <sup>70</sup> , 2020	T: 66 (19) P: 69 (19) G: 66 (18)	-	T: 135 (83.3) P: 71 (82.6) G: 64 (84.2)	T: 45 (27.8) P: 31 (36.1) G: 14 (18.4)†	T: 12.6 (4.6) P: 13.2 (6.8) G: 11.4 (4.3)†	T: 14.6 (4.8) P: 15.7 (6.5) G: 13.7 (5.3)†
Lin <sup>41</sup> , 2016	T: 64±10 P: 67±10 G: 62±9†	-	T: 96 (87.3) P: 47 (83.9) G: 49 (90.7)	T: 27 (24.6) P: 19 (33.9) G: 8 (14.8)†	T: 13.4±3.8 P: 14.2±4.5 G: 12.6±2.8†	T: 12.7±4.1 P: 13.6±4.3 G: 11.7±3.7†
Lin <sup>42</sup> , 2017	T: 64 (18)	-	T: 105 (87.5)	T: 31 (25.8)	T: 14.5 (4.4)	T: 11.9 (5.6)
Lv <sup>72</sup> , 2018	T: 56±10 P: 61±2 G: 54±1†	-	-	-	P: 9.3±2.2 G: 7.6±1.8	P: 27.2±23.0 G: 3.4±3.0†
Mao <sup>36†</sup> , 2019	T: 65±5 P: 67±5 G: 63±7	-	-	T: 23 (19) 78 (16.8) 11 (15.3)	-	-
Pérez de la Ossa <sup>27</sup> , 2010	P: 70±10 G: 67±10	-	P: 38 (74.5) G: 32 (78.0)	P: 14 (27.5) G: 10 (24.4)	P: 7.6±2.2 G: 7.1±1.8	-
Qiu <sup>43</sup> , 2016	T: 66±10	-	T: 111 (86.7)	T: 34 (26.6)	T: 13.4±3.8	T: 12.3±3.9
Qureshi <sup>44†</sup> , 2011	T: 58±14 68±15 T: 59 ≥ 59	-	-	T: 8 (24) 2 (8)	-	-
Sheng <sup>45</sup> , 2018	P: 13 (76.5%) G: 60 (54.1%)†	-	P: 7 (41.2%) G: 42 (37.8%)	-	-	-
Shoab <sup>6</sup> , 2014	T: 60±8	-	-	T: 18 (72)	-	P: 6.9±4.6 G: 5.3±2.5
Sobrinho <sup>17</sup> , 2009	P: 69±9 G: 65±12	-	P: 40 (71.4) G: 31 (79.5)	P: 15 (26.8) G: 10 (25.6)	P: 7.5±1.5 G: 7.7±2.2	-
Sun <sup>46†</sup> , 2017	T: 62±13 66±14 63±14 66±14	-	T: 70 (80.5) 74 (83.2) 73 (83.0) 73 (83.0)	T: 14 (16.1) 9 (10.1) 11 (12.5) 9 (10.2)	T: 6.4±2.0 6.1±1.8 6.6±3.1 7.6±3.4	-
Sun <sup>47</sup> , 2017	T: 64±10	-	T: 101 (90.2)	T: 29 (25.9)	-	-

(Continue)

(Table 3 Continuation)

First author Year	Age* (years)	BMI* (kg/m <sup>2</sup> )	Hypertension n (%)	Diabetes n (%)	Glucose (mmol/L)	CRP* (mg/L)
Tang <sup>18</sup> , 2014	T: 60±15 P: 67±14 G: 54±13†	T: 24.0±3.7 P: 22.6±3.8 G: 25.1±3.1†	T: 39 (90.7) P: 18 (90.0) G: 21 (91.3)	T: 10 (23.3) P: 2 (10.0) G: 8 (34.7)	P: 6.3±1.8 G: 7.6±3.3	-
Tao <sup>71</sup> , 2017	T: 56±12 P: 56±12 G: 54±11	-	T: 94 (38.1) P: 29 (52.7) G: 65 (33.9)†	T: 25 (10.1) P: 8 (14.5) G: 17 (8.9)	T: 7.9 (2.6) P: 8.7 (2.6) G: 7.8 (2.6)†	-
Wang <sup>64</sup> , 2014	T: 66±11 P: 68±10 G: 62±10†	-	T: 96 (84.2) P: 59 (86.8) G: 37 (80.4)	T: 32 (28.1) P: 19 (27.9) G: 13 (28.3)	T: 10.0 (6.1) P: 11.1 (7.2) G: 9.0 (4.3)†	T: 6.5 (4.6) P: 7.5 (8.8) G: 5.5 (3.6)†
Wang <sup>23</sup> , 2016	T: 60±11	-	T: 36 (72)	T: 2 (4)	T: 6.49 (1.8)	-
Wang <sup>50†</sup> , 2018	T: 64±15 62±14 65±14 65±12	-	T: 64 (19.1) 69 (20.6) 70 (20.9) 74 (22.1)	T: 9 (2.7) 12 (3.6) 7 (2.1) 13 (3.9)	T: 5.8 (1.7) 6.0 (1.9) 5.8 (1.3) 6.0 (1.8)	-
Wang <sup>48</sup> , 2018	T: 64 (18)	T: 23.6 (4.4)	T: 140 (86.4)	T: 44 (27.2)	-	-
Wang <sup>49</sup> , 2020	T: 59 (13)	-	-	-	T: 8.2 (3.3)	T: 19.2 (33.4)
Wu <sup>51</sup> , 2014	T: 60 (18)	T: 24.2 (6.5)	T: 253 (66.6)	T: 36 (66.6)	T: 5.9 (1.9)	T: 3.2 (8.8)
Xiong <sup>52</sup> , 2015	P: 62±12 G: 60±10	-	P: 37 (97.4) G: 39 (90.7)	P: 10 (26.7) G: 10 (23.2)	P: 6.2±2.1 G: 8.6±2.6	-
Xiong <sup>53</sup> , 2015	T: 69±11	-	T: 27 (62.8)	T: 14 (32.6)	-	-
Yan <sup>65</sup> , 2016	T: 63±10	-	T: 96 (85.7)	T: 27 (24.1)	-	-
You <sup>20†</sup> , 2016	T: 67±13 68±13 61±13 61±14	-	T: 71 (19.5) 79 (21.6) 74 (20.3) 78 (21.4)	T: 9 (2.5) 9 (2.5) 10 (2.5) 16 (4.4)	T: 6.0 (2.0) 7.7 (1.5) 5.7 (1.3) 6.4 (3.2)	-
Zhang <sup>66</sup> , 2012	T: 65±11 P: 67±11 G: 61±10†	-	T: 79 (88.8) P: 49 (87.5) G: 30 (90.0)	T: 25 (28.1) P: 20 (35.7) G: 5 (15.2)†	T: 13.4±4.8 P: 14.3±5.2 G: 11.3±3.2†	T: 9.0±3.6 P: 10.0±3.9 G: 7.2±1.8†
Zhang <sup>54</sup> , 2020	T: 67 (19) P: 74 (17) G: 64 (16)†	T: 24.8 (3.0) P: 24.8 (2.6) G: 24.7 (4.3)	T: 76 (73.1) P: 44 (75.9) G: 32 (69.6)	T: 31 (29.8) P: 18 (31.0) G: 13 (28.3)	P: 14.8 (8.1) G: 12.3 (3.7)†	P: 14.0 (5.4) G: 12.8 (4.4)†
Zhao <sup>67</sup> , 2013	T: 62±12 P: 64±11 G: 59±12†	-	T: 115 (87.1) P: 69 (87.3) G: 46 (86.8)	T: 38 (28.8) P: 24 (30.4) G: 14 (26.4)	T: 10.3 (4.3) P: 10.9 (5.7) G: 9.8 (4.0)†	T: 7.6 (4.8) P: 9.5 (6.1) G: 6.8 (2.7)†
Zhao <sup>68†</sup> , 2017	T: 65±13 62±13	-	T: 28 (93.3) 172 (86.9)	T: 14 (46.7) 12 (6.1)	-	-
Zheng <sup>16</sup> , 2017	P: 65±12 G: 61±12	-	P: 28 (80) G: 39 (83)	P: 9 (25.7) G: 10 (21.3)	-	-
Zheng <sup>55</sup> , 2018	T: 66±10	-	T: 111 (86.7)	T: 34 (26.6)	T: 13.4±3.8	T: 12.3±3.9
Zhou <sup>70</sup> , 2015	T: 61±11	-	T: 50 (72.5)	T: 6 (8.7)	T: 6.4±2.0	-
Zhou <sup>69</sup> , 2016	T: 68±12	-	T: 28 (60.9)	T: 15 (32.6)	-	-
Zhu <sup>56</sup> , 2019	T: 58±10	-	T: 75 (38.3)	T: 21 (10.7)	-	-
Zweifel <sup>25</sup> , 2011	T: 71 (14)	-	T: 29 (72.5)	-	-	-

(Continue)

**(Table 3 - footnote)**

**BMI indicates body mass index; CHD, coronary heart disease; CHF, congestive heart failure; G, good outcome group defined by modified Rankin Scale; kg/m<sup>2</sup>, kilogram per meter square; P, poor outcome group defined by modified Rankin Scale; and T, total sample size.**

**\*Data are presented as mean ± standard deviation or median (interquartile range)**

**†Significant difference compared to the poor outcome group (P < 0.05)**

**‡Patients were categorized into groups according to laboratory parameters at hospital admission**

In addition, there was a great heterogeneity between studies regarding the severity of clinical stroke [NIHSS (score 2-27), GCS (score 8-15) and early neurological deterioration (6.5-32.1%)], and the neuroimaging findings [Fisher Grade III-IV (28.8-94.1%), hematoma volume (4.3-76.2 mL), presence of intraventricular hemorrhage (2.2-83.6%) and hematoma growth (4.3-26.5%)] (Table 4, next page). The poor outcome group presented higher clinical severity [NIHSS (92%), GCS (88%) and early neurological deterioration (100%)] and higher volume and distribution of hemorrhage [Fisher (100%), hematoma volume (95%), presence of intraventricular hemorrhage (81%) and hematoma growth (88%)] than the good outcome group (Table 5 – page 43).

**Table 4.** Clinical severity and neuroimaging findings of the study population.

Author Year	mRS (%)	NIHSS*	GCS*	Fisher† (%)	n	HV* (mL)	IVH (%)	n	HG n (%)	END n (%)
Alexandrova <sup>24</sup> , 2011	P: 76	T: 19 ± 9 P: 20 ± 6 G: 14 ± 8‡	T: 11 ± 3 P: 11 ± 2 G: 13 ± 2‡	-		T: 37.9±16.5 P: 34.6±13.7 G: 25.6±5.3	-		-	-
Bakhshayesh <sup>26</sup> , 2014	P: 69.3 G: 30.7	T: 16 ± 9 P: 13 ± 6 G: 9 ± 7	T: 13 ± 5 P: 13 ± 3 G: 15 ± 3	-		T: 28.7±21.9 P: 24.5±15.2 G: 14.4±7.7‡	T: 29 (46.0) P: 12 (40) G: 4 (25)		-	-
Bian <sup>28</sup> , 2019	-	T: 11 ± 6 P: 13 ± 4 G: 8 ± 4‡	-	-		T: 16 ± 17 P: 22 ± 17 G: 9 ± 8‡	T: 47 (28.7) P: 32 (37.7) G: 15 (19.0)‡		-	-
Brea <sup>29</sup> , 2009	P: 59.1	T: 12 ± 10	-	-		T: 19 ± 20	-		-	T: 13 (29.5)
Chen <sup>30</sup> , 2017	P: 48.8	T: 9 ± 14	T: 15 ± 4	-		-	-		-	-
Chen <sup>31</sup> , 2018	P: 49.5	T: 9 ± 6		-		T: 31 ± 12	T: 31 (29.5)		T: 14 (13.3)	T: 18 (17.1)
Chen <sup>32</sup> , 2019	P: 52.8	T: 10 ± 3 P: 13 ± 5 G: 8 ± 3‡	T: 14 ± 2 P: 13 ± 2 G: 15 ± 1‡	-		T: 14 ± 14 P: 19 ± 12 G: 7 ± 8‡	T: 30 (28.3) P: 20 (35.7) G: 10 (20.0)		T: 20 (18.9) P: 14 (25.0) G: 6 (12.0)	T: 21 (19.8) P: 16 (28.6) G: 5 (10.0)‡
Crago <sup>57</sup> , 2015	P: 28.5 G: 71.4	-	-	T: 63 (63.6)		-	-		-	-
Dong <sup>58</sup> , 2015	P: 50.9	T: 17 ± 5 P: 15 ± 3 G: 9±4‡	-	-		T: 30.3 ± 10.4 P: 36.1 ± 9.0 G: 24.3 ± 8.1‡	T: 31 (28.2) P: 21 (37.5) G: 10 (18.5)‡		T: 14 (12.7) P: 11 (19.6) G: 3 (5.6)‡	T: 18 (16.4) P: 14 (25.0) G: 4 (7.4)‡
Du <sup>59</sup> , 2014	P: 51.6	T: 11 ± 5 P: 14 ± 4 G: 8 ± 4‡	-	-		T: 32.3 ± 11.9 P: 38.5 ± 11.1 G: 25.8 ± 8.8‡	T: 37 (28.9) P: 26 (39.4) G: 11 (17.7)‡		T: 19 (14.8) P: 16 (24.2) G: 3 (4.8)‡	T: 23 (18.0) P: 19 (28.8) G: 4 (6.5)‡

(Continue)

(Table 4 Continuation)

Author Year	mRS (%)	NIHSS*	GCS*	Fisher† (%)	n	HV* (mL)	IVH (%)	n	HG n (%)	END n (%)
El Husseini <sup>73</sup> , 2018	P: 67.6	T: 12 ± 16 P: 12 G: 12	-	-		-	-		-	-
Gerner <sup>2§</sup> , 2018	P: 68.2	T: 11 ± 17 17 ± 23 19 ± 21	T: 13 ± 7 12 ± 11 11 ± 10	-		T: 13.7 ± 34.8 16.1 ± 34.6 14.1 ± 26.6	T: 182 (41.6) 153 (68.0) 51 (61.4)		-	-
Goyal <sup>19</sup> , 2018	-	T: 10 ± 15		-		T: 7.1 (15)	T: 141 (47)		-	-
Hu <sup>33</sup> , 2016	P: 32.4 G: 54.4	-	-	-		T: 13.2 ± 18.5	-		-	-
Hu <sup>60</sup> , 2019	P: 51.1 G: 48.9	T: 9 ± 7 P: 12 ± 4 G: 7 ± 4‡	T: 14 ± 3 P: 13 ± 2 G: 15 ± 1‡	-		T: 14 ± 16 P: 21 ± 15 G: 7 ± 7‡	T: 25 (26.0) P: 17 (34.7) G: 8 (17.0)‡		-	-
Huang <sup>3</sup> , 2013	-	-	-	-		T: 76.2 (143.4)	-		-	-
Huangfu <sup>34</sup> , 2020	P: 454.1 G: 60.3	T: 9 ± 6 P: 11 ± 3 G: 5 ± 5‡	-	-		T: 21 (14) P: 25 (11) G: 14 (12)‡	T: 52 (32.7) P: 36 (41.9) G: 16 (21.9)‡		-	-
Hviid <sup>61</sup> , 2019	-	-	T: Score 14-15 20 (45%) Score 9-13 7 (16%) Score 3-8 17 (39%)	T: 33 (75)		-	-		-	-
Inoue <sup>35</sup> , 2013	-	-	-	-		-	T: 99 (36.3)		-	-
James <sup>22</sup> , 2009	-	T: 15 ± 12	T: 10 ± 4	-		T: 30.7 ± 31.3	T: 12 (42.9)		-	-

(Continue)



(Table 4 Continuation)

Author Year	mRS (%)	NIHSS*	GCS*	Fisher† (%)	n	HV* (mL)	IVH (%)	n	HG n (%)	END n (%)
Ji <sup>37</sup> , 2017	P: 50.8 G: 49.2	T: 12 ± 7 P: 14 ± 4 G: 8 ± 6‡	-	-	-	T: 30 ± 11 P: 35 ± 10 G: 25 ± 3‡	T: 36 (28.1) P: 24 (36.9) G: 12 (19.1)‡	-	-	T: 20 (15.6) P: 15 (23.1) G: 5 (7.9)‡
Jiang <sup>38</sup> , 2014	P: 57.0	T: 11 ± 11 P: 16 ± 9 G: 7 ± 4‡	-	-	-	T: 31.9 ± 14.0 P: 38.5 ± 12.3 G: 23.2 ± 9.6 = 11.0‡	T: 61 (35.5) P: 44 (44.9) G: 17 (23.0)‡	T: 28 (16.3) P: 22 (22.5) G: 6 (8.1)‡	-	T: 35 (20.4) P: 28 (28.6) G: 7 (9.5)‡
Kim <sup>21</sup> , 2009	P: 54.0	-	T: Score 9-15 530 (90.6%) Score 3-8 55 (9.4%)	-	-	T: < 30 mL 303 (51.8%) 30-59 mL 130 (22.2%) ≥ 60 mL 152 (26.0%)	-	-	-	-
Landreneau <sup>39</sup> , 2018	P: 54.8	T: 15 ± 19	T: 14 ± 6	-	-	T: 16.8 ± 34.4	T: 52 (45.2)	-	-	-
Lattanzi <sup>62</sup> , 2018	P: 53.4	T: 9 ± 8 P: 12 ± 7 G: 7 ± 3‡	-	-	-	T: 7.8 ± 11.8 P: 12.6 ± 14.6 G: 4.3 ± 7.5‡	T: 45 (21.6) P: 29 (26.1) G: 16 (16.5)	-	-	-
Li <sup>40</sup> , 2013	P: 84.8 G: 15.2	T: 6 ± 7 P: 13 ± 5 G: 5 ± 7‡	T: 15 ± 1 P: 14 ± 2 G: 15 ± 1‡	-	-	T: 10.0 ± 18.7 P: 25.2 ± 21.6 G: 9.5 ± 16.0‡	T: 13 (22.0) P: 1 (11.1) G: 12 (24.0)	-	-	-
Li <sup>70</sup> , 2020	-	T: 11 ± 8 P: 12 ± 5 G: 7 ± 5‡	-	-	-	T: 16 ± 18 P: 21 ± 19 G: 8 ± 7‡	T: 48 (29.6) P: 33 (38.4) G: 15 (19.7)‡	-	-	T: 35 (21.6)
Lin <sup>41</sup> , 2016	P: 50.9	T: 12 ± 5 P: 15 ± 3 G: 9 ± 4‡	-	-	-	T: 30.3 ± 10.4 P: 36.1 ± 9.0 G: 24.3 ± 8.1‡	T: 31 (28.2) P: 21 (37.5) G: 10 (18.5)‡	T: 14 (12.7) P: 11 (19.6) G: 3 (5.6)‡	-	T: 18 (16.4) P: 14 (25.0) G: 4 (7.4)‡
Lin <sup>42</sup> , 2017	P: 51.7	T: 12 ± 7	-	-	-	T: 30 ± 11	T: 35 (29.2)	T: 16 (13.3)	-	T: 20 (16.7)

(Continue)

(Table 4 Continuation)

Author Year	mRS (%)	NIHSS*	GCS*	Fisher† (%)	n	HV* (mL)	IVH (%)	n	HG n (%)	END n (%)
Lv <sup>72</sup> , 2018	P: 72.8 G: 27.2	-	-	T: 60 (74.1) GP:21 (91.3) G: 39 (67.2)‡		-	-		-	-
Mao <sup>36§</sup> , 2019	-	T: 9 ± 12 8 ± 12 7 ± 12	-	-		T: 22.3 ± 11.4 17.5 ± 10.3 19.2 ± 8.4	-		-	-
Pérez de la Ossa <sup>27</sup> , 2010	P: 55.4	P: 17 ± 7 G: 7 ± 5‡	P: 14 ± 4 G: 15 ± 0‡	-		P: 26.3 ± 36.2 G: 9.0 ± 12.8‡	P: 22 (42.9) G: 4 (9.8)‡		-	-
Qiu <sup>43</sup> , 2016	P: 50.8	T: 10 ± 7	-	-		T: 26 ± 12	T: 35 (27.3)		T: 16 (12.5)	T: 21 (16.4)
Qureshi <sup>44§</sup> , 2011	-	-	T: 15 14	-		T: 13.0±13.4 14.2±15.6	-		-	T: 7 (20) 4 (16)
Sheng <sup>45</sup> , 2018	P: 86.7 G: 13.3	-	-	P: 16 (94.1) G: 32 (28.8)‡		-	-		-	-
Shoab <sup>6</sup> , 2014	P: 44	P: 27 ± 12 G: 2 ± 3‡	-	-		-	-		-	-
Sobrinho <sup>17</sup> , 2009	P: 58.9 G: 41.1	P: 16 ± 6 G: 8 ± 8‡	-	-		P: 39.7 ± 22.3 G: 15.7 ± 14.2‡	P: 40.4 G: 7.9‡		-	-
Sun <sup>46§</sup> , 2017	P: 42.0	T: 6 ± 10 6 ± 8 6 ± 7 11 ± 12	-	-		T: 9.5 ± 2.75 2.19 9.1 ± 2.24 15.0 ± 4.23	9.3 ± T: 10 (11.5) 19 (21.4) 18 (20.5) 21 (23.9)		-	-
Sun <sup>47</sup> , 2017	P: 51.8	T: 12 ± 7	-	-		T: 30 ± 11	T: 35 (31.3)		T: 15 (13.4)	T: 18 (16.1)
Tang <sup>18</sup> , 2014	P: 46.5 G: 53.4	P: 18 ± 8 G: 10 ± 6‡	-	-		-	-		-	-

(Continue)

(Table 4 Continuation)

Author Year	mRS (%)	NIHSS*	GCS*	Fisher† (%)	n	HV* (mL)	IVH (%)	n	HG n (%)	END n (%)
Tao <sup>71</sup> , 2017	P: 22.3	-	-	T: 3 (2)* P: 4 (1)* G: 3 (2)*‡		-	T: 162 (65.6) P: 46 (83.6) G: 116(60.4)‡		-	-
Wang <sup>64</sup> , 2014	P: 59.7	T: 14 ± 10 P: 17 ± 9 G: 10 ± 5‡	-	-		T: 30.0 ± 30.0 P: 40.0 ± 22.0 G: 20.0 ± 20.0‡	T: 45 (39.5) P: 36 (52.9) G: 9 (19.6)‡		T: 20 (17.5) P: 18 (26.5) G: 2 (4.3) ‡	T: 23 (20.2) P: 20 (29.4) G: 3 (6.5)‡
Wang <sup>23</sup> , 2016	P: 30.5	T: 7 ± 9	T: 12 ± 5	-		T: 14 ± 17	-		-	-
Wang <sup>50§</sup> , 2018	P: 40.6	T: 8 ± 11 8 ± 11 6 ± 9 5 ± 6	-	-		T: 12.0 ± 15.7 12.3 ± 20.7 10.0 ± 17.7 6.7 ± 7.6	-		-	-
Wang <sup>48</sup> , 2018	P: 56.8	T: 13 ± 7	-	-		T: 32 ± 18	T: 54 (33.3)		T: 27 (16.7)	T: 32 (19.8)
Wang <sup>49</sup> , 2020	P: 51.9 G: 48.1	-	-	T: 28 (51.9)		-	-		-	-
Wu <sup>51</sup> , 2014		T: 9 ± 10	-	-		-	-		-	-
Xiong <sup>52</sup> , 2015	P: 46.9 G: 53.1	P: 16 ± 12 G: 9 ± 11‡	P: 13 ± 4 G: 15 ± 0‡	-		P: 32.5 ± 16.1 G: 10.7 ± 11.2‡	P: 14 (36.8) G: 4 (9.3)‡		-	-
Xiong <sup>53</sup> , 2015	P: 53.5 G: 46.5	T: 8 ± 7	-	-		T: 29.3 ± 12.7	-		-	-
Yan <sup>65</sup> , 2016	P: 50.9	T: 11 ± 7	-	-		T: 30.0 ± 11.0	T: 31 (27.7)		T: 14 (12.5)	T: 17 (15.2)
You <sup>20§</sup> , 2016	P: 42.5 G: 38.4	T: 9 ± 11 7 ± 8 6 ± 9 6 ± 11	-	-		T: 9.8 ± 18.0 9.4 ± 16.0 10.0 ± 13.7 10.6 ± 19.7	T: 69 (18.9)		-	-

(Continue)

(Table 4 Continuation)

Author Year	mRS (%)	NIHSS*	GCS*	Fisher† (%)	n	HV* (mL)	IVH (%)	n	HG n (%)	END n (%)
Zhang <sup>66</sup> , 2012	P: 62.9	T: 21 ± 7 P: 24 ± 5 G: 16 ± 6‡	-	-		T: 34.2 ± 18.3 P: 39.8 ± 17.7 G: 24.7 ± 15.3‡	T: 51 (57.3) P: 42 (75.0) G: 9 (27.3)‡		T: 15 (16.9) P: 13 (23.2) G: 2 (6.1)‡	T: 22 (24.7) P: 18 (32.1) G: 4 (12.1)‡
Zhang <sup>54</sup> , 2020	P: 55.8	-	T: 15 ± 3 P: 12 ± 3 G: 14 ± 1‡	-		T: 12 ± 16 P: 21 ± 23 G: 9 ± 7‡	T: 26 (25) P: 25 (43.1) G: 1 (2.2)‡		-	-
Zhao <sup>67</sup> , 2013	P: 59.9	T: 15 ± 7 P: 17 ± 5 G: 11 ± 6‡	-	-		T: 30.0 ± 34.8 P: 40.0 ± 25.0 G: 20.0 ± 20.0‡	T: 49 (37.1) P: 42 (53.2) G: 7 (13.2)‡		T: 23 (17.4) P: 19 (24.1) G: 4 (7.6)‡	T: 25 (18.9) P: 21 (26.6) G: 4 (7.6)‡
Zhao <sup>68§</sup> , 2017	P: 45.3	T: 13 ± 16 10 ± 13	-	-		-	-		-	-
Zheng <sup>16</sup> , 2017	P: 42.7 G: 57.3	P: 14 ± 2 G: 7±2‡	-	-		-	-		-	-
Zheng <sup>55</sup> , 2018	P: 50.8	T: 10 ± 7	-	-		T: 26 (12)	T: 35 (27.3)		T: 16 (12.5)	T: 21 (16.4)
Zhou <sup>70</sup> , 2015	P: 36.2	-	-	-		Thalamogranglionic 18.1 ± 13.4 Lobar 39.6 ± 29.0 Infratentorial 9.9 ± 7.5	T: 18 (26.1)		-	-
Zhou <sup>69</sup> , 2016	P: 54.3	T: 8 ± 7	-	-		T: 29.4 ± 12.7	-		-	-
Zhu <sup>56</sup> , 2019	P: 45	-	-	T: 102 (52.0)		-	-		-	-
Zweifel <sup>25</sup> , 2011	-	-	T: 14 ± 2	-		T: 17.8 ± 30	T: 9 (22.5)		-	-

END indicates early neurological deterioration; G, good outcome group defined by modified Rankin Scale; GCS, Glasgow Coma Scale; HG, hematoma growth; HV, hematoma volume; IVH, intraventricular hemorrhage; NIHSS, National Institutes of Health Stroke Scale; P, poor outcome group defined by modified Rankin Scale; and T, total sample size.

\*Data are presented as mean±standard deviation or median (interquartile range)

†Fisher Scale or Modified Fisher Scale (grades III-IV)

‡Significant difference compared to the poor outcome group (P < 0.05)

§Patients were categorized into groups according to laboratory parameters at hospital admission.

**Table 5.** Laboratory parameters of the study population.

First author Year	Dyslipidemia n (%)	CHF n (%)	CHD n (%)	D-dimer (mg/L)	PTT (s)	Fibrinogen (g/L)	Cholesterol (mmol/L)	Creatinine (mg/dL)
Alexandrova <sup>24</sup> , 2011	-	-	-	-	-	T: 3.9±1.2 P: 3.8±1.0 G: 4.2±0.8	T: 5.9±1.3 P: 6.0±1.6 G: 5.7±1.0	-
Bakhshayesh <sup>26</sup> , 2014	-	-	T: 11 (17.5) P: 6 (85.7) G: 1 (14.3)	-	-	-	-	-
Bian <sup>28</sup> , 2019	T: 55 (33.5) P: 27 (31.8) G: 28 (35.4)	T: 13 (7.9) P: 9 (10.6) G: 4 (5.1)	T: 15 (9.2) P: 9 (10.6) G: 6 (7.6)	-	-	-	-	-
Brea <sup>29</sup> , 2009	T: 9 (20.4)	-	-	-	-	-	-	-
Chen <sup>30</sup> , 2017	-	-	-	-	-	-	-	T: 1.4±1.6
Chen <sup>31</sup> , 2018	-	-	-	-	-	-	-	-
Chen <sup>32</sup> , 2019	T: 39 (36.8) P: 20 (35.7) G: 19 (38.0)	T: 8 (7.6) P: 6 (10.7) G: 2 (4.0)	T: 11 (10.4) P: 7 (12.5) G: 4 (8.0)	-	-	-	-	-
Crago <sup>57</sup> , 2015	-	-	-	-	-	-	-	-
Dong <sup>58</sup> , 2015	-	-	-	P: 2.6±0.6 G: 2.2±0.7†	P: 34.2±4.7 G: 34.3±5.3	P: 3.5±1.7 G: 3.8±1.6	-	-
Du <sup>59</sup> , 2014	-	-	-	-	-	-	-	-
El Husseini <sup>73</sup> , 2018	-	-	T: 4 (9.6) P: 4 (11.1) G: 0 (0)	-	-	-	-	-
Gerner <sup>2‡</sup> , 2018	-	T: 46 (10.7) 32 (14.3) 22 (27.3)	T: 50 (13.1) 31 (15.0) 17 (23.3)	-	-	-	-	T: 0.85 (0.34) 0.92 (0.43) 0.99 (0.55)

(Continue)

(Table 5 Continuation)

First author Year	Dyslipidemia n (%)	CHF n (%)	CHD n (%)	D-dimer (mg/L)	PTT (s)	Fibrinogen (g/L)	Cholesterol (mmol/L)	Creatinine (mg/dL)
Goyal <sup>19</sup> , 2018	87 (29)	21 (7)	30 (10)	-	-	-	-	-
Hu <sup>33</sup> , 2016	-	-	-	-	T: 12.7±0.9	-	T: 4.6±1.0	-
Hu <sup>60</sup> , 2019	T: 33 (34.4) P: 17 (34.7) G: 16 (34.0)	T: 7 (7.3) P: 6 (12.2) G: 1 (2.1)	T: 9 (9.4) P: 6 (12.2) G: 3 (6.4)	T: 2.5 (0.8) P: 2.5 (0.7) G: 2.4 (1.0)	-	-	-	-
Huang <sup>3</sup> , 2013	-	-	-	-	-	-	-	-
Huangfu <sup>34</sup> , 2020	T: 57 (35.9) P: 27 (31.4) G: 30 (41.1)	T: 10 (6.3) P: 3 (3.5) G: 7 (9.6)	T: 15 (9.4) P: 10 (11.6) G: 5 (6.9)	P: 2.3 (1.1) G: 2.2 (1.3)	-	P: 4.2 (2.9) G: 3.1 (2.0)	-	-
Hviid <sup>61</sup> , 2019	-	-	-	-	-	-	-	-
Inoue <sup>35</sup> , 2013	T: 63 (23.1)	-	-	-	T: 28.3±5.0	-	T: 49.9±10.1	T: 1.1±1.8
James <sup>22</sup> , 2009	-	-	-	-	-	-	-	-
Ji <sup>37</sup> , 2017	-	-	-	-	-	-	-	-
Jiang <sup>38</sup> , 2014	-	-	-	T: 2.3±1.2 P: 2.5±1.3 G: 2.1±1.0†	T: 32.4±4.6 P: 32.5±4.4 G: 32.3±5.0	T: 3.2±1.4 P: 3.4±1.6 G: 3.1±1.2	-	-
Kim <sup>21</sup> , 2009	-	-	-	-	-	-	-	-
Landreneau <sup>39</sup> , 2018	-	-	-	-	-	-	-	-
Lattanzi <sup>62</sup> , 2018	T: 69 (33.2) P: 39 (35.1) G: 30 (30.9)	-	T: 24 (11.5) P: 10 (9.9) G: 14 (14.4)	-	-	-	-	-

(Continue)

(Table 5 Continuation)

First author Year	Dyslipidemia n (%)	CHF n (%)	CHD n (%)	D-dimer (mg/L)	PTT (s)	Fibrinogen (g/L)	Cholesterol (mmol/L)	Creatinine (mg/dL)
Li <sup>40</sup> , 2013	-	-	-	-	-	T: 2.6±0.9 P: 3.0±0.8 G: 2.5±0.8	-	T: 0.7±0.2 P: 0.7±0.1 G: 0.7±0.2
Li <sup>70</sup> , 2020	T: 54 (33.3) P: 29 (33.7) G: 25 (32.9)	T: 11 (6.8) P: 9 (10.5) G: 2 (2.6)†	T: 15 (9.3) P: 9 (10.5) G: 6 (7.9)	-	-	-	-	-
Lin <sup>41</sup> , 2016	-	-	-	T: 2.4±0.7 P: 2.6±0.6 G: 2.2±0.7†	T: 34.3±4.9 P: 34.2±4.7 G: 34.3±5.3	T: 3.7±1.6 P: 3.6±1.9 G: 3.8±1.3	-	-
Lin <sup>42</sup> , 2017	-	-	-	-	-	-	-	-
Lv <sup>72</sup> , 2018	-	-	-	P: 3.9±3.3 G: 1.7±1.5	P: 24.9±4.2 G: 25.2±4.1	P: 3.2±1.0 G: 2.8±0.7	-	-
Mao <sup>36†</sup> , 2019	-	-	-	-	T: 25.2±2.4 26.4±3.2 25.7±4.2	-	-	-
Pérez de la Ossa <sup>27</sup> , 2010	-	-	-	-	-	P: 4.1±1.2 G: 4.4±1.0	-	-
Qiu <sup>43</sup> , 2016	-	-	-	-	-	-	-	-
Qureshi <sup>44</sup> , 2011	T: 5 (22) 6 (27)	-	-	-	-	-	-	-
Sheng <sup>45</sup> , 2018	-	-	-	-	-	-	-	-
Shoaeb <sup>6</sup> , 2014	T: 9 (36)	-	-	-	-	-	-	-
Sobrino <sup>17</sup> , 2009	-	-	-	-	P: 27.2±2.5 G: 26.6±2.3	P: 4.2±1.0 G: 4.2±0.9	-	-
Sun <sup>46†</sup> , 2016	-	-	-	-	-	-	T: 4.6 (1.4) 4.6 (1.2) 4.7 (1.4) 4.7 (1.3)	-

(Continue)

(Table 5 Continuation)

First author Year	Dyslipidemia n (%)	CHF n (%)	CHD n (%)	D-dimer (mg/L)	PTT (s)	Fibrinogen (g/L)	Cholesterol (mmol/L)	Creatinine (mg/dL)
Sun <sup>47</sup> , 2017	-	-	-	-	-	-	-	-
Tang <sup>18</sup> , 2014	T: 9 (20.9) P: 6 (30.0) G: 3 (13.0)	-	-	-	-	-	-	P: 1.1±0.4 G: 1.2±0.7
Tao <sup>71</sup> , 2017	-	-	-	-	-	-	-	-
Wang <sup>64</sup> , 2014	-	-	-	T: 2.4 (1.5) P: 2.7 (2.5) G: 1.9 (1.0)†	T: 34.1±5.1 P: 33.9±5.0 G: 34.4±5.2	T: 3.8±1.7 P: 3.7±1.7 G: 3.9±1.7	-	-
Wang <sup>23</sup> , 2016	-	-	-	-	T: 13.9 (1.8)	-	-	-
Wang <sup>50†</sup> , 2018	-	-	-	-	-	-	T: 4.6 (1.3) 4.7 (1.4) 4.7 (1.4) 4.4 (1.1)	T: 1.0±1.4 0.9±0.4 1.0±0.8 0.8±0.3
Wang <sup>48</sup> , 2018	-	-	-	-	-	-	-	-
Wang <sup>49</sup> , 2020	-	-	-	T: 1.8 (2.3)	-	T: 3.0 (1.1)	-	-
Wu <sup>51</sup> , 2014	T: 26 (6.8)	T: 0 (0)	T: 33 (8.7)	-	-	-	T: 4.8 (1.3)	-
Xiong <sup>52</sup> , 2015	-	-	-	-	-	-	-	-
Xiong <sup>53</sup> , 2015	-	-	-	-	-	-	-	-
Yan <sup>65</sup> , 2016	-	-	-	-	-	-	-	-
You <sup>20†</sup> , 2016	-	-	-	-	-	-	T: 4.3 (1.0) 4.6 (1.3) 4.6 (1.3) 5.0 (1.1)	T: 1.1±1.5 0.8±0.3 0.8±0.4 0.9±0.4

(Continue)



(Table 5 Continuation)

First author Year	Dyslipidemia n (%)	CHF n (%)	CHD n (%)	D-dimer (mg/L)	PTT (s)	Fibrinogen (g/L)	Cholesterol (mmol/L)	Creatinine (mg/dL)
Zhang <sup>66</sup> , 2012	-	-	-	T: 2.5±1.0 P: 2.6±1.0 G: 2.2±1.1†	-	-	-	-
Zhang <sup>54</sup> , 2020	-	T: 7 (6.7) P: 5 (8.6) G: 2 (4.4)	T: 10 (9.6) P: 4 (6.9) G: 6 (13.0)	-	-	-	-	-
Zhao <sup>67</sup> , 2013	-	-	-	T: 2.3 (1.3) P: 2.5 (1.4) G: 2.1 (1.1)†	T: 36.7±5.6 P: 37.5±5.2 G: 35.6±6.0	T: 3.8 (3.0) P: 3.8 (2.3) G: 3.9 (3.3)	-	-
Zhao <sup>68</sup> , 2017	T: 4 (20.0) 18 (9.1)	-	-	-	-	-	-	-
Zheng <sup>16</sup> , 2017	-	-	-	-	-	-	-	-
Zheng <sup>55</sup> , 2018	-	-	-	-	-	-	-	-
Zhou <sup>70</sup> , 2015	-	-	-	-	T: 31.9±5.2	-	T: 4.6±1.0	T: 0.9±0.3
Zhou <sup>69</sup> , 2016	-	-	-	-	-	-	-	-
Zhu <sup>56</sup> , 2019	T: 34 (17.3)	-	T: 7 (3.6)	-	-	-	-	-
Zweifel <sup>25</sup> , 2011	-	-	-	-	-	-	-	-

Data are presented as mean ± standard deviation or median (interquartile range). CRP indicates C-reactive protein; ; G, good outcome group defined by modified Rankin Scale; g/L, gram per liter; mg/dL, milligram per deciliter; mg/L, milligrams per liter; mmol/L, millimole per liter; P, poor outcome group defined by modified Rankin Scale; PTT, partial thromboplastin time; s, second; and T, total sample size.

\*C-reactive protein or high-sensitivity C-reactive protein

†Significant difference compared to the poor outcome group (P < 0.05)

‡Patients were categorized into groups according to laboratory parameters at hospital admission

### *Biomarkers as prognosis of functional recovery*

Considering the role of the biomarker during the pathophysiological process of hemorrhagic stroke, 32 studies assessed biomarkers classified as inflammatory<sup>6, 18, 21, 23-26, 28, 31-35, 38-42, 46, 49, 55, 60, 62, 63, 65, 72, 73</sup>, two biomarkers as oxidative stress<sup>24, 59</sup>, 8 for neuronal damage<sup>29, 37, 45, 47, 48, 54, 67</sup>, 4 for glial activation<sup>22, 29, 53, 69</sup>, 19 for metabolic<sup>3, 17, 21, 25, 30, 31, 35, 36, 44, 50-52, 56, 57, 66, 68</sup>, and finally, 10 studies assessed biomarkers classified as circulation, coagulation and vascular function<sup>2, 17, 22, 39, 40, 43, 58, 64, 69</sup>. Out of the seventy-nine biomarkers included, 61 were identified as predictive markers of functional recovery after hemorrhagic stroke. However, the biomarkers: NLR; white blood cells; G-CSF; IL-1 $\beta$ ; Ferritin; S100B; Glucose; Angiopoietin 1; and VEGF were classified as predictors in some studies but not in others (Table 6, next page).

Most of the biomarkers participating in the inflammatory process have an increased expression in post-stroke individuals with a poorer prognosis than individuals with good functional prognosis, except for Klotto and Lymphocytes, which had a low level. For biomarkers MMP-3, MMP-9, and hyaluronic acid, there was no difference in the level of expression between the groups. However, they were considered as predictors with cutoff values established for each of these biomarkers. The biomarkers classified in the oxidative stress and neuronal damage category also show increased expression in individuals with low functionality, except for Omentin-1 and Gelsolin. The increase in GFAP and S100B, categorized as glial activators, is associated with a poor prognosis for functional recovery.

On the other hand, concerning biomarkers of metabolic responses, patients with low functionality show a decrease in cholesterol, calcium, and total bile acids. The other biomarkers considered to be predictors in this category have increased expressions. Glucose levels are controversial between studies. Finally, most biomarkers related to vascular circulation, coagulation, or function also increase their expression, except for VEGF, in patients with poor functional prognosis compared to those with good functionality. For Angiopoietin 1, the increased expression was associated with good functionality after stroke.

**Table 6.** Biomarker expression and prediction, and area under the ROC curve with optimal biomarker cutoff values and measures of diagnostic accuracy to predict the clinical outcome.

Biomarker	Biomarker expression.	Observation	P/G	AUC	Cutoff	Sensitivity (%)	Specificity (%)	TP	TN	FP	FN	Misclassification rate (%)
<b>Inflammation</b>												
Lp-PLA2 <sup>28</sup>	↑++	-	85/79	0.81	303.6ng/mL	86	66	73	52	27	12	24
CyPA <sup>31</sup>	↑++	-	52/53	0.82	131.9 g/mL	75	79	39	42	11	13	23
CRP <sup>24</sup>	= -	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
CRP <sup>6</sup>	= -	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
CRP <sup>25</sup>	NS -	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
CCL2 <sup>39</sup>	↑++	collection at 6h	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
CXCL10 <sup>39</sup>	↑++	collection at 24h and 72h	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
CX3CL1 <sup>39</sup>	↑-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
CCL7 <sup>39</sup>	↑-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
CCL22 <sup>39</sup>	↑-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
NGAL <sup>32</sup>	↑++	-	56/50	0.84	417.6 ng/mL	84	70	47	35	15	9	23
Ferritin <sup>26</sup>	= -	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ferritin <sup>27</sup>	↑+	collection at < 12 h	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fibulin-5 <sup>33</sup>	↑+	-	22/37	0.73	48.45 µg/L	86	54	19	20	17	3	34
Hyaluronic acid* <sup>18</sup>	= +	HA ≤ 500 ng/mL at < 48h	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Klotho <sup>60</sup>	↓++	-	49/47	0.79	345 pg/mL	86	62	42	29	18	7	26
Serum Amyloid A <sup>34</sup>	↑++	-	86/73	0.81	46.4 mg/L	80	69	69	50	23	17	25
YKL-40 <sup>38</sup>	↑++	collection at 6h	98/74	0.84	229.9 ng/mL	91	64	89	47	27	9	21
Osteopontin <sup>63</sup>	↑++	-	86/76	0.81	1128.6 pmol/L	83	67	71	51	25	15	25

*(Continue)*

(Table 6 Continuation)

Biomarker	Biomarker expression.	Observation	P/G	AUC	Cutoff	Sensitivity (%)	Specificity (%)	TP	TN	FP	FN	Misclassification rate (%)
Soluble CD40L <sup>41</sup>	↑++	-	56/54	0.81	4.4 ng/mL	70	78	39	42	12	17	26
MIF <sup>42</sup>	NS++	MIF > 28.5 ng/mL	62/58	0.81	26.5 ng/mL	77	66	48	38	20	14	28
MMP-3 <sup>40</sup>	= ++	MMP-3 ≥ 12.4 ng/mL	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MMP-9 <sup>40</sup>	= ++	MMP-9 ≥ 192.4 ng/mL	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
miR-130a <sup>23</sup>	↑++	In deep hematoma	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
IL-1ra <sup>39</sup>	↑-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
IL-4 <sup>39</sup>	↑-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
IL-6 <sup>39</sup>	↑-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
IL-8 <sup>39</sup>	↑-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
IL-10 <sup>39</sup>	↑-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
IL-18 <sup>72</sup>	↑+	-	22/59	0.84	4.98 pg/mL	84	21	18	12	47	4	62
IL-1β <sup>72</sup>	↑+	-	22/59	0.85	4.28 pg/mL	84	19	18	11	48	4	63
IL-1β <sup>39</sup>	↑-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
TNF <sup>39</sup>	↑-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
TNF-α <sup>72</sup>	↑+	-	22/59	0.95	7.47 pg/mL	88	3	19	2	57	3	74
G-CSF* <sup>17</sup>	↑++	-	56/39	0.77	413 pg/mL	83	73	32	41	15	7	23
G-CSF <sup>39</sup>	↑-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
GM-CSF <sup>39</sup>	↑-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PLR <sup>71</sup>	↑++	-	55/192	0.65	181.6	87	48	48	93	99	7	43
NLR <sup>71</sup>	↑++	-	55/192	0.70	14.0	75	69	41	133	59	14	30
NLR <sup>62</sup>	↑+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
NLR <sup>46</sup>	↑-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

(Continue)

(Table 6 Continuation)

Biomarker	Biomarker expression.	Observation	P/G	AUC	Cutoff	Sensitivity (%)	Specificity (%)	TP	TN	FP	FN	Misclassification rate (%)
Calprotectin <sup>49</sup>	↑++	-	28/26	0.81	6.02 ng/mL	54	96	15	25	1	13	26
Galectin-3 <sup>65</sup>	↑++	-	57/55	0.83	18.9 ng/mL	90	66	51	36	19	6	22
Myeloperoxidase <sup>55</sup>	↑++	-	65/63	0.83	1.59 ng/mL	79	71	51	45	18	14	25
Neutrophils <sup>62</sup>	↑+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Lymphocytes <sup>62</sup>	↓+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
WBC* <sup>21</sup>	↓++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
WBC <sup>25</sup>	↑+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
WBC <sup>62</sup>	NS -	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
SNP rs10940495 in the gp130 locus <sup>73</sup>	NA+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Oxidative stress</b>												
8-iso-PGF2 $\alpha$ <sup>59</sup>	↑++	-	66/62	0.81	0.53 ng/mL	76	81	50	50	12	16	22
ROOH <sup>24</sup>	↑+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Neuronal damage</b>												
Periostin <sup>37</sup>	↑++	-	65/63	0.81	254.5 ng/mL	82	62	53	39	24	12	28
Caspase-3 <sup>47</sup>	↑++	-	58/54	0.83	0.53 ng/mL	83	63	48	34	20	10	27
Omentin-1 <sup>54</sup>	↓++	-	58/46	0.82	179.7 ng/mL	88	70	51	32	14	7	20
Gelsolin <sup>63</sup>	↓++	-	79/53	0.83	52.8 mg/L	70	83	55	44	9	24	25
miR-1297 <sup>45</sup>	↑++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
NSE <sup>29</sup>	↑++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
NfL <sup>61</sup>	↑++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

(Continue)

(Table 6 Continuation)

Biomarker	Biomarker expression.	Observation	P/G	AUC	Cutoff	Sensitivity (%)	Specificity (%)	TP	TN	FP	FN	Misclassification rate (%)
Tenascin-C <sup>48</sup>	↑++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Glial activation</b>												
GFAP <sup>53</sup>	↑+	-	23/20	0.94	1.04 ng/mL	96	80	22	16	4	1	12
S100B <sup>69</sup>	↑+	-	25/21	0.92	133 pg/mL	100	76	25	16	5	0	11
S100B <sup>29</sup>	= -	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
S100B <sup>22</sup>	NS+	PeakS100B										
<b>Metabolism</b>												
Cholesterol <sup>30</sup>	↓+	-										
Copeptin <sup>66</sup>	↑++	-	56/33	0.84	23.5 pmol/L	77	88	43	29	4	13	19
ALP* <sup>56</sup>	↑++	-	50/146	0.65	87.5 U/L	84	46	42	67	79	8	44
eGFR <sup>3</sup>	↓-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Calcium <sup>35</sup>	↓+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Calcium <sup>36</sup>	↓+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Calcium* <sup>20</sup>	↑+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Estrogen <sup>57</sup>	↑+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
AST* <sup>21</sup>	↓++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ALT* <sup>21</sup>	= -	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Glucose* <sup>21</sup>	↓+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Glucose <sup>44</sup>	↑+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Glucose <sup>68</sup>	= -	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Glucose <sup>25</sup>	NS -	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

(Continue)

(Table 6 Continuation)

Biomarker	Biomarker expression.	Observation	P/G	AUC	Cutoff	Sensitivity (%)	Specificity (%)	TP	TN	FP	FN	Misclassification rate (%)
Magnesium* <sup>19</sup>	↑+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
UACR <sup>3</sup>	↑+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Total bile acids <sup>50</sup>	↓+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Uric acid <sup>51</sup>	↓-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hepcidin* <sup>52</sup>	↑++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Iron <sup>52</sup>	↓-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Phosphate* <sup>20</sup>	= -	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
HGH <sup>25</sup>	↑+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Circulation, coagulation or vascular function</b>												
Angiopoietin 1* <sup>17</sup>	↑++	-	56/39	0.87	35 ng/mL	82	81	32	45	11	7	19
Angiopoietin 1 <sup>40</sup>	= -	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
VEGF* <sup>17</sup>	↑++	-	56/39	0.83	330 pg/mL	82	79	32	44	12	7	20
VEGF <sup>16</sup>	↓+	-	35/47	0.95	111.17 pg/mL	92	99	43	35	0	4	5
VEGF <sup>40</sup>	= -	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
TSP-1 <sup>58</sup>	↑++	-	56/54	0.81	732.3 ng/mL	70	78	39	42	12	17	26
Troponin I <sup>2</sup>	↑++	-	320/179	0.63	0.04 ng/mL	59	68	189	121	58	131	38
SCUBE1 <sup>43</sup>	↑++	-	65/63	0.84	15.3 ng/mL	85	71	55	45	18	10	22
Adrenomedullin <sup>64</sup>	↑++	-	68/46	0.83	76.6 pg/mL	90	63	61	29	17	7	21
BNP <sup>22</sup>	NS +	Peak BNP	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Homocysteine <sup>70</sup>	= -	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Platelets* <sup>21</sup>	= -	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

(Continue)

**(Table 6 Footnote)**

Arrows and equal sign show the biomarker level of the post-stroke individuals with poor outcome compared to the individuals with good outcome, classified by the modified Rankin Scale. 8-iso-PGF2 $\alpha$  indicates 8-iso-prostaglandin F2 $\alpha$ ; ALP, alkaline phosphatase; ALT, Alanine Aminotransferase. AST, Aspartate Aminotransferase; AUC, area under the curve; BNP, Brain natriuretic peptide; CCL2, chemokine (C-C motif) ligand 2; CCL7: chemokine (C-C motif) ligand 7; CCL22, C-C motif chemokine 22; CRP, C-reactive protein; CXCL10, C-X-C motif chemokine ligand 10; CX3CL1 CyPA, Cyclophilin A; FN, false negative; FP, false positive; G, good outcome group; G-CSF, granulocyte-colony stimulating factor; GFAP, Glial fibrillary acidic protein; GFR, glomerular filtration rate; GM-CSF, granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, HGH. Human growth hormone; IL, Interleukin; Lp-PLA2, lipoprotein-associated phospholipase A2; MIF, Macrophage migration inhibitory factor; MMP: Matrix metalloproteinase; NA, not applicable, NGAL, neutrophil gelatinase-associated lipocalin; NLR, Neutrophil-to-lymphocyte ratio, NS: not specified. NSE, Neuron-specific enolase; NfL, neurofilament light chain; P, poor outcome group; PLR, Platelet to lymphocyte ratio; ROOH, lipid hydroperoxides; S100B, calcium-binding protein B; SCUBE1, Signal peptide-cub-epidermal; TN, true negative TNF, tumor necrosis factor; TP, true positive TSP-1: Thrombospondin-1; UACR, urine albumin-creatinine ratio; VEGF, vascular endothelial growth factor and WBC, white blood cells.

\* Studies showing the biomarker level in the group of post-stroke individuals with good outcome compared to poor outcome.

++: Independent predictor.

+: Predictor.

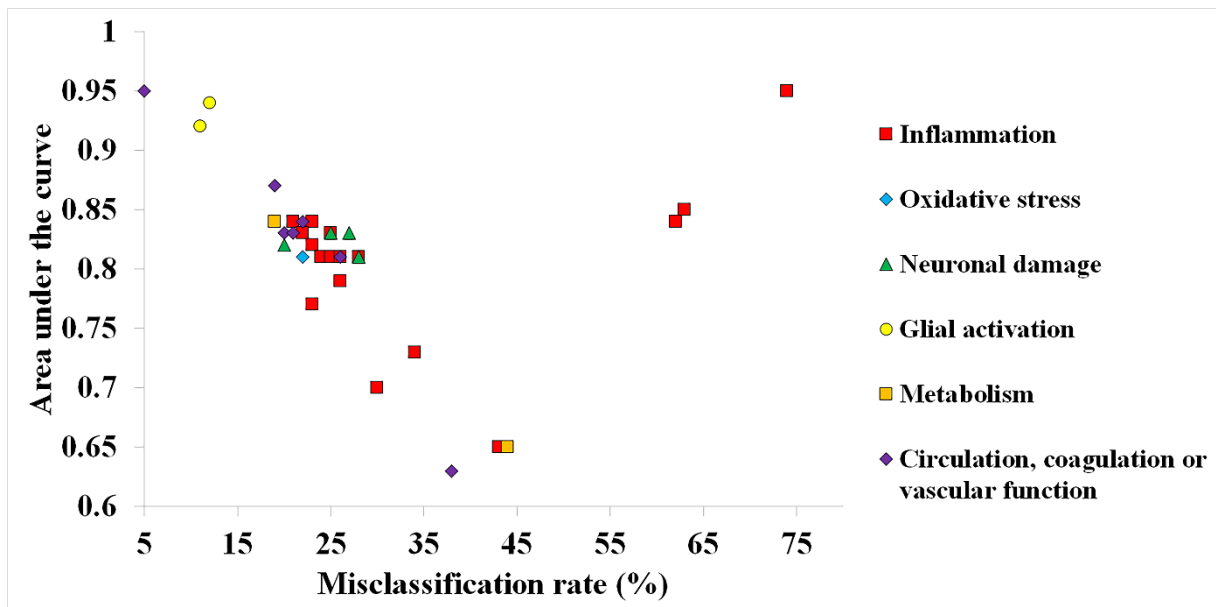
-: No predictor.



### Measures of diagnostic accuracy

The ROC analysis was used by thirty-two studies to assess the predictive ability of the biomarkers to detect functional recovery after hemorrhagic stroke by using the area under the ROC curve, but two studies<sup>71, 72</sup> do not mention the values of AUC or cutoff. Overall, thirty-five biomarkers and their cutoff values were reported (Table 6). To categorize post-hemorrhagic stroke individuals as worse outcome or better outcome, twenty-four biomarkers achieved very good accuracy (AUC = 0.8-0.9), and twenty-seven achieved a low incorrect classification rate (10-30%). In order to categorize post-stroke hemorrhagic individuals into the poor outcome group or good outcome group, twenty-four biomarkers achieved very good accuracy (AUC = 0.8-0.9), and twenty-seven achieved a low misclassification rate (10-30%). The best relationships between AUC and the misclassification rate were found using the vascular endothelial growth factor (cutoff = 111.17 pg/mL)<sup>16</sup> and the glial activation biomarkers [glial fibrillary acidic protein (cutoff = 1.04 ng/mL)<sup>53</sup> and glial-specific S100 calcium-binding protein B (cutoff = 133 pg/mL)<sup>67</sup>] ( Figure 2).

**Figure 2.** Relationship between area under the curve and Misclassification rate.



### Risk of bias

QUADAS-2 evaluated 61 studies of biomarkers and physical recovery in hemorrhagic stroke. Four domains were considered for "bias risk" and three domains for "applicability concerns" (Figure 3). All studies were at risk of bias, with 66% having a "not clear" rating in

“Flow and timing”. In contrast, out of these 61 articles, 22 (36%) were considered of "low concern regarding applicability". From the 39 articles considered as having "concerns regarding applicability", 21 (34%) of them obtained unclear in the "patient selection" or in the "index test".

**Figure 3.** Risk of Bias according to QUADAS-2. ? Unclear risk; - Low risk; + High risk

	RISK OF BIAS			APPLICABILITY CONCERNS		
	Patient Selection	Index Test	Reference Standard	Patient Selection	Index Test	Reference Standard
Alesandrova, 2011	?	-	-	+	+	?
Bakhshayesh, 2014	?	-	-	+	-	?
Bian, 2019	+	?	-	+	+	?
Brea, 2009	-	?	-	+	+	?
Chen, 2017	?	-	-	+	-	?
Chen, 2018	?	?	-	+	+	?
Chen, 2019	+	?	-	+	+	?
Crago, 2015	+	-	-	+	+	?
Dong, 2015	+	?	+	+	+	+
Du, 2014	?	?	+	+	+	+
El Hussein, 2018	?	-	-	+	+	?
Gerner, 2018	?	?	+	+	+	+
Goyal, 2018	?	-	-	+	+	?
Hu, 2016	+	-	+	+	+	+
Hu, 2019	?	-	-	+	+	?
Huang, 2013	?	?	+	+	+	+
Huangfu, 2020	+	?	-	+	+	?
Hviid, 2019	-	?	-	+	+	?
Inoue, 2013	?	?	-	+	-	?
James, 2009	+	-	+	+	+	+
Ji, 2017	?	-	-	+	+	?
Jiang, 2014	+	-	-	+	+	?
Kim, 2009	?	?	-	+	-	?
Landreneau, 2018	+	-	+	+	+	+
Lattanzi, 2018	?	-	-	+	-	?
Li, 2013	-	-	-	+	+	?
Li, 2020	-	?	+	+	+	+
Lin, 2016	?	?	+	+	+	+

(Continue)

(Figure 3 Continuation)

Lin, 2017	+	?	+	+	+	+
Lv, 2018	?	-	-	+	+	?
Mao, 2019	-	-	-	+	-	?
Pérez de la Ossa, 2010	+	-	-	+	?	?
Qiu, 2016	+	?	+	+	+	+
Qureshi, 2011	+	-	-	+	?	?
Sheng, 2018	?	-	-	+	?	?
Shoaeb, 2014	+	?	+	+	+	+
Sobrino, 2009	?	?	-	+	+	?
Sun, 2016	?	?	-	+	+	?
Sun, 2017	+	?	-	+	+	?
Tang, 2014	?	-	-	+	?	?
Tao, 2017	+	-	-	+	?	?
Wang, 2014	+	?	+	+	+	+
Wang, 2016	?	-	-	+	?	?
Wang, 2018	+	?	+	+	+	+
Wang, 2018	?	-	-	+	?	?
Wang, 2020	+	-	-	+	?	?
Wu, 2014	?	?	-	+	+	?
Xiong, 2015	+	-	+	+	?	+
Xiong, 2015	+	?	-	+	+	?
Yan, 2016	+	?	+	+	+	+
You, 2016	?	-	-	+	?	?
Zhang, 2012	+	-	-	+	?	?
Zhang, 2020	+	?	+	+	+	+
Zhao, 2013	+	?	-	+	+	?
Zhao, 2016	?	-	-	+	?	?
Zheng, 2016	?	?	-	+	+	?
Zheng, 2018	+	?	-	+	+	?
Zhou, 2015	+	-	-	+	?	?
Zhou, 2016	?	?	-	+	+	?
Zhu, 2019	?	-	+	+	?	+
Zweifel, 2011	+	-	+	+	?	+

- High

? Unclear

+ Low

## Discussion

This study systematically reviewed molecular biomarkers related to functional recovery after hemorrhagic stroke and synthesized the optimal biomarker cutoff values in a ROC curve analysis. The QUADAS was used to assess the risk of bias of selected studies. The new information provided by this review should contribute to the neurorehabilitation field because it brings insights into molecular targets for pharmacological and physical interventions and predicts individuals with better functional outcomes. This prediction can help the rehabilitation team to design better trials to understand recovery profiles, such as good and bad responders. In addition, it can recommend a more selective therapy, based on recovery neurobiology. From 79 molecular biomarkers identified in this systematic review, 52 were considered as predictors, 18 as no predictors and 9 presented controversial results.

There are similarities and discrepancies between different stroke etiologies according to the literature.<sup>4,5</sup> The increase in inflammatory biomarkers such as TNF- $\alpha$ , White Blood Cells, Osteopontin, and Glucose seems to be a common profile for both ischemic and hemorrhagic stroke, and they were related to poor functional prognosis.<sup>4,5</sup> However, considering studies indicating a specific molecular profile to differentiate the diagnosis between each stroke<sup>74</sup>, it can be expected that there is a particular molecular profile related to functional recovery between ischemic and hemorrhagic stroke. For example, in both stroke types the GFAP and MMP-9 are able to predict functional recovery and differentiate stroke type<sup>10,32,55,74,75</sup>. Although, the increases in C-Reactive would be considered as a predictor of motor recovery after ischemic stroke, it was not observed in the present review for the hemorrhagic one<sup>6,74</sup>. Nevertheless, interpretations and comparisons must be taken with caution because of the great variability among studies (including sources of analysis and classification of biomarkers used). Future studies should consider genomic, metabolomic and proteomic approaches for bringing great and detailed molecular information to cluster post-stroke individuals according to the stroke etiology and functional recovery.

According to our results, the inflammatory biomarkers are the most assessed in hemorrhagic post-stroke, and their increase was related to poor functional recovery. Furthermore, the calcium pathways were frequently investigated by the studies, and they would also be considered for functional prognosis. Higher calcium blood concentrations were related to better functional recovery. Regarding the ROC analysis and the misclassification rate, VEGF showed the best accuracy (AUC=0.95 and misclassification rate=5%) when the 111.17 ng/mL cutoff was considered.<sup>16</sup>

Methodological variations among studies for assessing biomarkers can also partially explain discrepant results. For example, different time points for sample collections can be a source of misinterpretation as observed for Angiotensin 1, VEGF and ferritin. Likewise, for the NLR, IL-6 and S100 biomarkers, the contradictory results can be explained by the type of sample used, such as blood, plasma, serum, or cerebrospinal fluid. The present study showed that the blood biomarker was frequently reported, probably because blood tests are commonly part of the routine in emergency stroke evaluation and enable the analysis of different systemic conditions or many predictive biomarkers.

Considering the complex pathology of hemorrhagic stroke<sup>76</sup>, the combination of several biomarkers could improve the accuracy of the prediction. For instance, the odds of having a poor outcome when NLR and PLR were combined (OR = 5.44) increased up to 118%, which means more than double the improvement compared to the isolated biomarkers (OR = 2.30 and 2.49, respectively)<sup>71</sup>. In addition, other sorts of biomarkers have arisen as independent predictors for sensorimotor recovery after stroke, such as NIHSS<sup>6,16-18,24,27,28,32,34,37,38,40,41,52,58-60,62-64,66,67</sup>, hematoma volume<sup>17,26-28,32,34,37,38,40,41,52,54,58-60,62-64,66,67</sup>, ischemic-like electrocardiogram changes<sup>77</sup>, heart rate variability parameters<sup>78</sup> and low-frequency oscillations<sup>79</sup> might improve accuracy to predict functional recovery. This approach was seen in a study carried out by Dong et al<sup>58</sup>, who observed better accuracy to predict long-term functional recovery when combining thrombospondin-1 biomarker with NIHSS or with hematoma volume.

Although considering strategies to avoid bias, the present results must be interpreted with caution, and some points should be kept in mind: 1) the limited number of studies that evaluated the same biomarker, restricts performing a meta-analysis to be able to identify the best biomarker that predicts functionality; 2) the circadian rhythm can affect the expression of some biomarkers<sup>4</sup>, and it was not controlled in this study; 3) blinded evaluators are not frequently used in the included studies; 4) the lack of clear standardized terminology for poor or good functional outcomes post-stroke as well as the best assessment instruments should be addressed by the scientific community<sup>22</sup>; 5) many contextual factors could influence the functional state after stroke, such as sedentary behavior, the amount of rehabilitation received, comorbidities, and medications, etc, could affect prediction models. Probably non-linear models with different factors and time-points of assessment might better represent this complexity; 6) few studies have considered long-term follow-ups for functional recovery ( $\geq 6$  months).

**Conclusion**

This systematic review shows that late functional recovery can be predicted by 61 molecular biomarkers, assessed in the acute phase after a hemorrhagic stroke.

## Reference

1. Maas MB, Furie KL. Molecular biomarkers in stroke diagnosis and prognosis. *Biomark Med.* Aug 2009;3(4):363-383. doi:10.2217/bmm.09.30
2. Gerner ST, Auerbeck K, Sprügel MI, et al. Peak Troponin I Levels Are Associated with Functional Outcome in Intracerebral Hemorrhage. *Cerebrovasc Dis.* 2018;46(1-2):72-81. doi:10.1159/000492395
3. Huang YC, Wu YL, Lee MH, et al. Association of renal biomarkers with 3-month and 1-year outcomes among critically ill acute stroke patients. *PLoS One.* 2013;8(9):e72971. doi:10.1371/journal.pone.0072971
4. Lai YJ, Hanneman SK, Casarez RL, Wang J, McCullough LD. Blood biomarkers for physical recovery in ischemic stroke: a systematic review. *Am J Transl Res.* 2019;11(8):4603-4613.
5. Donkel SJ, Benaddi B, Dippel DWJ, Ten Cate H, de Maat MPM. Prognostic Hemostasis Biomarkers in Acute Ischemic Stroke. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 03 2019;39(3):360-372. doi:10.1161/ATVBAHA.118.312102
6. Shoaeb MA, Shehata, M.A., Taema, K.M., Hammouda, M.A. CRP in cerebrovascular stroke: Prognostic implications. 2014. doi:10.1016/j.ejccm.2014.03.001
7. Hasan N, McColgan P, Bentley P, Edwards RJ, Sharma P. Towards the identification of blood biomarkers for acute stroke in humans: a comprehensive systematic review. *Br J Clin Pharmacol.* Aug 2012;74(2):230-40. doi:10.1111/j.1365-2125.2012.04212.x
8. Moher D, Hopewell S, Schulz KF, et al. CONSORT 2010 explanation and elaboration: updated guidelines for reporting parallel group randomised trials. *Int J Surg.* 2012;10(1):28-55. doi:10.1016/j.ijsu.2011.10.001
9. Ng GJL, Quek AML, Cheung C, Arumugam TV, Seet RCS. Stroke biomarkers in clinical practice: A critical appraisal. *Neurochem Int.* Jul 2017;107:11-22. doi:10.1016/j.neuint.2017.01.005
10. Kamtchum-Tatuene J, Jickling GC. Blood Biomarkers for Stroke Diagnosis and Management. *Neuromolecular Med.* 12 2019;21(4):344-368. doi:10.1007/s12017-019-08530-0
11. Šimundić AM. Measures of Diagnostic Accuracy: Basic Definitions. *EJIFCC.* Jan 2009;19(4):203-11.
12. Eusebi P. Diagnostic accuracy measures. *Cerebrovasc Dis.* 2013;36(4):267-72. doi:10.1159/000353863
13. Kaizik MA, Garcia AN, Hancock MJ, Herbert RD. Measurement properties of quality assessment tools for studies of diagnostic accuracy. *Braz J Phys Ther.* 2020 Mar - Apr 2020;24(2):177-184. doi:10.1016/j.bjpt.2019.01.009
14. Schueler S, Schuetz GM, Dewey M. The revised QUADAS-2 tool. *Ann Intern Med.* Feb 2012;156(4):323; author reply 323-4. doi:10.7326/0003-4819-156-4-201202210-00018
15. Higgins JP, Altman DG, Gøtzsche PC, et al. The Cochrane Collaboration's tool for assessing risk of bias in randomised trials. *BMJ.* Oct 2011;343:d5928. doi:10.1136/bmj.d5928

16. Zheng J, Sun J, Yang L, Zhao B, Fan Z. The potential role of vascular endothelial growth factor as a new biomarker in severe intracerebral hemorrhage. *J Clin Lab Anal.* Sep 2017;31(5)doi:10.1002/jcla.22076
17. Sobrino T, Arias S, Rodríguez-González R, et al. High serum levels of growth factors are associated with good outcome in intracerebral hemorrhage. *J Cereb Blood Flow Metab.* Dec 2009;29(12):1968-74. doi:10.1038/jcbfm.2009.182
18. Tang SC, Yeh SJ, Tsai LK, et al. Association between plasma levels of hyaluronic acid and functional outcome in acute stroke patients. *J Neuroinflammation.* Jun 2014;11:101. doi:10.1186/1742-2094-11-101
19. Goyal N, Tsivgoulis G, Malhotra K, et al. Serum Magnesium Levels and Outcomes in Patients With Acute Spontaneous Intracerebral Hemorrhage. *J Am Heart Assoc.* 04 2018;7(8)doi:10.1161/JAHA.118.008698
20. You S, Han Q, Xu J, et al. Serum Calcium and Phosphate Levels and Short- and Long-Term Outcomes in Acute Intracerebral Hemorrhage Patients. *J Stroke Cerebrovasc Dis.* Apr 2016;25(4):914-20. doi:10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2015.12.023
21. Kim KH. Predictors of 30-day mortality and 90-day functional recovery after primary intracerebral hemorrhage : hospital based multivariate analysis in 585 patients. *J Korean Neurosurg Soc.* Jun 2009;45(6):341-9. doi:10.3340/jkns.2009.45.6.341
22. James ML, Blessing R, Phillips-Bute BG, Bennett E, Laskowitz DT. S100B and brain natriuretic peptide predict functional neurological outcome after intracerebral haemorrhage. *Biomarkers.* Sep 2009;14(6):388-94. doi:10.1080/13547500903015784
23. Wang MD, Wang Y, Xia YP, et al. High Serum MiR-130a Levels Are Associated with Severe Perihematomal Edema and Predict Adverse Outcome in Acute ICH. *Mol Neurobiol.* Mar 2016;53(2):1310-1321. doi:10.1007/s12035-015-9099-0
24. Alexandrova ML, Danovska MP. Serum C-reactive protein and lipid hydroperoxides in predicting short-term clinical outcome after spontaneous intracerebral hemorrhage. *J Clin Neurosci.* Feb 2011;18(2):247-52. doi:10.1016/j.jocn.2010.07.125
25. Zweifel C, Katan M, Schuetz P, et al. Growth hormone and outcome in patients with intracerebral hemorrhage: a pilot study. *Biomarkers.* Sep 2011;16(6):511-6. doi:10.3109/1354750X.2011.599074
26. Bakhshayesh B, Hosseinezhad M, Saadat SN, Ansar MM, Ramezani H, Saadat SM. Iron overload is associated with perihematoma edema growth following intracerebral hemorrhage that may contribute to in-hospital mortality and long-term functional outcome. *Curr Neurovasc Res.* 2014;11(3):248-53. doi:10.2174/1567202611666140530124855
27. Pérez de la Ossa N, Sobrino T, Silva Y, et al. Iron-related brain damage in patients with intracerebral hemorrhage. *Stroke.* Apr 2010;41(4):810-3. doi:10.1161/STROKEAHA.109.570168
28. Bian L, Mao LG, Sun Y, et al. Serum lipoprotein-associated phospholipase A2 as a promising prognostic biomarker in association with 90-day outcome of acute intracerebral hemorrhage. *Clin Chim Acta.* Aug 2019;495:429-435. doi:10.1016/j.cca.2019.05.017
29. Brea D, Sobrino T, Blanco M, et al. Temporal profile and clinical significance of serum neuron-specific enolase and S100 in ischemic and hemorrhagic stroke. *Clin Chem Lab Med.* 2009;47(12):1513-8. doi:10.1515/CCLM.2009.337



30. Chen YW, Li CH, Yang CD, et al. Low cholesterol level associated with severity and outcome of spontaneous intracerebral hemorrhage: Results from Taiwan Stroke Registry. *PLoS One*. 2017;12(4):e0171379. doi:10.1371/journal.pone.0171379
31. Chen B, Shen J, Zheng GR, et al. Serum cyclophilin A concentrations and prognosis of acute intracerebral hemorrhage. *Clin Chim Acta*. Nov 2018;486:162-167. doi:10.1016/j.cca.2018.08.002
32. Chen S, Chen XC, Lou XH, Qian SQ, Ruan ZW. Determination of serum neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a prognostic biomarker of acute spontaneous intracerebral hemorrhage. *Clin Chim Acta*. May 2019;492:72-77. doi:10.1016/j.cca.2019.02.009
33. Hu L, Dong MX, Zhao H, Xu GH, Qin XY. Fibulin-5: a novel biomarker for evaluating severity and predicting prognosis in patients with acute intracerebral haemorrhage. *Eur J Neurol*. 07 2016;23(7):1195-201. doi:10.1111/ene.13013
34. Huangfu XQ, Wang LG, Le ZD, Tao B. Utility of serum amyloid A as a potential prognostic biomarker of acute primary basal ganglia hemorrhage. *Clin Chim Acta*. Jun 2020;505:43-48. doi:10.1016/j.cca.2020.02.022
35. Inoue Y, Miyashita F, Toyoda K, Minematsu K. Low serum calcium levels contribute to larger hematoma volume in acute intracerebral hemorrhage. *Stroke*. Jul 2013;44(7):2004-6. doi:10.1161/STROKEAHA.113.001187
36. Mao J, Jiang W, Liu G, Jiang B. Serum calcium levels at admission is associated with the outcomes in patients with hypertensive intracerebral hemorrhage. *Br J Neurosurg*. Apr 2019;33(2):145-148. doi:10.1080/02688697.2019.1571162
37. Ji WJ, Chou XM, Wu GQ, et al. Association between serum periostin concentrations and outcome after acute spontaneous intracerebral hemorrhage. *Clin Chim Acta*. Nov 2017;474:23-27. doi:10.1016/j.cca.2017.09.002
38. Jiang YX, Zhang GH, Wang ZM, Yang H. Serum YKL-40 levels as a prognostic factor in patients with intracerebral hemorrhage. *Clin Biochem*. Dec 2014;47(18):302-6. doi:10.1016/j.clinbiochem.2014.09.015
39. Landreneau MJ, Mullen MT, Messé SR, et al. CCL2 and CXCL10 are associated with poor outcome after intracerebral hemorrhage. *Ann Clin Transl Neurol*. Aug 2018;5(8):962-970. doi:10.1002/acn3.595
40. Li N, Liu YF, Ma L, et al. Association of molecular markers with perihematomal edema and clinical outcome in intracerebral hemorrhage. *Stroke*. Mar 2013;44(3):658-63. doi:10.1161/STROKEAHA.112.673590
41. Lin XF, Ten XL, Tang XB, Chen J. Serum soluble CD40 ligand levels after acute intracerebral hemorrhage. *Acta Neurol Scand*. Mar 2016;133(3):192-201. doi:10.1111/ane.12445
42. Lin Q, Cai JY, Lu C, et al. Macrophage migration inhibitory factor levels in serum from patients with acute intracerebral hemorrhage: Potential contribution to prognosis. *Clin Chim Acta*. Sep 2017;472:58-63. doi:10.1016/j.cca.2017.07.016
43. Qiu SZ, Wang HX, Shen J, et al. The prognostic value of serum signal peptide-Cub-Egf domain-containing protein-1 concentrations in acute intracerebral hemorrhage. *Clin Chim Acta*. Oct 2016;461:103-9. doi:10.1016/j.cca.2016.08.001

44. Qureshi AI, Palesch YY, Martin R, et al. Association of serum glucose concentrations during acute hospitalization with hematoma expansion, perihematomal edema, and three month outcome among patients with intracerebral hemorrhage. *Neurocrit Care*. Dec 2011;15(3):428-35. doi:10.1007/s12028-011-9541-8
45. Sheng B, Lai NS, Yao Y, et al. Early serum miR-1297 is an indicator of poor neurological outcome in patients with aSAH. *Biosci Rep*. 12 2018;38(6)doi:10.1042/BSR20180646
46. Sun Y, You S, Zhong C, et al. Neutrophil to lymphocyte ratio and the hematoma volume and stroke severity in acute intracerebral hemorrhage patients. *Am J Emerg Med*. Mar 2017;35(3):429-433. doi:10.1016/j.ajem.2016.11.037
47. Sun DB, Xu MJ, Chen QM, Hu HT. Significant elevation of serum caspase-3 levels in patients with intracerebral hemorrhage. *Clin Chim Acta*. Aug 2017;471:62-67. doi:10.1016/j.cca.2017.05.021
48. Wang LG, Huangfu XQ, Tao B, Zhong GJ, Le ZD. Serum tenascin-C predicts severity and outcome of acute intracerebral hemorrhage. *Clin Chim Acta*. Jun 2018;481:69-74. doi:10.1016/j.cca.2018.02.033
49. Wang C, Kou Y, Han Y, Li X. Early Serum Calprotectin (S100A8/A9) Predicts Delayed Cerebral Ischemia and Outcomes after Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage. *J Stroke Cerebrovasc Dis*. May 2020;29(5):104770. doi:10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2020.104770
50. Wang K, Zhang Y, Zhong C, et al. Increased Serum Total Bile Acids can be Associated with a Small Hematoma Volume and Decreased Clinical Severity During Acute Intracerebral Hemorrhage. *Curr Neurovasc Res*. 2018;15(2):158-163. doi:10.2174/1567202615666180516114211
51. Wu H, Jia Q, Liu G, et al. Decreased uric acid levels correlate with poor outcomes in acute ischemic stroke patients, but not in cerebral hemorrhage patients. *J Stroke Cerebrovasc Dis*. Mar 2014;23(3):469-75. doi:10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2013.04.007
52. Xiong XY, Chen J, Zhu WY, et al. Serum hepcidin concentrations correlate with serum iron level and outcome in patients with intracerebral hemorrhage. *Neurol Sci*. Oct 2015;36(10):1843-9. doi:10.1007/s10072-015-2266-2
53. Xiong L, Yang Y, Zhang M, Xu W. The use of serum glial fibrillary acidic protein test as a promising tool for intracerebral hemorrhage diagnosis in Chinese patients and prediction of the short-term functional outcomes. *Neurol Sci*. Nov 2015;36(11):2081-7. doi:10.1007/s10072-015-2317-8
54. Zhang GH, Ye ZH, Guan HJ, Guo M, Zhou XX, Xu YY. Impact of serum omentin-1 concentrations on functional outcome among acute intracerebral hemorrhage patients. *Clin Chim Acta*. Apr 2020;503:169-174. doi:10.1016/j.cca.2020.01.026
55. Zheng GR, Chen B, Shen J, et al. Serum myeloperoxidase concentrations for outcome prediction in acute intracerebral hemorrhage. *Clin Chim Acta*. Dec 2018;487:330-336. doi:10.1016/j.cca.2018.10.026
56. Zhu Y, Jiang H, Li Y, et al. Serum Alkaline Phosphatase Level is Associated with Angiographic Vasospasm, Delayed Cerebral Ischemia-Caused Clinical Deterioration, and Functional Outcome After Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage. *Neurocrit Care*. 12 2019;31(3):466-475. doi:10.1007/s12028-019-00714-7

57. Crago EA, Sherwood PR, Bender C, Balzer J, Ren D, Poloyac SM. Plasma Estrogen Levels Are Associated With Severity of Injury and Outcomes After Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage. *Biol Res Nurs.* Oct 2015;17(5):558-66. doi:10.1177/1099800414561632
58. Dong XQ, Yu WH, Zhu Q, et al. Changes in plasma thrombospondin-1 concentrations following acute intracerebral hemorrhage. *Clin Chim Acta.* Oct 2015;450:349-55. doi:10.1016/j.cca.2015.09.013
59. Du Q, Yu WH, Dong XQ, et al. Plasma 8-iso-Prostaglandin F2 $\alpha$  concentrations and outcomes after acute intracerebral hemorrhage. *Clin Chim Acta.* Nov 2014;437:141-6. doi:10.1016/j.cca.2014.07.014
60. Hu ZJ, Wang XC, Zhu LC, et al. Circulating Klotho is linked to prognosis of acute intracerebral hemorrhage. *Clin Chim Acta.* Oct 2019;497:114-119. doi:10.1016/j.cca.2019.07.023
61. Hviid CVB, Lauridsen SV, Gyldenholm T, Sunde N, Parkner T, Hvas AM. Plasma Neurofilament Light Chain Is Associated with Poor Functional Outcome and Mortality Rate After Spontaneous Subarachnoid Hemorrhage. *Transl Stroke Res.* Aug 2020;11(4):671-677. doi:10.1007/s12975-019-00761-4
62. Lattanzi S, Cagnetti C, Rinaldi C, Angelocola S, Provinciali L, Silvestrini M. Neutrophil-to-lymphocyte ratio improves outcome prediction of acute intracerebral hemorrhage. *J Neurol Sci.* 04 2018;387:98-102. doi:10.1016/j.jns.2018.01.038
63. Li HJ, Han NN, Nan Y, Zhang K, Li G, Chen H. Plasma osteopontin acts as a prognostic marker in acute intracerebral hemorrhage patients. *Clin Chim Acta.* Jan 2020;500:208-212. doi:10.1016/j.cca.2019.10.018
64. Wang CL, Lin HY, Xu JW, et al. Blood levels of adrenomedullin on admission predict outcomes after acute intracerebral hemorrhage. *Peptides.* Apr 2014;54:27-32. doi:10.1016/j.peptides.2014.01.005
65. Yan XJ, Yu GF, Jie YQ, Fan XF, Huang Q, Dai WM. Role of galectin-3 in plasma as a predictive biomarker of outcome after acute intracerebral hemorrhage. *J Neurol Sci.* Sep 2016;368:121-7. doi:10.1016/j.jns.2016.06.071
66. Zhang X, Lu XM, Huang LF, Ye H. Copeptin is associated with one-year mortality and functional outcome in patients with acute spontaneous basal ganglia hemorrhage. *Peptides.* Feb 2012;33(2):336-41. doi:10.1016/j.peptides.2012.01.011
67. Zhao DQ, Wang K, Zhang HD, Li YJ. Significant reduction of plasma gelsolin levels in patients with intracerebral hemorrhage. *Clin Chim Acta.* Jan 2013;415:202-6. doi:10.1016/j.cca.2012.10.048
68. Zhao Y, Yang J, Zhao H, Ding Y, Zhou J, Zhang Y. The association between hyperglycemia and the prognosis of acute spontaneous intracerebral hemorrhage. *Neurol Res.* Feb 2017;39(2):152-157. doi:10.1080/01616412.2016.1270575
69. Zhou S, Bao J, Wang Y, Pan S. S100 $\beta$  as a biomarker for differential diagnosis of intracerebral hemorrhage and ischemic stroke. *Neurol Res.* Apr 2016;38(4):327-32. doi:10.1080/01616412.2016.1152675
70. Zhou F, Chen B, Chen C, et al. Elevated homocysteine levels contribute to larger hematoma volume in patients with intracerebral hemorrhage. *J Stroke Cerebrovasc Dis.* Apr 2015;24(4):784-8. doi:10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2014.11.005

71. Tao C, Wang J, Hu X, Ma J, Li H, You C. Clinical Value of Neutrophil to Lymphocyte and Platelet to Lymphocyte Ratio After Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage. *Neurocrit Care*. Jun 2017;26(3):393-401. doi:10.1007/s12028-016-0332-0
72. Lv SY, Wu Q, Liu JP, et al. Levels of Interleukin-1 $\beta$ , Interleukin-18, and Tumor Necrosis Factor- $\alpha$  in Cerebrospinal Fluid of Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage Patients May Be Predictors of Early Brain Injury and Clinical Prognosis. *World Neurosurg*. Mar 2018;111:e362-e373. doi:10.1016/j.wneu.2017.12.076
73. El Husseini N, Hoffman BM, Bennett ER, et al. Association of IL6ST (gp130) Polymorphism with Functional Outcome Following Spontaneous Intracerebral Hemorrhage. *J Stroke Cerebrovasc Dis*. Jan 2018;27(1):125-131. doi:10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2017.08.017
74. Misra S, Montaner J, Ramiro L, et al. Blood biomarkers for the diagnosis and differentiation of stroke: A systematic review and meta-analysis. *Int J Stroke*. Oct 2020;15(7):704-721. doi:10.1177/1747493020946157
75. Abdelnaseer M, Elfayomi N, Esmail EH, et al. Relationship between matrix metalloproteinase-9 and common carotid artery intima media thickness. *Neurol Sci*. Jan 2016;37(1):117-122. doi:10.1007/s10072-015-2358-z
76. Glushakova OY, Glushakov AV, Miller ER, Valadka AB, Hayes RL. Biomarkers for acute diagnosis and management of stroke in neurointensive care units. *Brain Circ*. 2016 Jan-Mar 2016;2(1):28-47. doi:10.4103/2394-8108.178546
77. Junttila E, Vaara M, Koskenkari J, et al. Repolarization abnormalities in patients with subarachnoid and intracerebral hemorrhage: predisposing factors and association with outcome. *Anesth Analg*. Jan 2013;116(1):190-7. doi:10.1213/ANE.0b013e318270034a
78. Lees T, Shad-Kaneez F, Simpson AM, Nassif NT, Lin Y, Lal S. Heart Rate Variability as a Biomarker for Predicting Stroke, Post-stroke Complications and Functionality. *Biomark Insights*. 2018;13:1177271918786931. doi:10.1177/1177271918786931
79. Cassidy JM, Wodeyar A, Wu J, et al. Low-Frequency Oscillations Are a Biomarker of Injury and Recovery After Stroke. *Stroke*. 05 2020;51(5):1442-1450. doi:10.1161/STROKEAHA.120.028932

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os estudos reunidos nesta tese de doutorado evidenciaram a importância das pesquisas com biomarcadores ligados ao AVC, nas diferentes fases da doença para a prática clínica. Desta forma é necessário elucidar a representação dos níveis deste biomarcador dentro da sua, e na sua relação com outros biomarcadores, como a adiponectina e a lipoproteína de alta densidade, no período de recuperação. Na predição de uma recuperação boa ou ruim.

O estudo de piloto mostrou a ADPc relacionada a uma massa muscular esquelética mais baixa e um maior nível de lipoproteína de alta densidade em indivíduos crônicos pós-AVC. E uma relação entre a ADPc e perda de massa muscular esquelética no pós-AVC, com a possibilidade de modificação desta proteína pela prática de exercícios de moderada a alta intensidade.

Embora rastreados 61 estudos, com AVC hemorrágico e identificados 79 biomarcadores dos quais 52 eram *preditor*, 18 *não-preditor*; e sugerido que a maioria dos biomarcadores estudados, até este momento, pareceram prever a recuperação funcional após o AVC hemorrágico; não foi possível recomendações claras na identificação do biomarcador mais promissor e consistente. Houve heterogeneidade das moléculas estudadas, além de 9 estudos apresentarem resultados controversos.

Vale ressaltar a importância das escalas de avaliação funcional, no pós-AVC. A extração dos dados por ferramentas padronizadas pode homogeneizar os resultados de estudos comparáveis, entre as diferentes populações pós-AVC, estudadas em todo o mundo. Sendo este um ponto importante na realização de revisões e metanálises.

## **ATIVIDADES DURANTE O PERÍODO DO DOUTORADO**

A proposta inicial no programa de doutorado originou o projeto de pesquisa intitulado: A CARACTERIZAÇÃO DA DISFUNÇÃO ENDOTELIAL EM INDIVÍDUOS PÓS-ACIDENTE VASCULAR CEREBRAL: ESTUDO PROSPECTIVO, apresentado à banca de qualificação; aprovado pelo comitê de ética em pesquisa (CAAE: 73315517.0.0000.5512) e não concluído, por não reunir amostra que atendesse aos critérios de inclusão. Foram registrados 187 pacientes no período de abril de 2018 a dezembro de 2019, no Núcleo de Atendimento de Referência (NAR) do Hospital Regional de Assis (HRA), local de realização da pesquisa. Esses dados foram relatados no artigo ACIDENTE VASCULAR CEREBRAL: INCIDÊNCIA NO NÚCLEO DE ATENDIMENTO DE REFERÊNCIA DE ASSIS/SP (2018-2019), submetido e aprovado no XXIII CONGRESSO BRASILEIRO DE FISIOTERAPIA (COBRAF), em janeiro de 2020. Porém, devido a pandemia o XXIII COBRAF foi transferido de março de 2020 para março de 2021. A metodologia descrita no estudo inicial originou, também, um estudo científico desenvolvido como trabalho de conclusão de curso (TCC), no curso de Fisioterapia da Universidade Paulista – UNIP – Campus Assis, sob minha orientação; o desenvolvimento deste projeto serviu como treinamento para a coleta de dados do projeto original. Submetido e aprovado, será apresentado no XXIII COBRAF 2021.

### **Participação Em Congressos, Jornadas E Fóruns**

#### *Congresso*

**2017 / dezembro / 04** - palestrante no XII Congresso de Fisioterapia UNIP São Paulo, Alpha e Jundiaí | Unip – Marquês. Palestra: “Posicionamento no leito do paciente pós-AVC agudo”. (<https://br.eventbu.com/sao-paulo/xii-congresso-de-fisioterapia-unip-sao-paulo-alpha-e-jundia-ai/7135103>).

#### *Jornada*

**2018** - Os TCCs orientados no segundo semestre do ano de 2018 foram apresentados em formato de pôster na JORNADA CIENTÍFICA DA FISIOTERAPIA UNIP ASSIS 2018 (<https://rtmfigueiredo.com.br/unip/-comunicacao/noticia?id=1006>).

### *Fórum*

**2019:** Participação, como Chair, no XII FÓRUM CIENTÍFICO

**2020:** Participação, como Chair, no XIII FÓRUM CIENTÍFICO (online), de 13 a 16 de outubro de 2020, na FEMA (<http://www.fema.edu.br/images/pdfs/Pesquisa/fisio2020.pdf>).

**2016-2019:** Membro da Comissão Organizadora do Fórum de Educação Inclusiva de Assis

### **Aprovação em Concurso**

**2018 / 22 de março** - classificada em primeiro lugar no Processo Seletivo da Fundação Educacional do Município de Assis (FEMA), como docente no Curso de Fisioterapia, para a disciplina HISTÓRIA DA FISIOTERAPIA (<https://www.fema.edu.br/images/-fema/processos/04-2018.pdf>).

### **Atuação Docente em Fisioterapia**

**2016 / MARÇO a 2020 / AGOSTO:** disciplinas ministradas na UNIP Assis: Semiologia aplicada a Fisioterapia; Avaliação Funcional; Projeto Técnico Científico Interdisciplinar; Produção Técnica Científica Interdisciplinar; Estágio Supervisionado em Neurologia.

**2018 (em andamento):** disciplinas ministradas na Fundação Educacional do Município de Assis (FEMA): História da Fisioterapia, Cinesiologia, Cinesioterapia, Ergonomia, Métodos e Técnicas de Avaliação em Fisioterapia, Fundamentos de Neurologia (<https://cepein.femanet.-com.br/extrafema/docentes.jsp?codigo=FISIO>).

**2019** - Visita a Associação de Assistência à Criança Deficiente (AACD), em São Paulo, no dia 9 de maio de 2019, juntamente com alunos do curso de Fisioterapia da FEMA (<https://odiariodovale.com/alunos-de-fisioterapia-da-fema-visitam-aacd/>).

## **Coordenação de Curso**

**2016 - 2020:** Coordenadora Auxiliar do Curso de Fisioterapia da UNIP Assis e coordenadora de Estágio Supervisionado em Fisioterapia, desde março 2010.

## **Participação em Comitês e Conselhos**

**2019** - Membro do Comitê de Ética em Pesquisa – FEMA/IMESA, pela PORTARIA N° 23, de 08 de abril de 2019 ([https://fema.edu.br/images/fema/pesquisa/portaria23\\_2019.pdf](https://fema.edu.br/images/fema/pesquisa/portaria23_2019.pdf) ).

**2016 - 2018** - Membro *titular* do Conselho Municipal de Direitos da Pessoa com Deficiência e da Pessoa com Capacidade Elevada, em Assis/SP.

**2019** - Membro *suplente* do Conselho Municipal de Direitos da Pessoa com Deficiência e da Pessoa com Capacidade Elevada, em Assis/SP (<https://www.assis.sp.gov.br/conselho/8/-conselho-municipal-de-direitos-da-pessoa-com-deficiencia-e-da-pessoa-com-capacidade-elevada>)

**2019** - Membro *suplente* do Conselho Municipal da Saúde de Assis.

## **Orientação de Trabalhos Científicos**

### *Trabalho de Conclusão de Curso*

**2016 a 2020** - Durante o período do doutorado foram orientados 53 trabalhos de conclusão de curso (TCC), na UNIP Assis.

### *Programa de Iniciação Científica*

**2019:** Uso De Substâncias Psicoativas Por Acadêmicos De Uma Faculdade Municipal Do Interior De São Paulo. Orientanda: Paula Chacon Saade, aluna do curso de medicina da FEMA. ([http://scorpion.femanet.com.br/forum\\_cientifico/files/anais\\_xii\\_forum.pdf](http://scorpion.femanet.com.br/forum_cientifico/files/anais_xii_forum.pdf)).



**2020:** ASSISTÊNCIA MÉDICA PRÉ-NATAL NO PROGRAMA SAÚDE DA FAMÍLIA.  
Orientanda: Vitória Fernanda Melo Rodrigues, aluna do curso de medicina da FEMA  
([http://www.fema.edu.br/images/fema/pic/PIC2020\\_Individual\\_CLASSIFICADOS.pdf](http://www.fema.edu.br/images/fema/pic/PIC2020_Individual_CLASSIFICADOS.pdf)).

## ANEXO 1

**Confirmação de submissão do MANUSCRITO 1 – Periódico Journal of Neurologic Physical Therapy.**

**Journal of Neurologic Physical Therapy**

**Adiponectin concentration is associated with skeletal muscle mass and HDL in stroke individuals**  
--Manuscript Draft--

Manuscript Number:	JNPT-D-20-00219
Full Title:	Adiponectin concentration is associated with skeletal muscle mass and HDL in stroke individuals
Article Type:	Research Articles
Corresponding Author:	Jean Alex Matos Ribeiro, M.D. Universidade Federal de Sao Carlos Centro de Ciencias Biologicas e da Saude São Carlos, São Paulo BRAZIL
Corresponding Author E-Mail:	ribeiro-matos@hotmail.com
Manuscript Region of Origin:	BRAZIL
Abstract:	<p>Background and Purpose: Higher adiponectin concentration (ADPc) has been associated with the presence of sarcopenia in individuals with cardiovascular diseases. Post-stroke individuals presented higher ADPc than non-stroke ones. However, no previous study has investigated the relationship between the ADPc and skeletal muscle mass in post-stroke individuals. On the other hand, higher ADPc has been related to a more favorable lipid profile and the physical activity level might regulate ADPc. These associations have not been studied in this population. Thus, the main objective of this study was to determine whether the adiponectin concentration is related to: 1) body composition; 2) lipid profile; and 3) physical activity level in chronic post-stroke individuals. Methods: Data on body composition and lipid profile were collected using a bioelectrical impedance analyzer (InBody ® 720) and an automated method analyzer (CELL-DYN Ruby), respectively. The physical activity level was measured by the StepWatch ® Activity Monitor and the serum adiponectin concentration was analyzed using an enzyme-linked immunosorbent assay kit. Correlation analyses were made using Spearman's rank correlation coefficient (<math>r_s</math>). Results: Twenty-one post-stroke participants took part in the study. The ADPc was correlated with the following: weight (<math>r_s = -0.73</math>), body mass index (<math>r_s = -0.50</math>), skeletal muscle mass (<math>r_s = -0.78</math>), skeletal muscle mass index (<math>r_s = -0.75</math>) and high-density lipoprotein (<math>r_s = 0.43</math>). Discussion and Conclusions: A greater ADPc is related to a lower skeletal muscle mass and a higher high-density lipoprotein level in chronic post-stroke individuals.</p>
Keywords:	adiponectin; body composition; skeletal muscle; high-density lipoproteins lipids; physical activity; stroke
Suggested Reviewers:	
Opposed Reviewers:	
Other Authors:	Cássia Regina Saade-Pacheco Luisa Fernanda García-Salazar Stella Marcia Matiello Aparecida Maria Catai Adriana Sanches Garcia-Araújo Thiago Luiz Russo
Additional Information:	
Question	Response
JNPT requires registration of clinical trials. Through December 2019 submissions with retrospective registration will be	NA

## ANEXO 2

## Confirmação de submissão do MANUSCRITO 2 – Periódico AHA Stroke.

20/11/2020

Gmail - STROKE/2020/033532 Approved MS Received



Cassia Saade Pacheco &lt;cassiasaadepacheco@gmail.com&gt;

## STROKE/2020/033532 Approved MS Received

1 mensagem

stroke@strokeahajournal.org <stroke@strokeahajournal.org>  
 Responder a: stroke@strokeahajournal.org  
 Para: cassiasaadepacheco@gmail.com

13 de novembro de 2020 18:26

MS ID#: STROKE/2020/033532

MS TITLE: Molecular biomarkers in post-acute hemorrhagic stroke as predictors of late motor recovery: Systematic Review

AUTHORS: Cássia Regina Pacheco, Jean Alex Ribeiro, Luisa Fernanda Salazar, Erika Shirley Silva, Simone Oliveira, Ana Silveira, Adriana Garcia-Araújo, and Thiago Russo

Dear Dr. Pacheco,

On November 13, 2020, the manuscript entitled "Molecular biomarkers in post-acute hemorrhagic stroke as predictors of late motor recovery: Systematic Review" was approved for submission by the corresponding author. The manuscript will be checked in by staff. Manuscripts that do not pass the initial review by the editorial office staff will be returned to the corresponding author for correction PRIOR to review. It is possible that you may receive another notification if the manuscript has been corrected and submitted again.

The manuscript has been assigned the number STROKE/2020/033532.

To check the status of this manuscript, please click the link below and select the "Check Manuscript Status" link.

<https://stroke-submit.aha-journals.org/cgi-bin/main.plex?el=A1Hn5Crpw7A4Eko5F3A9ftdnVEBQSXEKIXbtBhYmDrAZ>

As of January 1, 2020, all corresponding authors of articles accepted to AHA Journals will be required to link an ORCID iD to their profile in the AHA Journal submission system. We encourage all authors to create and/or link their ORCID iD to their profile. To register with ORCID or link your profile, please go to "Modify Profile/Password" on the [Stroke submission website](#), and click the link in the "ORCID" section.

Kind regards,

Rebecca Seastrong  
 Managing Editor  
 Stroke  
[stroke@strokeahajournal.org](mailto:stroke@strokeahajournal.org)

### ANEXO 3

#### MANUSCRITO 1 – Versão em português.

#### **A concentração da adiponectina está associada à massa muscular esquelética e ao HDL em indivíduos com AVC**

Cássia Regina Saade-Pacheco<sup>1,2\*</sup>, MSc; Luisa Fernanda García-Salazar<sup>1,3\*</sup>, MSc; Jean Alex Matos Ribeiro<sup>1\*</sup>, MSc; Stella Marcia Matiello<sup>1</sup>, PhD; Aparecida Maria Catai<sup>1</sup>, PhD; Adriana Sanches Garcia-Araújo<sup>1</sup>, PhD; Thiago Luiz Russo<sup>1†</sup>, PhD

\* Os autores contribuíram igualmente para este manuscrito.

<sup>1</sup>Universidade Federal de São Carlos, Departamento de Fisioterapia, São Carlos, Brasil.

<sup>2</sup>Fundação Educacional do Município de Assis, Instituto Municipal de Ensino Superior de Assis, Assis, Brasil.

<sup>3</sup>Universidad del Rosario, Faculdade de Medicina e Ciências da Saúde, Grupo de Pesquisa em Ciências da Reabilitação, Bogotá, Colômbia.

#### **Aprovação ética**

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade Federal de São Carlos (CAAE) 62417216.9.0000.5504). Todos os pacientes forneceram consentimento informado antes de participar deste estudo.

## Abreviações

AC	Coeficiente aterogênico
ADPc	Concentração de adiponectina
AIP	Índice aterogênico do plasma
BCa	viés corrigido acelerado
BFM	Massa de gordura corporal
BFMI	Índice de massa de gordura corporal
IMC	Índice de massa corporal
CI <sub>95</sub>	95% do intervalo de confiança
CRI-I	Índice de risco de Castelli-I
CRI-II	Índice de risco de Castelli-II
FMA	Avaliação Fugl Meyer da recuperação motora após o AVC
HDL	Lipoproteína de alta densidade
IQR	Alcance interquartil
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
OD	Grau de obesidade
r <sub>s</sub>	Coeficiente de correlação de Spearman
SAM	Monitor de atividades StepWatch®
SD	Desvio padrão
SMM	Massa muscular esquelética
SMMI	Índice de massa muscular esquelética
TC	Colesterol total
TG	Triglicerídeos
VFA	Área de gordura visceral

## Resumo

**Contexto e Objetivo:** Concentrações mais altas de adiponectina (ADPc) têm sido associadas à presença de sarcopenia em indivíduos com doenças cardiovasculares. Indivíduos pós-AVC apresentam maior ADPc do que aqueles sem AVC. No entanto, nenhum estudo anterior investigou a relação entre a ADPc e a massa muscular esquelética em indivíduos pós-AVC. Por outro lado, a ADPc mais alta tem sido relacionada a um perfil lipídico mais favorável e ao nível de atividade física que pode regular o ADPc. Essas associações não foram estudadas nesta população. Assim, o objetivo principal deste estudo foi determinar se a concentração de adiponectina está relacionada a: 1) composição corporal; 2) perfil lipídico; e 3) nível de atividade física em indivíduos crônicos pós-AVC. **Método:** Foram coletados dados sobre composição corporal e perfil lipídico, por análise de impedância bioelétrica (InBody® 720) e método hematológico automatizado (CELL-DYN Ruby), respectivamente. O nível de atividade física foi mensurado pelo acelerômetro StepWatch® Activity Monitor e a concentração de adiponectina sérica analisada pelo kit de Ensaio de Imunoabsorção Enzimática (ELISA). As análises de correlação foram feitas pelo coeficiente de correlação de Spearman ( $r_s$ ). **Resultados:** Vinte e um participantes pós-AVC fizeram parte deste estudo. A ADPc foi correlacionada com: peso corporal ( $r_s = -0,73$ ), índice de massa corporal ( $r_s = -0,50$ ), massa muscular esquelética ( $r_s = -0,78$ ), índice de massa muscular esquelética ( $r_s = -0,75$ ) e lipoproteína de alta densidade ( $r_s = 0,43$ ). **Conclusão:** Uma maior ADPc está relacionada a massa muscular esquelética mais baixa e ao maior nível de lipoproteína de alta densidade (HDL), em indivíduos crônicos pós-AVC.

**Palavras-chave:** adiponectina, composição corporal, músculo esquelético, lipoproteína de alta densidade, atividade física, acidente vascular cerebral.

## Introdução

Cerca de 38.000 pessoas sofrem diariamente AVC em todo o mundo<sup>1</sup>, o que resulta em limitações de atividade e restrições de participação, associadas à perda muscular esquelética, por lesão corticoespinal.<sup>2</sup> As alterações musculares com efeitos deletérios no pós-AVC, como: fibrose muscular, gordura intramuscular, mudança das fibras tipo I para tipo II e a atrofia muscular<sup>3-5</sup>, são características que se distinguem de outros problemas musculares relacionados à doença.<sup>2</sup> Somado a isso, o comportamento sedentário e um menor nível de atividade física aumenta a perda muscular esquelética.<sup>1,6</sup>

Tem se sugerido que a sinalização da adiponectina participa do processo de regulação muscular.<sup>7</sup> Concentrações mais altas de adiponectina (ADPc) têm sido associadas à presença de sarcopenia em indivíduos com doenças cardiovasculares e em idosos.<sup>8,9</sup> Ryan *et al.*<sup>10</sup> observaram que sobreviventes com AVC crônico apresentam ADPc 60% maior do que indivíduos sem AVC. Portanto, pode-se especular que em mecanismos moleculares de perda do músculo esquelético relacionado ao AVC, a proteína adiponectina pode estar envolvida na redução da massa muscular esquelética. No entanto, até onde sabemos, nenhum estudo investigou a correlação entre a ADPc e a massa muscular esquelética, em indivíduos crônicos pós-AVC.

Por outro lado, ADPc mais alta tem sido relacionada a um perfil metabólico mais favorável e à diminuição do risco cardiovascular.<sup>11</sup> Estudo anterior mostrou associação negativa entre ADPc e triglicerídeos e lipoproteína de baixa densidade, em indivíduos sedentários com lesão medular.<sup>12</sup> Além disso, mesmo a atividade física de intensidade leve pode modificar a ADPc em idosos sedentários, o que significa que uma pequena quantidade de atividade física ajuda a regular a adiponectina.<sup>13</sup> Considerando que indivíduos crônicos pós-AVC são sedentários e fisicamente inativos, essas associações não foram estudadas nesta população.

A caracterização da relação entre a massa muscular esquelética e a adiponectina deve esclarecer os mecanismos moleculares relacionados à sarcopenia induzida pelo AVC. Além disso, saber se o nível de atividade física está associado a ADPc pode apoiar a lógica das intervenções para regular a ADPc em um intervalo ideal. Assim, o principal objetivo deste estudo foi determinar se a ADPc está correlacionada com: 1) composição corporal; 2) nível de atividade física; e 3) lipídio em indivíduos crônicos pós-acidente vascular cerebral. As hipóteses deste estudo foram de que o aumento sérico de ADPc está relacionado a: 1) menor massa muscular esquelética; 2) maior nível de atividade física; e 3) um melhor perfil lipídico.

## **Métodos**

### ***Desenho do estudo e aspectos éticos***

Este estudo piloto transversal foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade Federal de São Carlos, Brasil (número: 62417216.9.0000.5504), que está de acordo com a Declaração de Helsinque e a Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde. Seguimos a declaração STrengthening the Reporting of OBservational studies in Epidemiology (STROBE).<sup>14</sup> Todos os procedimentos foram explicados aos participantes antes de assinarem o termo de consentimento livre e esclarecido.

### ***Configuração e participantes***

Indivíduos com hemiparesia crônica pós-AVC ( $\geq 6$  meses) foram recrutados na comunidade local e em cidades próximas no estado de São Paulo, Brasil, entre janeiro de 2017 e julho de 2019. Os critérios detalhados de elegibilidade foram relatados em outro lugar.<sup>15</sup> Em resumo, os participantes incluídos foram: 1) 40-80 anos de idade; 2) capaz de andar de forma independente; 3) fisicamente inativo ou insuficientemente ativo; e 4) ausência de comprometimento cognitivo. Os participantes excluídos foram: 1) cirurgia cardíaca e ou infarto do miocárdio; 2) doença crônica descontrolada; e 3) fumante ativo/passivo e/ou consumidor regular de bebidas alcoólicas.

Todos os procedimentos foram realizados em três dias, não consecutivos, com intervalo mínimo de 72h. No primeiro dia de avaliação, os participantes foram entrevistados para obtenção dos dados sobre as características pessoais e em seguida realizada a medida da estatura e da função, no Departamento de Fisioterapia da Universidade Federal de São Carlos, Brasil. Em seguida, um monitor de atividade vestível foi colocado no tornozelo não parético, dos participantes. No segundo dia de avaliação, os participantes retornaram ao setor para retirada do monitor de atividades, e para a avaliação da composição corporal, entre 8h e 10h. No terceiro dia de avaliação, foi coletada uma amostra de sangue, entre 7 e 10 horas, no Laboratório de Análises Clínicas da UNIMED (sistema médico cooperativo) em São Carlos, Brasil.



## ***Avaliação do 1º dia***

### ***Avaliação clínica***

A estatura foi medida por estadiômetro padrão (Welmy R-110, Santa Bárbara do Oeste, SP, Brasil). O comprometimento motor foi avaliado por meio da Avaliação de Fugl-Meyer de Recuperação Motora após o AVC (FMA).<sup>16</sup> De acordo com os escores da FMA, o comprometimento motor foi classificado em grave (< 50), acentuado (50-84), moderado (85-94) ou leve (95-99).<sup>2</sup> Um único avaliador com formação em FMA realizou todas as avaliações clínicas.

### ***Nível de Atividade Física***

O nível de atividade física foi medido pelo StepWatch<sup>®</sup> Activity Monitor (SAM, Modus Health, Washington, D.C., EUA), um monitor de atividade vestível.<sup>17,18</sup> Todos os procedimentos foram feitos de acordo com os procedimentos e recomendações descritos em outra parte.<sup>15</sup> Três domínios de atividade física medidos pelo SAM foram analisados: 1) frequência de atividade [média de passos / dia]; 2) duração da atividade [porcentagem de tempo em inatividade (0 passos/min), porcentagem do tempo de atividade realizada em baixa (1-15 passos/min), média (16-40 passos/min) e alta (> 40 passos/min) cadências]; e 3) intensidade da atividade [porcentagem de passos dados em cadências baixa, média e alta, índice do pico de atividade (passos médios/min dos 30 minutos mais rápidos em 24 horas, mas não necessariamente consecutivos), e passos médios máximos/min realizados durante intervalos de 60, 30 e 20 minutos].<sup>6</sup>

## ***Avaliação do dia 2***

### ***Composição do corpo***

O peso e a composição corporal foram medidos por um analisador de impedância bioelétrica (InBody<sup>®</sup> 720, InBody Co., Ltd., Seul, Coréia), de excelente concordância com a absorciometria de raios-X de dupla energia (DEXA).<sup>19</sup> O protocolo de medição foi realizado de acordo com as orientações do fabricante. Os participantes foram instruídos a jejuar durante a noite ( $\geq$  8h), urinar 30 minutos antes do teste e remover todos os metais, plásticos e roupas

pesadas, para minimizar a interferência nas medições da composição corporal. Para a análise foram consideradas as variáveis: peso, índice de massa corporal (IMC), massa de gordura corporal (BFM), índice de massa da gordura corporal (BFMI), área de gordura visceral (VFA), grau de obesidade (OD), massa muscular esquelética (SMM) e índice de massa muscular esquelética (SMMI). SMMI é usado para o diagnóstico de sarcopenia.<sup>20</sup> IMC, BFMI e SMMI foram calculados usando as seguintes fórmulas<sup>20-22</sup>:

$$\text{IMC} = \frac{\text{Peso}}{\text{Altura}^2} \qquad \text{BFMI} = \frac{\text{BFM}}{\text{Altura}^2} \qquad \text{SMMI} = \frac{\text{SMM}}{\text{Altura}^2}$$

O mesmo avaliador, com experiência em avaliação de composição corporal, realizou todos os exames.

### ***Avaliação do dia 3***

#### *Perfil lipídico e nível de adiponectina*

Uma amostra de sangue venoso foi coletada na fossa cubital, do braço não parético, e colocada em um tubo estéril de 5ml com gel de polímero. As amostras de sangue foram centrifugadas e o soro armazenado a -20°C. Os participantes foram orientados a: 1) jejuar durante a noite (10-12h); 2) não comparecer ao exame se houvesse algum processo inflamatório; 3) não realizar atividade física moderada e vigorosa ( $\geq 48$ h); 4) manter a alimentação habitual antes do exame; e 5) relatar qualquer sintoma ou evento recente durante a semana de coleta de sangue (por exemplo, vacinação recente, infecção respiratória superior em curso ou recente, sintomas musculoesqueléticos e dor de cabeça significativa); e na presença de qualquer um destes itens, a coleta de sangue foi remarcada. Todas as participantes do sexo feminino estavam no período da menopausa e sem terapia de reposição hormonal.

As concentrações de colesterol total (TC), lipoproteína de alta densidade (HDL), lipoproteína de baixa densidade (LDL), triglicerídeos (TG) foram medidas por um método hematológico automatizado (CELL-DYN Ruby, Abbott Laboratories, Chicago, Illinois, EUA). As relações lipídicas [índice de risco de Castelli-I (CRI-I) e índice de risco de Castelli-II (CRI-

II)] e índice aterogênico [coeficiente aterogênico (AC) e índice aterogênico de plasma (AIP)] foram calculados pelas seguintes fórmulas<sup>23</sup>:

$$\text{CRI-I} = \frac{\text{TC}}{\text{HDL}} \qquad \text{CRI-II} = \frac{\text{LDL}}{\text{HDL}}$$

$$\text{AC} = \frac{\text{TC} - \text{HDL}}{\text{HDL}} \qquad \text{AIP} = \text{Log} \left[ \frac{\text{TG}}{\text{HDL}} \right]$$

A ADPc sérica foi analisada usando um kit Ensaio de Imunoabsorção Enzimática (ELISA) altamente sensível (Invitrogen, Camarillo, CA, EUA). Todas as etapas foram concluídas de acordo com as instruções do kit ELISA. Cada reação foi conduzida em duplicata pelo mesmo pesquisador independente com experiência em análise de soro, e a média foi usada para análise.

### **Análise de dados**

As características da amostra foram expressas em números absolutos (porcentagem,%), médias (desvio padrão, DP) ou medianas (intervalo interquartil, IQR). De acordo com o teste de Shapiro-Wilk, os dados do nível de adiponectina ( $W [21] = 0,78$ ,  $p < 0,01$ ) não mostraram normalidade, portanto, testes não paramétricos foram usados para todas as análises.<sup>24</sup>

O coeficiente de correlação de classificação de Spearman ( $r_s$ ) foi usado para determinar uma possível correlação significativa entre ADPc e: 1) a composição corporal (peso, IMC, BFM, BFMI, VFA, OD, SMM e SMMI); 2) o perfil lipídico (TC, HDL, LDL, TG, CRI-I, CRI-II, AC e AIP); e 3) o nível de atividade física (extraídos do SAM).<sup>24</sup> Além disso, usamos um arquivo de sintaxe [(NONPAR CORR; /MISSING = LISTWISE; /MATRIX OUT(\*); RECODE rowtype\_ ('RHO'='CORR'); PARTIAL CORR; /significance = twotail; /MISSING = LISTWISE; /MATRIX IN(\*)] para realizar uma correlação parcial não paramétrica, no Statistical Package for the Social Sciences (SPSS)<sup>25</sup>, usando as variáveis com um coeficiente de correlação significativo para controlar variáveis de conflito, em cada grupo de variáveis: 1) composição corporal; 2) perfil lipídico; e 3) nível de atividade física.

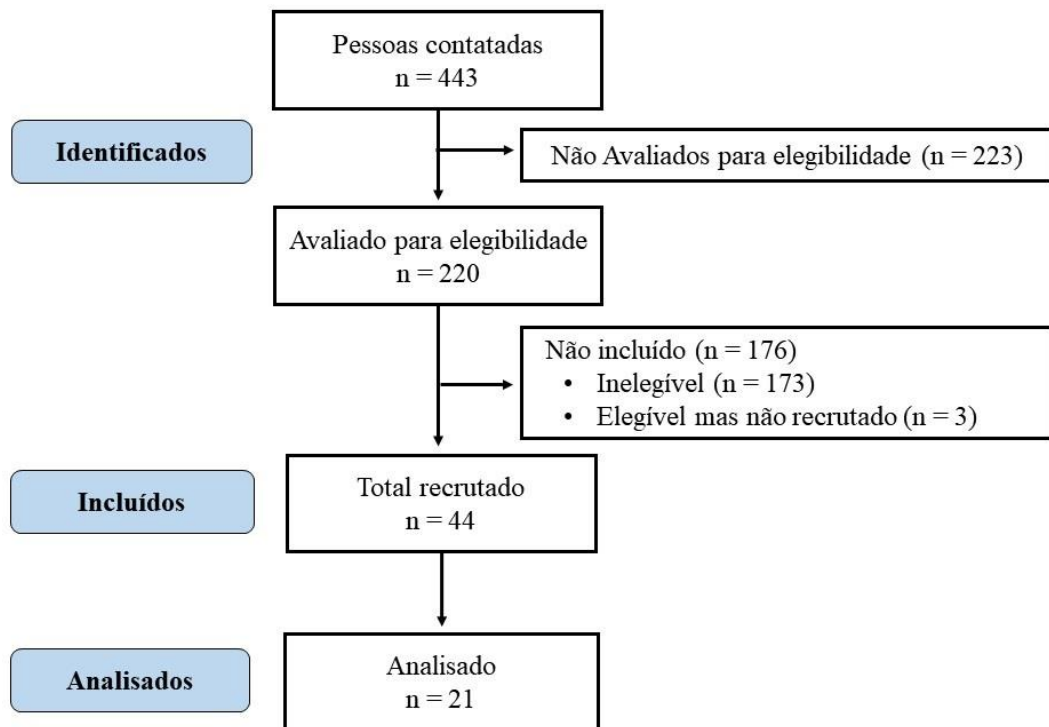
A magnitude da correlação foi baseada na classificação de Munro (baixa [0,26 a 0,49], moderada [0,50 a 0,69], alta [0,70 a 0,89] e muito alta [0,90 a 1,00]).<sup>26</sup> E, aplicada a reamostragem de bootstrap com viés corrigido acelerado (BCa), com 10.000 replicações para

estimar o intervalo de confiança de 95% (CI<sub>95</sub>). As estimativas de IC<sub>95</sub>, que não incluíram zero, foram consideradas estatisticamente significativas ao nível de 5%.<sup>24</sup> Todas as análises foram bicaudais e realizadas com nível de significância de 5%, realizadas no SPSS Statistics, versão 26.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, EUA).

## Resultados

Quatrocentos e quarenta e três indivíduos foram contatados para participarem do estudo. Dos 443 indivíduos, 21 participantes foram analisados (Figura 1). A maioria era idoso (57%;  $\geq 60$  anos de idade), com sobrepeso (47%; IMC 25,0-29,9 kg/m<sup>2</sup>)<sup>21</sup>, sedentários (86%;  $< 5000$  passos/dia)<sup>27</sup> e com deficiência motora grave (38%). Além disso, nenhum participante apresentava sarcopenia (100%; SMMI  $> 8,87$  kg/m<sup>2</sup> para homens e  $> 6,42$  kg/m<sup>2</sup> para mulheres)<sup>20</sup>, mas a maioria apresentava risco cardiovascular aumentado (76%; PIA  $> 0,24$ )<sup>28</sup> (Tabela 1).

**Figura 1.** Fluxo de seleção dos participantes.



**Tabela 1.** Características demográficas e clínica do participante (n = 21).

<b>Características</b>	
Idade (anos), média (SD)	61 (8)
Sexo n masculino (%)	15 (71)
<b>Características do AVC</b>	
Tempo desde o AVC (meses), mediana (IQR)	41 (36)
Tipo de AVC, n isquêmico (%)	18 (86)
Lado da lesão, n esquerdo (%)	12 (57)
Escore Fugl-Meyer Extremidade Inferior, mediana (IQR)	27 (14)
Escore Fugl-Meyer (Função motora), mediana (IQR)	71 (69)
Leve (96-99), n (%)	5 (24)
Moderado (85-95), n (%)	2 (9)
Acentuado (50-84), n (%)	6 (29)
Severo (< 50), n (%)	8 (38)
<b>Composição Corporal<sup>a</sup></b>	
Peso (kg), média (SD)	75 (14)
Índice de massa corporal (kg/m <sup>2</sup> ), média (SD)	28.3 (3.8)
Massa de gordura corporal (kg), média (SD)	28 (9)
Índice de massa de gordura corporal (kg/m <sup>2</sup> ), média (SD)	10.3 (3.1)
Área de gordura visceral (cm <sup>2</sup> ), média (SD)	115.6 (44.2)
Grau de obesidade (%)	129 (17)
Massa muscular esquelética (kg), média (SD)	27 (5)
Índice de massa muscular esquelética (kg/m <sup>2</sup> ), mediana (IQR)	9.7 (1.1)
<b>Perfil Lipídico</b>	
Colesterol total (mg/dL), média (SD)	178 (31)
Lipoproteína de alta densidade (mg/dL), média (SD)	43 (12)
Lipoproteína de baixa densidade (mg/dL), média (SD)	107 (28)
Triglicerídeos (mg/dL), média (SD)	136 (46)
Índice de risco de Castelli-I, mediana (IQR)	4.04 (0.68)
Índice de risco de Castelli-II, média (SD)	2.60 (0.82)
Coefficiente Aterogênico, mediana (IQR)	3.04 (0.68)
Índice Aterogênico do plasma, média (SD)	0.49 (0.25)
<b>Nível de Atividade Física</b>	
<b>Frequência da Atividade</b>	
Números de passos (passos/dia), média (SD)	3266 (1764)
<b>Duração da Atividade</b>	
Tempo de inatividade (%), média (SD)	77 (9)
Tempo de baixa cadência (%), média (SD)	79 (8)
Tempo de média cadência (%), média (SD)	20 (7)
Tempo de alta cadência (%), média (IQR)	0 (2)
<b>Intensidade da Atividade</b>	
Passos dados em:	
Baixa cadência (%), média (SD)	50 (15)
Média cadência (%), média (SD)	44 (12)
Alta cadência (%), média (IQR)	2 (8)
Índice do pico de atividade (passos/min), média (SD)	28 (10)
Passos dados em:	
Maior taxa de passos em 60 minutos (passos/min), média (SD)	11 (5)
Maior taxa de passos em 30 minutos (passos/min), média (SD)	15 (7)
Maior taxa de passos em 20 minutos (passos/min), média (SD)	18 (8)
Adiponectina (ng/mL), mediana (IQR)	0.84 (0.54)

*(Continua)*

*(Continuação da Tabela 1)*

**Nota:** Variáveis contínuas com distribuição normal são apresentadas como médias (desvios-padrão); variáveis não normais são relatadas como medianas (intervalos interquartílicos); variáveis categóricas são apresentadas como números absolutos (porcentagens). Inativo (0 passos / min); Baixa cadência (1-15 passos / min); Média cadência (16-40 passos / min); Alta cadência (> 40 passos / min).

**Abreviações:** %, porcentagem; cm<sup>2</sup>, centímetro quadrado; IQR, intervalo interquartil; kg, quilograma; kg / m<sup>2</sup>, quilograma por metro quadrado; mg/dL, miligrama por decilitro; ng / ml, nanograma por mililitro; DP, desvio padrão; passos/dia, passos por dia; passos / min, passos por minuto

<sup>a</sup>n = 19

**Relação entre Adiponectina e composição corporal**

A relação entre ADPc e composição corporal está na Tabela 2. A ADPc apresentou os seguintes achados: 1) correlação negativa moderada com o IMC; e 2) uma alta correlação negativa com o peso, SMM e SMMI (Figura 2).

**Tabela 2.** Relação entre a adiponectina, composição corporal, perfil lipídico e nível de atividade física (n = 21).

Variáveis	Adiponectina (ng/mL)	
	r <sub>s</sub> [BCa CI <sub>95</sub> ]	P
<b>Composição Corporal<sup>a</sup></b>		
Peso (kg)	-0.73 [-0.92, -0.39]	0.00*
Índice de Massa Corporal (kg/m <sup>2</sup> )	-0.50 [-0.81, -0.02]	0.03*
Massa de gordura corporal (kg)	-0.34 [-0.74, 0.19]	0.15
Índice de gordura corporal (kg/m <sup>2</sup> )	-0.27 [-0.66, 0.23]	0.26
Área de gordura visceral (cm <sup>2</sup> )	-0.35 [-0.69, 0.11]	0.15
Grau de obesidade (%)	-0.42 [-0.78, 0.14]	0.07
Massa muscular esquelética (kg)	-0.78 [-0.96, -0.44]	0.00*
Índice de massa muscular esquelética (kg/m <sup>2</sup> )	-0.75 [-0.94, -0.33]	0.00*
<b>Perfil Lipídico</b>		
Colesterol total (mg/dL)	0.31 [-0.17, 0.73]	0.17
Lipoproteína de alta densidade (mg/dL)	0.43 [0.01, 0.74]	0.05*
Lipoproteína de baixa densidade (mg/dL)	0.15 [-0.34, 0.59]	0.53
Triglicerídeos (mg/dL)	-0.14 [-0.64, 0.38]	0.54
Índice de risco de Castelli-I	-0.40 [-0.79, 0.13]	0.07
Índice de risco de Castelli-II	-0.27 [-0.70, 0.26]	0.23
Coefficiente aterogênico	-0.40 [-0.78, 0.08]	0.07
Índice aterogênico do plasma	-0.36 [-0.74, 0.11]	0.11
<b>Nível de Atividade Física</b>		
Frequência de Atividade		
Número de passos (passos/dia)	-0.08 [-0.52, 0.40]	0.72
Duração da atividade		
Tempo de inatividade (%)	0.01 [-0.53, 0.51]	0.96
Tempo em baixa cadência (%)	0.29 [-0.17, 0.67]	0.21
Tempo em média cadência (%)	-0.26 [-0.67, 0.26]	0.26
Tempo em alta cadência (%)	-0.22 [-0.67, 0.27]	0.33
Intensidade de atividade		
Passos dados em:		
Baixa cadência (%)	0.34 [-0.13, 0.72]	0.13
Média cadência (%)	-0.31 [-0.75, 0.20]	0.18

*(Continua)*

(Continuação da Tabela 2)

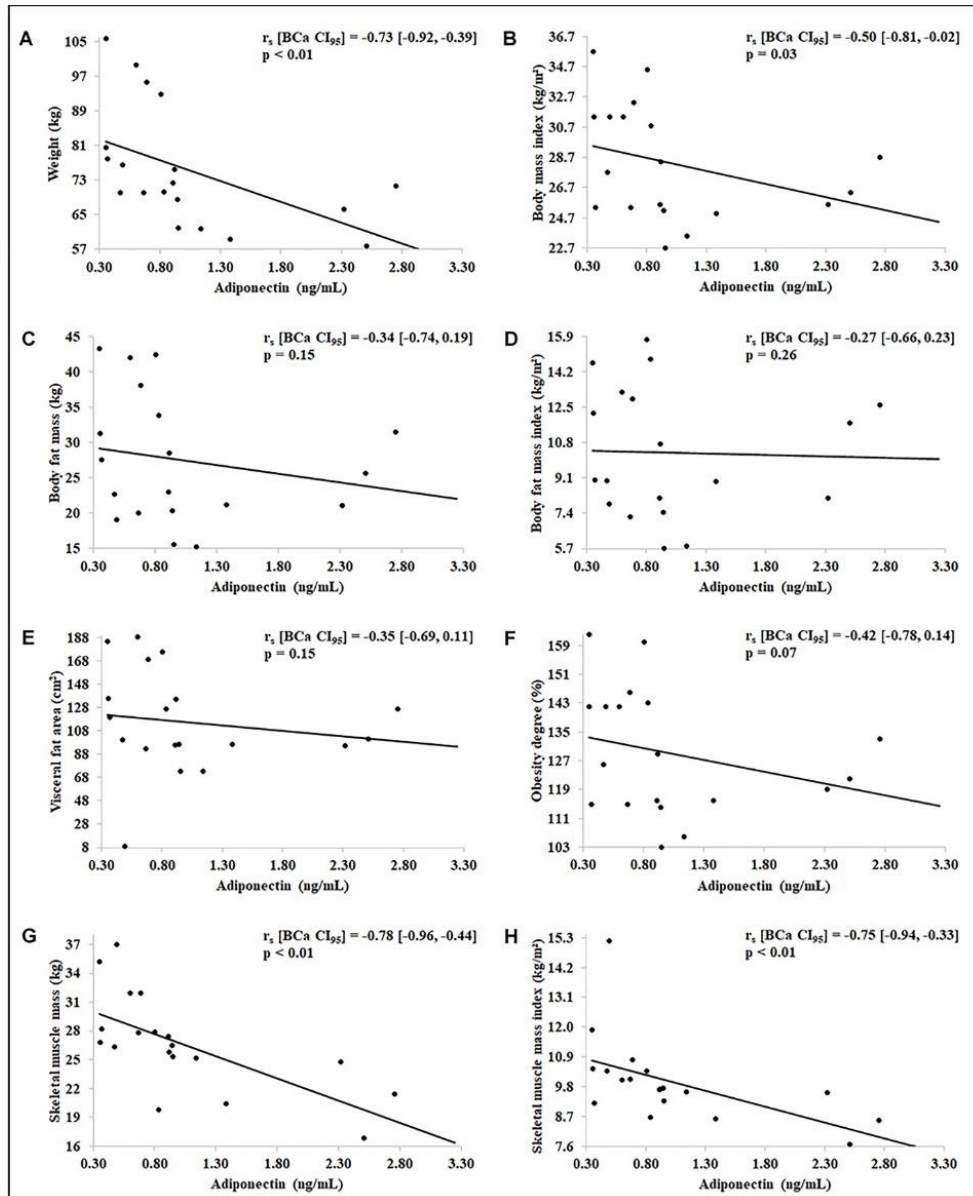
Alta cadência (%)	-0.23 [-0.67, 0.26]	0.32
Índice de pico de atividade (passos/min)	-0.30 [-0.67, 0.14]	0.19
Maior taxa de passos em 60 minutos (passos/min)	-0.18 [-0.58, 0.24]	0.42
Maior taxa de passos em 30 minutos (passos/min)	-0.18 [-0.57, 0.25]	0.44
Maior taxa de passos em 20 minutos (passos/min)	-0.19 [-0.59, 0.25]	0.41

**Nota:** 95% de viés corrigido e intervalos de confiança acelerados relatados entre colchetes. Intervalos de confiança baseados em 10.000 amostras de bootstrap. Inativo (0 passos / min), baixa cadência (1-15 passos / min), média cadência (16-40 passos / min) e alta cadência (> 40 passos / min).

**Abreviações:** %, porcentagem; BCa, viés corrigido acelerado; CI<sub>95</sub>, 95% intervalo de confiança; cm<sup>2</sup>, centímetro quadrado; FMA, Avaliação de Fugl-Meyer da recuperação motora após acidente vascular cerebral; kg, quilograma; kg/m<sup>2</sup>, quilograma por metro quadrado; mg/dL, miligrama por decilitro; ng/ml, nanograma por milímetro; passo/dia, passo por dia; passo/min, passos por minuto.

\*p ≤ 0.05  
<sup>a</sup>n = 19

**Figura 2.** Relação entre a adiponectina e composição corporal (n = 19). BCa, viés corrigido acelerado; IC<sub>95</sub>, intervalo de confiança de 95%; cm<sup>2</sup>, centímetro quadrado; kg, quilograma; kg/m<sup>2</sup>, quilograma por metro quadrado; ng/ml, nanograma por mililitro; r<sub>s</sub>, coeficiente de correlação de Spearman.



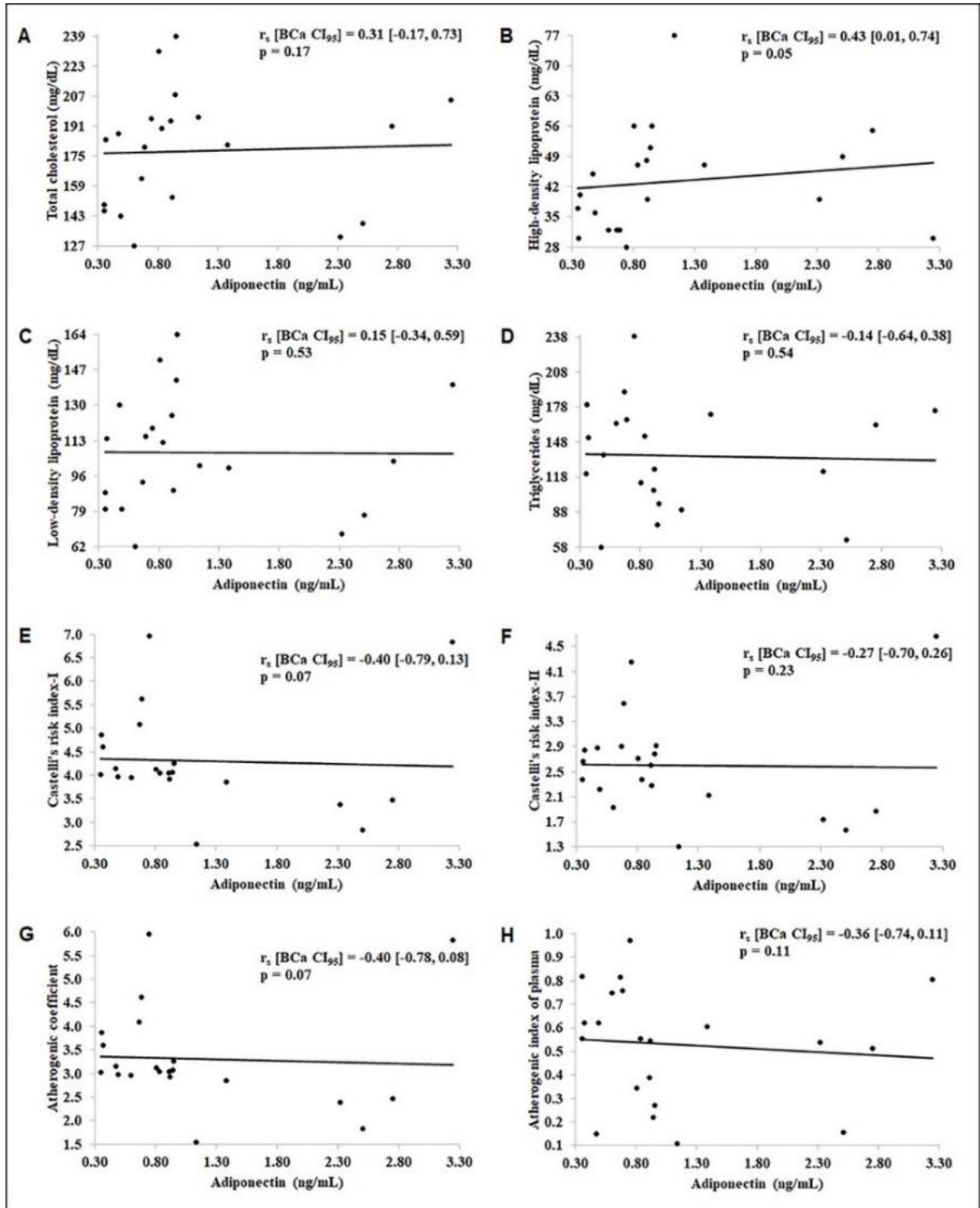
Quando controlado pela SMM, não houve correlação entre ADPc e peso ( $r [16] = -0,28$ ,  $p = 0,26$ ) ou IMC ( $r [16] = -0,22$ ,  $p = 0,39$ ). Quando controlado por peso, a ADPc apresentou os seguintes achados: 1) correlação negativa baixa com SMM ( $r [16] = -0,48$ ,  $p = 0,05$ ); e 2) uma correlação negativa moderada com SMMI ( $r [16] = -0,53$ ,  $p = 0,02$ ). Quando controlado pelo IMC, a ADPc apresentou os seguintes achados: 1) correlação negativa moderada com SMMI ( $r [16] = -0,65$ ,  $p < 0,01$ ); e 2) uma alta correlação negativa com SMM ( $r [16] = -0,70$ ,  $p < 0,01$ ).

### ***Relação entre a adiponectina e o perfil lipídico***

A relação entre a ADPc e o perfil lipídico é apresentada na Tabela 2. A ADPc apresentou apenas correlação com o HDL (Figura 3).



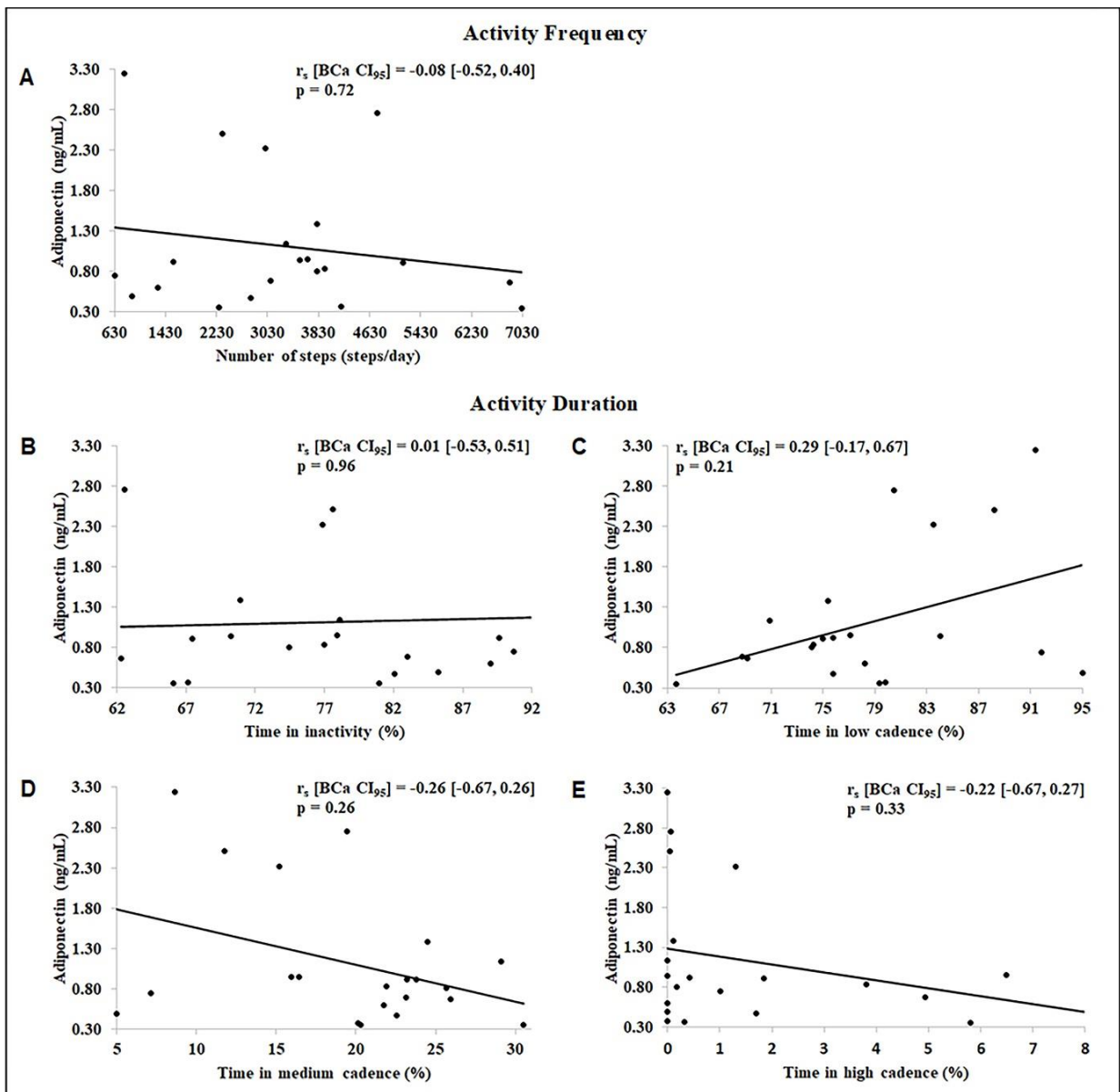
**Figure 3.** Relação entre a adiponectina e o perfil lipídico (n = 21). BCa, polarização corrigida acelerada; IC95, intervalo de confiança de 95%; mg / dL, miligrama por decilitro; ng / ml, nanograma por mililitro; rs, coeficiente de correlação de posto de Spearman.



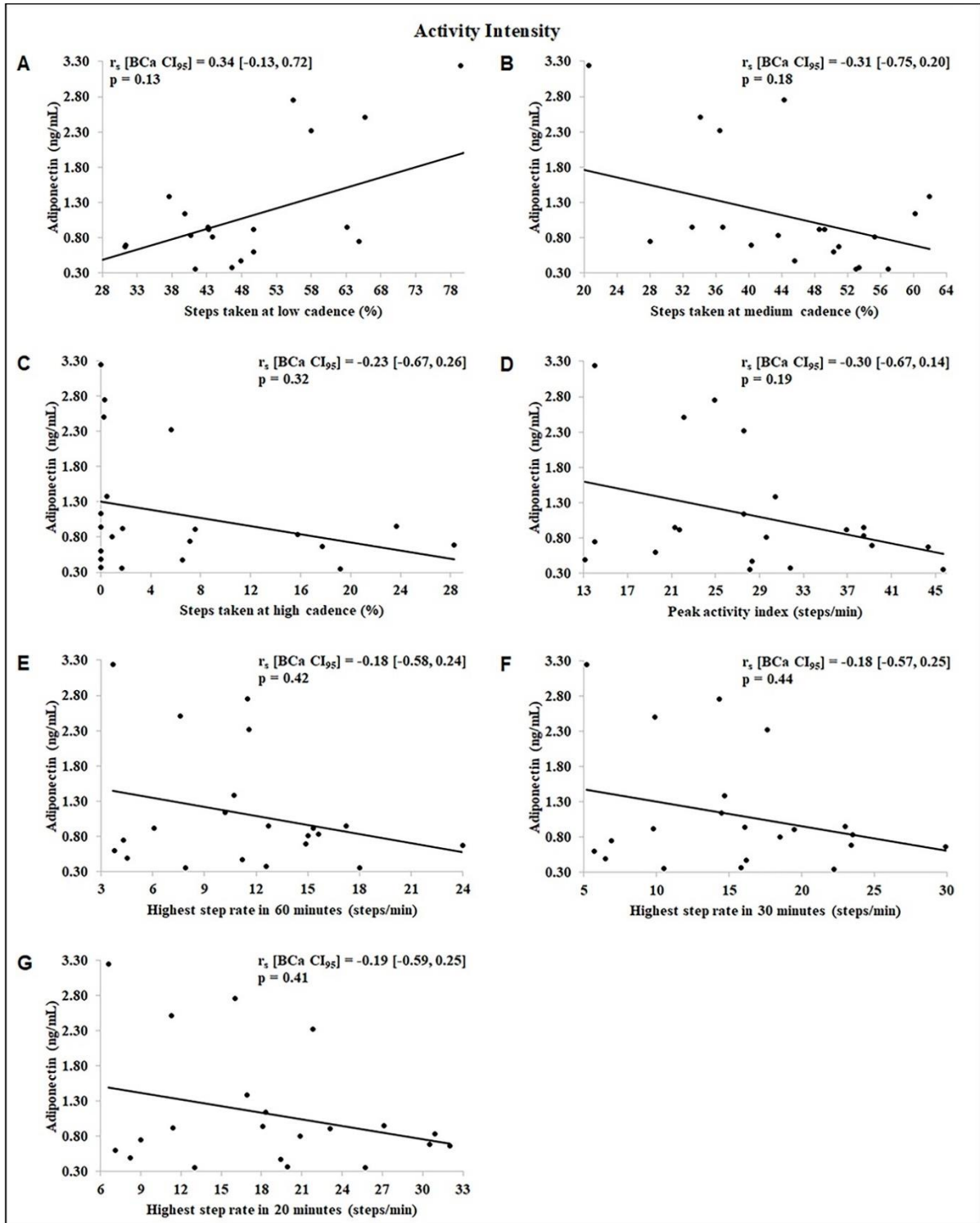
### Relação entre a adiponectina e o nível de atividade física

A relação entre a ADPc e o nível de atividade física é apresentada na Tabela 2. Nenhuma variável do nível de atividade física foi correlacionada com a ADPc (Figuras 4 e 5).

**Figure 4.** Relação entre a adiponectina e a frequência e duração do nível de atividade física (n = 21). Inativo (0 passos/min), baixa cadência (1-15 passos/min), média cadência (16-40 passos/min) e alta cadência (> 40 passos/min). %, porcentagem; BCa, polarização corrigida acelerada; IC<sub>95</sub>, intervalo de confiança de 95%; ng / ml, nanograma por mililitro; r<sub>s</sub>, coeficiente de correlação de posto de Spearman; passos/dia, passos por dia; passos/min, passos por minuto



**Figure 5.** Relação entre a adiponectina e a intensidade do nível de atividade física (n = 21). Baixa cadência (1-15 passos/min), média cadência (16-40 passos/min) e alta cadência (> 40 passos/min). %, porcentagem; BCa, polarização corrigida acelerada; IC<sub>95</sub>, intervalo de confiança de 95%; ng / ml, nanograma por mililitro; r<sub>s</sub>, coeficiente de correlação de posto de Spearman; passos/dia, passos por dia; passos/min, passos por minuto.



## Discussão

Este estudo investigou se a ADPc sérica se correlacionava com: 1) composição corporal; 2) perfil lipídico; e 3) nível de atividade física em indivíduos crônicos pós-AVC. Pela primeira vez, foi demonstrado que a ADPc sérica apresentou correlação com peso, IMC, SMM, SMMI e HDL nesta população, embora nenhuma correlação tenha sido observada com as variáveis do nível de atividade física.

Em relação à correlação negativa entre peso e IMC com ADPc, nossos resultados são consistentes com estudos anteriores.<sup>29-31</sup> Por exemplo, em indivíduos com sobrepeso e obesos, a massa de gordura corporal parece diminuir a ADPc.<sup>31</sup> Por outro lado, em nosso estudo, as relações entre ADPc, e peso corporal e IMC desapareceram após a correção da correlação parcial para SMM, o que sugere que a composição corporal, isto é, a massa muscular esquelética, desempenha um papel na regulação da ADPc, em indivíduos crônicos pós-AVC, e não nas medidas antropométricas.

Além disso, uma forte correlação negativa foi detectada entre ADPc e SMM e SMMI, um biomarcador de sarcopenia.<sup>20</sup> Indivíduos pós-AVC apresentam maior secreção de adiponectina na tentativa de compensar os efeitos subjacentes da lesão cerebral.<sup>10</sup> No entanto, pode ser possível que esse aumento da secreção de adiponectina atue na regulação positiva das vias catabólicas e proteólise no tecido muscular esquelético, resultando em perda muscular após o AVC.<sup>32</sup> ADPc mais alta foi associada a deficiências metabólicas e um estado hiper-catabólico em pacientes com insuficiência cardíaca,<sup>33,34</sup> e ao aumento da proteólise do músculo esquelético por meio da ativação da via de sinalização Adipo Rs-AMPK.<sup>35</sup>

É importante ressaltar que indivíduos crônicos pós-AVC apresentam inflamação sistêmica que pode impactar a função mitocondrial promovendo catabolismo.<sup>2</sup> Embora ADPc mais alta estimule a biogênese mitocondrial na massa muscular esquelética, foi relatado que o perfil de inflamação pode prejudicar a biogênese mitocondrial. Por exemplo, a inflamação sistêmica foi associada à proteólise do músculo esquelético em hemodiálise e pacientes idosos com insuficiência cardíaca.<sup>36,37</sup> Besides, Ribeiro *et al.* mostraram que o maior nível de proteína C reativa está associado à maior demanda energética em indivíduos crônicos pós-AVC.<sup>15</sup> Em conjunto, esses resultados sugerem que nossa população apresenta quadro inflamatório que parece interferir na função da adiponectina relacionada à regulação da massa muscular esquelética.

Assim como a adiponectina circulante, seus receptores são determinantes para retransmitir o sinal da adiponectina para a função do músculo esquelético. Por exemplo,

indivíduos com insuficiência cardíaca congestiva apresentam expressão aumentada da adiponectina no músculo esquelético, mas regulação negativa dos receptores de adiponectina, levando à resistência funcional à adiponectina.<sup>38</sup> Esse raciocínio também poderia explicar como esta ADPc pode ter um efeito negativo na perda de músculo esquelético relacionada ao AVC; no entanto, estudos futuros são necessários para confirmar essa hipótese.

Já foi relatado que a ADPc sérica tem correlação positiva com HDL e negativa com LDL e triglicérides,<sup>11,12</sup> tendo papel fundamental na dislipidemia. No entanto, este estudo mostrou que em indivíduos pós-AVC crônico, ADPc mais elevada está associada a maior concentração de HDL, mas não foram observadas correlações com outras variáveis do perfil lipídico. Essa correlação estaria relacionada com o efeito do nível de HDL na modulação de um novo evento de AVC ou como um controle de fatores de risco,<sup>11</sup> sugerindo uma possível resposta protetora contrarreguladora.<sup>10</sup>

Por outro lado, no presente estudo, não foi observada associação entre a ADPc sérica e as variáveis de atividade física. Como nossos participantes eram fisicamente inativos e a maioria deles muito sedentários (3.266 passos/dia e 18h por dia passados em inatividade),<sup>27</sup> parece que o volume e a intensidade da atividade física não foram suficientes para alterar a ADPc. Elhakeem *et al.*<sup>13</sup> observaram que o maior tempo despendido em atividade física de intensidade leve (1,5–3 METs) e menos tempo sedentário estiveram relacionados a maior ADPc em idosos, o que sugere um efeito protetor cardiovascular induzido pela atividade física diária. Porém, em indivíduos pós-AVC crônico, a presença de processo inflamatório sistêmico poderia minimizar esses efeitos protetores. Em estudos futuros deve se considerar a comparação entre grupos ativos e sedentários crônicos pós-AVC, considerando também variáveis de aptidão cardiorrespiratória, como  $\dot{V}O_2$ máx e gasto energético na atividade física, para confirmar essa hipótese.

### ***Implicações clínicas do estudo***

Embora este estudo seja um estudo exploratório, nossos resultados destacaram a relação entre a ADPc e a perda de massa muscular esquelética relacionada ao AVC. Este estudo traz outro fator molecular que interfere na perda de massa muscular nessa população, e que segundo estudos anteriores, essa proteína pode ser modificada pela inclusão de exercícios de moderada a alta intensidade, o que também promoveria outros efeitos protetores no sistema cardiovascular, através da ativação das vias da adiponectina.

### ***Limitação do estudo***

Apesar de se tratar de um estudo exploratório, nossos resultados devem ser interpretados com cautela devido a alguns fatores limitantes, como a inclusão de uma amostra de conveniência e a não análise de covariação dos medicamentos tomados pelos participantes. Indivíduos com doenças cardiovasculares são frequentemente medicados com drogas que podem influenciar a ADPc.

### **Conclusão**

Em conclusão, o nível de adiponectina sérica está relacionada à composição corporal e ao perfil lipídico, mas não ao nível de atividade física. Um maior nível de adiponectina tem sido relacionado à menor massa muscular esquelética e maior nível de lipoproteína de alta densidade em indivíduos crônicos pós-AVC.

## Referências

1. Feigin VL, Krishnamurthi RV, Parmar P, et al. Update on the global burden of ischemic and hemorrhagic stroke in 1990-2013: the GBD 2013 study. *Neuroepidemiology*. 2015;45(3):161-176. doi: 10.1159/000441085.
2. Scherbakov N, Sandek A, Doehner W. Stroke-related sarcopenia: specific characteristics. *J Am Med Dir Assoc*. 2015;16(4):272-276. doi: 10.1016/j.jamda.2014.12.007.
3. Billinger SA, Coughenour E, Mackay-Lyons MJ, Ivey FM. Reduced cardiorespiratory fitness after stroke: biological consequences and exercise-induced adaptations. *Stroke Res Treat*. 2012;2012:959120. doi: 10.1155/2012/959120.
4. Silva-Couto MA, Prado-Medeiros CL, Oliveira AB, et al. Muscle atrophy, voluntary activation disturbances, and low serum concentrations of IGF-1 and IGFBP-3 are associated with weakness in people with chronic stroke. *Phys Ther*. 2014;94(7):957-967. doi: 10.2522/ptj.20130322.
5. Faturi FM, Santos GL, Ocamoto GN, Russo TL. Structural muscular adaptations in upper limb after stroke: a systematic review. *Top Stroke Rehabil*. 2019;26(1):73-79. doi: 10.1080/10749357.2018.1517511.
6. Fini NA, Holland AE, Keating J, Simek J, Bernhardt J. How physically active are people following stroke? Systematic review and quantitative synthesis. *Phys Ther*. 2017;97(7):707-717. doi: 10.1093/ptj/pzx038.
7. Krause MP, Milne KJ, Hawke TJ. Adiponectin – consideration for its role in skeletal muscle health. *Int J Mol Sci*. 2019;20(7):2019. doi: 10.3390/ijms20071528.
8. Harada H, Kai H, Shibata R, et al. New diagnostic index for sarcopenia in patients with cardiovascular diseases. *PLoS One*. 2017;12(5):e0178123. doi: 10.1371/journal.pone.0178123.
9. Loncar G, Bozic B, von Haehling S, et al. Association of adiponectin with peripheral muscle status in elderly patients with heart failure. *Eur J Intern Med*. 2013;24(8):818-823. doi: 10.1016/j.ejim.2013.09.011.
10. Ryan AS, Macko RF, Peters MN, et al. Plasma adiponectin levels are associated with insulin sensitivity in stroke survivors. *J Stroke Cerebrovasc Dis*. 2009;18(3):214-220. doi: 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2008.10.001.

11. Lara-Castro C, Fu Y, Chung BH, Garvey WT. Adiponectin and the metabolic syndrome: mechanisms mediating risk for metabolic and cardiovascular disease. *Curr Opin Lipidol*. 2007;18(3):263-270. doi: 10.1097/MOL.0b013e32814a645f.
12. Schreiber R, Souza CM, Paim LR, et al. Impact of regular physical activity on adipocytokines and cardiovascular characteristics in spinal cord-injured subjects. *Arch Phys Med Rehabil*. 2018;99(8):1561-1567. doi: 10.1016/j.apmr.2018.02.010.
13. Elhakeem A, Cooper R, Whincup P, Brage S, Kuh D, Hardy R. Physical activity, sedentary time, and cardiovascular disease biomarkers at age 60 to 64 years. *J Am Heart Assoc*. 2018;7(16):e007459. doi: 10.1161/JAHA.117.007459.
14. Vandembroucke JP, von Elm E, Altman DG, et al. Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE): explanation and elaboration. *Int J Surg*. 2014;12(12):1500-1524. doi: 10.1016/j.ijvsu.2014.07.014.
15. Ribeiro JAM, Oliveira AGS, Thommazo-Luporini LD, et al. Underlying mechanisms of oxygen uptake kinetics in chronic post-stroke individuals: a correlational, cross-sectional pilot study. *PLoS One*. 2020;15(11):e0241872. doi: 10.1371/journal.pone.0241872.
16. Fugl-Meyer AR, Jääskö L, Leyman I, Olsson S, Steglind S. The post-stroke hemiplegic patient. 1. a method for evaluation of physical performance. *Scand J Rehab Med*. 1975;7(1):13-31.
17. Macko RF, Haeuber E, Shaughnessy M, Coleman KL, Boone DA, Smith GV, Silver KH. Microprocessor-based ambulatory activity monitoring in stroke patients. *Med Sci Sports Exerc*. 2002;34(3):394-399. doi: 10.1097/00005768-200203000-00002.
18. Haeuber E, Shaughnessy M, Forrester LW, Coleman KL, Macko RF. Accelerometer monitoring of home- and community-based ambulatory activity after stroke. *Arch Phys Med Rehabil*. 2004;85(12):1997-2001. doi: 10.1016/j.apmr.2003.11.035.
19. Ling CHY, Craen AJM, Slagboom PE, et al. Accuracy of direct segmental multi-frequency bioimpedance analysis in the assessment of total body and segmental body composition in middle-aged adult population. *Clin Nutr*. 2011;30(5):610-615. doi: 10.1016/j.clnu.2011.04.001.
20. Chen L-K, Liu L-K, Woo J, et al. Sarcopenia in Asia: consensus report of the Asian working group for sarcopenia. *J Am Med Dir Assoc*. 2014;15(2):95-101. doi: 10.1016/j.jamda.2013.11.025.
21. Nuttall FQ. Body mass index: obesity, BMI, and health: a critical review. *Nutr Today*. 2015;50(3):117-128. doi: 10.1097/NT.0000000000000092.



22. Liu P, Ma F, Lou H, Liu Y. The utility of fat mass index vs. body mass index and percentage of body fat in the screening of metabolic syndrome. *BMC Public Health*. 2013;13:629. doi: 10.1186/1471-2458-13-629.
23. Olamoyegun MA, Oluyombo R, Asaolu SO. Evaluation of dyslipidemia, lipid ratios, and atherogenic index as cardiovascular risk factors among semi-urban dwellers in Nigeria. *Ann Afr Med*. 2016;15(4):194-199. doi: 10.4103/1596-3519.194280.
24. Field A. *Discovering statistics using IBM SPSS statistics*. 5th ed. California: SAGE Publications Ltd; 2017.
25. International Business Machines Corporation (IBM). Partial rank correlations in SPSS. Available from: <https://www.ibm.com/support/pages/partial-rank-correlations-spss>. [Accessed Nov 19th, 2020].
26. Munro BH. Correlation. In: Munro BH. *Statistical methods for health care research*. 4th ed. Philadelphia: Lippincott; 2001. pp. 223-243.
27. Tudor-Locke C, Craig CL, Thyfault JP, Spence JC. A step-defined sedentary lifestyle index: <5000 steps/day. *Appl Physiol Nutr Metab*. 2013;38(2):100–114. doi: 10.1139/apnm-2012-0235.
28. Dobiášová M. AIP – atherogenic index of plasma as a significant predictor of cardiovascular risk: from research to practice. *Vnitr Lek*. 2006;52(1):64-71.
29. Arita Y, Kihara S, Ouchi N, et al. Paradoxical decrease of an adipose-specific protein, adiponectin, in obesity. *Biochem Biophys Res Commun*. 1999;257(1):79-83. doi: 10.1006/bbrc.1999.0255.
30. Gariballa S, Alkaabi J, Yasin J, Essa AA. Total adiponectin in overweight and obese subjects and its response to visceral fat loss. *BMC Endocr Disord*. 2019;19(1):55. doi: 10.1186/s12902-019-0386-z.
31. Varady KA, Bhutani S, Klempel MC, et al. Alternate day fasting for weight loss in normal weight and overweight subjects: a randomized controlled trial. *Nutr J*. 2013;12(1):146. doi: 10.1186/1475-2891-12-146.
32. Springer J, Schust S, Peske K, et al. Catabolic signaling and muscle wasting after acute ischemic stroke in mice: indication for a stroke-specific sarcopenia. *Stroke*. 2014;45(12):3675-3683. doi: 10.1161/STROKEAHA.114.006258.
33. Szabó T, Scherbakov N, Sandek A, et al. Plasma adiponectin in heart failure with and without cachexia: catabolic signal linking catabolism, symptomatic status, and prognosis. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2014;24(1):50-56. doi: 10.1016/j.numecd.2013.04.015.

34. Springer J, Anker SD, Doehner W. Adiponectin resistance in heart failure and the emerging pattern of metabolic failure in chronic heart failure. *Circ Heart Fail.* 2010;3(2):181-182. doi: 10.1161/CIRCHEARTFAILURE.110.945063.
35. Ito R, Higa M, Goto A, et al. Activation of adiponectin receptors has negative impact on muscle mass in C2C12 myotubes and fast-type mouse skeletal muscle. *PLoS One.* 2018;13(10): e0205645. doi: 10.1371/journal.pone.0205645.
36. Deger SM, Hung AM, Gamboa JL, et al. Systemic inflammation is associated with exaggerated skeletal muscle protein catabolism in maintenance hemodialysis patients. *JCI Insight.* 2017;2(22): e95185. doi: 10.1172/jci.insight.95185.
37. Koshikawa M, Harada M, Noyama S, et al. Association between inflammation and skeletal muscle proteolysis, skeletal mass and strength in elderly heart failure patients and their prognostic implications. *BMC Cardiovasc Disord.* 2020;20(1):228. doi: 10.1186/s12872-020-01514-0.
38. Van Berendoncks AM, Garnier A, Beckers P, et al. Functional adiponectin resistance at the level of the skeletal muscle in mild to moderate chronic heart failure. *Circ Heart Fail.* 2010;3(2):185-194. doi: 10.1161/CIRCHEARTFAILURE.109.885525.

## ANEXO 4

### MANUSCRITO 2 – Versão em português

#### **Biomarcadores moleculares no pós-AVC hemorrágico agudo como preditores da recuperação motora tardia: Revisão Sistemática.**

##### **Resumo**

**Introdução:** Nas últimas décadas, biomarcadores moleculares de diagnóstico e prognóstico do AVC ganharam a atenção de clínicos em todo o mundo devido à sua ampla aplicação e insights sobre mecanismos fisiológicos neuronais e sistêmicos, após lesões cerebrais. As mais recentes revisões sistemáticas de biomarcadores moleculares para AVC agudo destacaram que diferentes biomarcadores sanguíneos estão associados a um prognóstico ruim em indivíduos isquêmicos. No entanto, esses resultados não podem ser generalizados ao AVC hemorrágico pós agudo, uma vez que os mecanismos subjacentes deste dano cerebral diferem daqueles encontrados em acidente vascular cerebral isquêmico. **Objetivo:** O principal objetivo desta revisão foi sintetizar os potenciais biomarcadores moleculares preditivos para recuperação motora tardia após-AVC hemorrágico agudo. **Métodos:** A revisão sistemática seguiu as diretrizes do PRISMA. A pesquisa utilizou as fontes de dados PubMed (Medline), EMBASE, Web of Science e CINAHL sem restrições limitadas de data ou publicação. Foram incluídos estudos que abordaram o seguinte: amostras de sangue, saliva, urina ou líquido cefalorraquidiano dentro de 72 horas, após o AVC hemorrágico, e que se correlacionaram com as escalas de funcionalidade. **Resultados:** Foram identificados 1.062 artigos e 181 considerados elegíveis. Por fim, foram incluídos 61 estudos, com 79 biomarcadores analisados, dos quais 52 foram considerados preditores, 18 como nenhum preditor e 9 apresentaram resultados controversos. **Conclusão:** Esta revisão sistemática mostrou que a maioria dos biomarcadores estudados até agora parecem prever a recuperação funcional após o AVC hemorrágico, porém não podem ser fornecidas recomendações claras para identificar o biomarcador mais promissor e consistente devido à heterogeneidade das moléculas estudadas.

**Palavras-chave:** Biomarcadores; Prognóstico; Funcionalidade; Hemorragia intracerebral.

## Introdução

Nas últimas décadas, biomarcadores moleculares no diagnóstico e prognóstico de AVC ganharam a atenção de clínicos em todo o mundo, isso devido à sua ampla aplicação para facilitar o diagnóstico, caracterizar tamanho e gravidades clínicas, estimar prognóstico a longo prazo e selecionar uma opção de tratamento adequada. No entanto, o esclarecimento dos mecanismos fisiológicos neuronais e sistêmicos após a lesão cerebral<sup>1</sup> é limitado para biomarcadores mais comumente usados, como técnicas de imagem cerebral (ressonância magnética e tomografia computadorizada). Esses biomarcadores podem ajudar os médicos a identificarem os indivíduos mais vulneráveis ao pior prognóstico funcional por até um ano após a lesão<sup>2,3</sup> e garantir que eles recebam a quantidade de reabilitação necessária para maximizar o resultado após o AVC, em uma unidade de terapia intensiva.<sup>3</sup>

As revisões sistemáticas mais recentes de biomarcadores moleculares para AVC agudo<sup>4,5</sup> destacaram que diferentes biomarcadores sanguíneos estão associados a um prognóstico ruim, em indivíduos com AVC isquêmico. No entanto, esses resultados não podem ser generalizados ao AVC hemorrágico pós-agudo, uma vez que os mecanismos subjacentes deste dano cerebral diferem daqueles encontrados no AVC isquêmico<sup>1</sup>, bem como da expressão do biomarcador. Por exemplo, Shoaeb *et al.*<sup>6</sup> encontraram um nível mais alto de proteína C-reativa (PCR) em AVC isquêmico do que AVC hemorrágico, e previu baixa funcionalidade em AVC isquêmico, mas não em AVC hemorrágico. Além disso, novos biomarcadores moleculares emergem para prever o resultado funcional à longo prazo no AVC, como biomarcadores de urina<sup>3</sup>, podendo ser uma ferramenta útil além dos biomarcadores sanguíneos, mas não estão incluídos nas recentes revisões sistemáticas.<sup>4,5,7</sup>

Assim, o principal objetivo desta revisão foi sintetizar potenciais biomarcadores moleculares preditivos para recuperação motora tardia após o AVC hemorrágico. Além disso, o objetivo secundário foi sintetizar os valores de corte disponíveis dos biomarcadores preditivos, de acordo com a análise da curva Característica de Operação do Receptor (ROC).

## Métodos

Esta revisão seguiu as recomendações do PRISMA<sup>8</sup> e da Colaboração Cochrane, e encontra-se registrada na base de registros de protocolos de revisões sistemáticas (PROSPERO, Identificador: CRD42020149508).

A revisão da literatura utilizou quatro bases de dados: Pubmed (Medline); EMBASE; Web of Science; e CINAHL. Os artigos foram selecionados e analisados considerando a questão inicial estabelecida pelos critérios do PICO. Os termos *MeSH* foram analisados para identificar os termos mais adequados, incluídos na estratégia de busca (Tabela 1). Foram aceitas publicações em português, inglês e espanhol. O período de publicação não foi limitado.

**Table 1.** Estratégia de busca da meta-análise. A pesquisa foi organizada com termos MeSH [MeSH] na busca por títulos, resumos e palavras-chave [tiab].

---

(“stroke” OR “cerebrovascular disorder” OR “cerebrovascular disorders” OR “cerebral vascular disorder” OR “cerebral vascular disorders” OR “cerebrovascular accident” OR “cerebrovascular accidents” OR “cerebral vascular accident” OR “cerebral vascular accidents”)

AND (biomarker OR biomarkers OR “molecular biology” OR cytokine OR cytokines OR chemokine OR chemokines OR myokine OR myokines OR adipokine OR adipokines OR neuroimmunokine OR neuroimmunokines OR “neurotropic factor” OR “neurotropic factors” OR “neurotrophic factor” OR “neurotrophic factors” OR neuropeptide OR neuropeptides OR “growth factor” OR “growth factors” OR “growth factor-like molecule” OR “growth factor-like molecules” OR lipids OR steroids OR vitamin OR vitamins OR plasma OR serum OR “blood biomarker” OR “blood biomarkers” OR “serum biomarker” OR “serum biomarkers” OR “plasma biomarker” OR “plasma biomarkers” OR “immune biomarker” OR “immune biomarkers” OR “immunologic biomarker” OR “immunologic biomarkers” OR “urinary biomarker” OR “urinary biomarkers” OR “urine biomarker” OR “urine biomarkers” OR “saliva biomarker” OR “saliva biomarkers” OR “blood marker” OR “blood markers” OR “serum marker” OR “serum markers” OR “plasma marker” OR “plasma markers” OR “immune marker” OR “immune markers” OR “immunologic marker” OR “immunologic markers” OR “biological marker” OR “biological markers” OR “biologic marker” OR “biologic markers” OR “urinary marker” OR “urinary markers” OR “urine marker” OR “urine markers” OR “saliva marker” OR “saliva markers” OR “blood indicator” OR “blood indicators” OR “serum indicator” OR “serum indicators” OR “plasma indicator” OR “plasma indicators” OR “immune indicator” OR “immune indicators” OR “immunologic indicator” OR “immunologic indicators” OR “biological indicator” OR “biological indicators” OR “biologic indicator” OR “biologic indicators” OR “urinary indicator” OR “urinary indicators” OR “urine indicator” OR “urine indicators” OR “saliva indicator” OR “saliva indicators” OR “blood factor” OR “blood factors” OR “serum factor” OR “serum factors” OR “plasma factor” OR “plasma factors” OR “immune factor” OR “immune factors” OR “immunologic factor” OR “immunologic factors” OR “biological factor” OR “biological factors” OR “biologic factor” OR “biologic factors” OR “urinary factor” OR “urinary factors” OR “urine factor” OR “urine factors” OR “saliva factor” OR “saliva factors” OR “saliva” OR “urine”)

AND (“motor activity” OR “motor activities” OR “international classification of functioning, disability and health” OR ICF OR “international classification of impairments, disabilities and handicaps” OR ICIDH OR “motor skill” OR “motor skills” OR rehabilitation OR “stroke rehabilitation” OR “stroke rehabilitations” OR “recovery of function” OR “function recovery” OR “function recoveries” OR “physical recovery” OR “physical recoveries” OR “functional recovery” OR “functional recoveries” OR “stroke recovery” OR “motor recovery” OR “motor recoveries” OR severity OR disability OR mobility OR “functional independence” OR “physical independence” OR “motor function” OR “motor functions” OR “health outcome” OR “health outcomes” OR “physical outcome” OR “physical outcomes” OR “functional outcome” OR “functional outcomes” OR “motor performance” OR “motor performances” OR “physical function” OR “physical functions”)

AND (adult)

NOT (animals)

NOT (review)

---

### *Critérios de elegibilidade*

Os critérios de inclusão considerados nesta revisão foram: 1- estudo observacional, prospectivo e retrospectivo; 2- estudos que incluíram participantes maiores de 18 anos que sofreram AVC hemorrágico agudo confirmado por exames de imagem; 3- estudos com análise de biomarcadores moleculares presentes no sangue, urina, saliva ou líquido cefalorraquidiano coletados nas primeiras 72 horas após o AVC; 4- estudos que avaliaram pelo menos uma escala de recuperação funcional. Foram excluídos artigos de revisão, estudos de intervenção ou estudos com AVC isquêmicos e hemorrágicos que não apresentaram as análises de dados separadamente. Estudos que não realizaram uma análise de previsão de biomarcadores sobre recuperação funcional também foram excluídos.

### *Processo Seletivo*

O programa *State-of-the-Art through Systematic Review* (StArt) foi utilizado para sistematizar e organizar a pesquisa e extração de dados (Disponível a partir de: [http://lapes.dc.ufscar.br/tools/start\\_tool](http://lapes.dc.ufscar.br/tools/start_tool)). A busca ocorreu em abril de 2020, por dois revisores que realizaram o processo seletivo de forma independente considerando os critérios de inclusão. Artigos potencialmente elegíveis foram inicialmente selecionados com base em seus títulos e resumos. Os artigos foram divididos e lidos na íntegra por três pares independentes, seguindo os critérios de inclusão. Divergências entre revisores foram resolvidas por consenso, e um terceiro revisor estava disponível para arbitragem. Os autores foram contatados quando os artigos ou informações necessárias para análise não estavam disponíveis.

## **Análise de Dados**

### *Extração de dados*

A extração de dados foi padronizada considerando os participantes e avaliações de interesse. Os dados considerados e extraídos de cada estudo foram: autor; ano de estudo; tamanho da amostra; características dos participantes (sexo, idade e localização do AVC). Achados de gravidade clínica e neuroimagem, parâmetros laboratoriais e prevalência de fatores

de risco. Tempo de coleta de biomarcadores, escalas clínicas e funcionais, tempo de avaliação de resultado funcional e classificação de resultado *ruim* e *bom*, de acordo com escala funcional.

Os biomarcadores moleculares foram alocados em diferentes categorias de acordo com sua participação no processo fisiopatofológico do AVC: Inflamação; estresse oxidativo; dano neuronal; ativação glial; metabolismo; e circulação, coagulação ou função vascular.<sup>9,10</sup> A relação entre biomarcadores e recuperação motora foi estabelecida de acordo com a análise estatística de cada um dos estudos incluídos nesta revisão. Assim, os biomarcadores foram considerados como *preditores independentes*, *preditores* ou *não preditores*. Além disso, foi descrita a expressão do biomarcador para o grupo de participantes, pós-AVC, com *recuperação funcional ruim* ou *boa* considerando a classificação feita por cada um dos estudos.

Para cada estudo incluído, tabulamos os valores de corte dos biomarcadores ideais conforme a análise da curva ROC, e assim detectar a recuperação funcional após o AVC hemorrágico e sua respectiva área sob os valores, sensibilidade e especificidade da curva (AUC). A precisão diagnóstica foi definida utilizando-se valores AUC: *excelente* (0.9-1.0), *muito bom* (0.8-0.9), *bom* (0.7-0.8), *suficiente* (0.6-0.7) e *má precisão* (0.5-0.6).<sup>11,12</sup> Também foram tabulados o verdadeiro positivo (TP), verdadeiro negativo (TN), falso positivo (FP) e falso negativo (FN), calculado a taxa de má classificação para cada ponto de corte e classificados como: *muito baixo* (0-10%), *baixo* (10-30%), *moderado* (30-50%), *alto* (50-70%) e taxa de má classificação *muito alta* (> 70%). A equação está descrita abaixo.<sup>11</sup>

$$\text{Taxa de má classificação} = \frac{\text{FP} + \text{FN}}{\text{TP} + \text{TN} + \text{FP} + \text{FN}} \times 100$$

#### *Avaliação do Risco de viés*

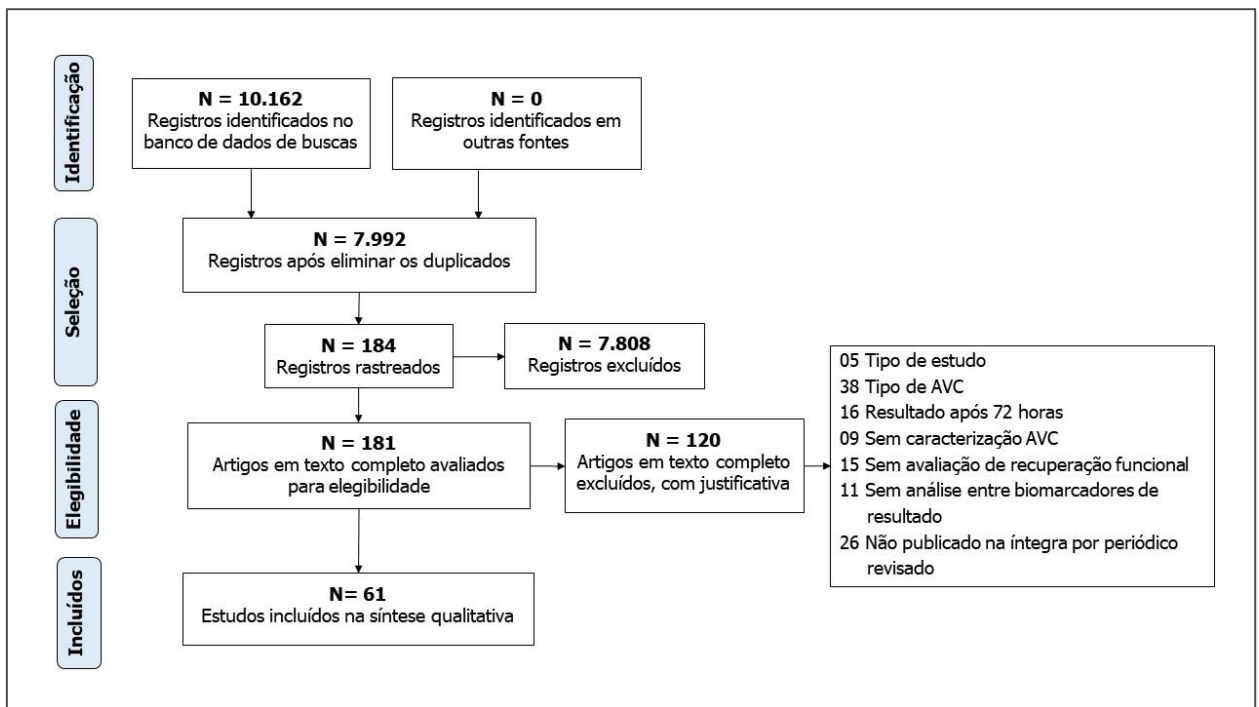
O risco de viés, de cada estudo, foi avaliado pela Avaliação da Qualidade dos Estudos de Precisão Diagnóstica (QUADAS-2).<sup>13</sup> Os sete itens do QUADAS-2 foram designados para avaliar o risco de viés e/ou a aplicabilidade à população geral de quatro pontos metodológicos: *seleção do paciente*, *teste de índice*, *padrão de referência utilizado* e *fluxo de pacientes*, através do estudo ou tempo do teste de índice.<sup>14</sup> Esta ferramenta considera não apenas a validade desses itens (ou seja, validade de conteúdo), mas também se os itens informam um construto

subjacente (ou seja, validade de construção). Cada estudo foi avaliado por dois pesquisadores independentes e um terceiro foi considerado se houvesse discrepâncias.

## Resultados

Foram identificados 1.062 artigos, por meio da busca eletrônica. Após a exclusão de estudos duplicados e triagem dos títulos e resumos, foram considerados 181 artigos para elegibilidade e leitura na íntegra. Por fim, foram incluídos 61 artigos (Figura 2). Os estudos que apresentaram os dados em percentual, mediana, interquartil ou mínimo/máximo foram transformados em média e desvio padrão, conforme sugerido na Colaboração Cochrane.<sup>15</sup>

Figura 2. Fluxograma. Prisma, 2009.



### Características do estudo

As características dos estudos incluídos estão dispostas na Tabela 2 (ver página 26). Os estudos incluíram um total de 11.646 participantes, dos quais 6.696 eram homens e 4.881 mulheres. Apenas um estudo não especificou a idade, sexo e AVC dos participantes.<sup>3</sup> A maioria dos estudos realizou a análise classificando a recuperação motora de acordo com a Escala de Rankin Modificada (mRS) e agrupou os participantes em um resultado *ruim* ( $\geq 3$ ) e *bom* ( $\leq 2$ ),



porém o escore de corte difere entre os estudos. Cinco estudos<sup>17-21</sup> consideraram a relação com o grupo de participantes com boa recuperação.

Dentre todos os estudos incluídos nesta revisão, 79 biomarcadores foram testados. A maioria dos biomarcadores moleculares foram extraídos do soro (CRP<sup>6, 24, 25</sup>, ROOH<sup>24</sup>, Ferritina<sup>26,27</sup>, Lp-PLA2<sup>28</sup>, NSE<sup>29</sup>, S100B<sup>22,29</sup>, Colesterol<sup>30</sup>, CyPA<sup>31</sup>, NGAL<sup>32</sup>, Magnésio<sup>19</sup>, Fibulina-5<sup>33</sup>, eGFR<sup>3</sup>, SAA<sup>34</sup>, Cálcio<sup>20,35,36</sup>, BNP<sup>22</sup>, Periostina<sup>37</sup>, YKL-40<sup>38</sup>, AST<sup>21</sup>, ALT<sup>21</sup>, CCL2<sup>39</sup>, CXCL10<sup>39</sup>, CX3CL1<sup>39</sup>, CCL7<sup>39</sup>, CCL22<sup>39</sup>, G-CSF<sup>17,39</sup>, GM-CSF<sup>39</sup>, IL-1ra<sup>39</sup>, IL-4<sup>39</sup>, IL-6<sup>39</sup>, IL-8<sup>39</sup>, IL-10<sup>39</sup>, IL-1β<sup>39</sup>, TNF<sup>39</sup>, MMP-3<sup>40</sup>, MMP-9<sup>40</sup>, Angiopietina 1<sup>17,40</sup>, sCD40L<sup>41</sup>, MIF<sup>42</sup>, SCUBE1<sup>43</sup>, Glicose<sup>21,44</sup>, miR-1297<sup>45</sup>, VEGF<sup>16,17,40</sup>, NLR<sup>46</sup>, Caspase-3<sup>47</sup>, Tenascina-C<sup>48</sup>, Calprotectina<sup>49</sup>, miR-130a<sup>23</sup>, Ácidos biliares<sup>50</sup>, Ácido úrico<sup>51</sup>, Hepsidina<sup>52</sup>, Ferro<sup>52</sup>, GFAP<sup>53</sup>, Fosfato<sup>20</sup>, Omentina-1<sup>54</sup>, Mieloperoxidase<sup>55</sup>, ALP<sup>56</sup>, HGH<sup>25</sup>), vinte biomarcadores foram extraídos do plasma (Estrogênio<sup>57</sup>, TSP-1<sup>58</sup>, 8-iso-PGF2α<sup>59</sup>, Klotho<sup>60</sup>, Neurofilamento<sup>61</sup>, WBC<sup>21,25,62</sup>, NLR<sup>62</sup>, Osteopontina<sup>63</sup>, Ácido hialurônico<sup>18</sup>, Adrenomedulina<sup>64</sup>, Galectina-3<sup>65</sup>, Copeptina<sup>66</sup>, Gelsolina<sup>67</sup>, Glicose<sup>25,68</sup>, S100B<sup>69</sup>, Homocisteína<sup>70</sup>, CRP<sup>25</sup>, Plaquetas<sup>21</sup>, Neutrófilos<sup>62</sup>, Linfócitos<sup>62</sup>) e dois biomarcadores foram extraídos do sangue total (NLR<sup>71</sup>, PLR<sup>71</sup>); três biomarcadores de fluido cefalorraquidiano (IL-1β<sup>72</sup>, IL-18<sup>72</sup>, TNF-α<sup>72</sup>), um de urina (UACR<sup>3</sup>), sendo apenas um extraído para DNA (SNP rs10940495 no locus gp130<sup>73</sup>), e para um biomarcador (Troponin I)<sup>2</sup> o tipo de extração não foi relatado.

A maioria dos biomarcadores foi analisada com a amostra de sangue coletada em 24 horas; apenas quatorze<sup>2,3,16-18,23,26,27,29,33,36,39,45,72</sup> biomarcadores foram analisados com a amostra coletada em 72 horas. A maioria dos estudos utilizou o teste ELISA como técnica de análise para biomarcadores. No entanto, para os biomarcadores copeptina<sup>66</sup> e Troponina I<sup>2</sup> utilizou-se a técnica de Imunoensaio de Quimioluminescência, e para S100B<sup>69</sup> a Eletro-Quimioluminescência. Técnicas AHA e AEM foram utilizadas para analisar o NLR<sup>71</sup>, PLR<sup>71</sup> e ALP<sup>56</sup>, respectivamente.

### *Estudo das características populacionais*

As principais características clínicas e resultados laboratoriais dos indivíduos pós-AVC, são apresentados nas Tabelas 3 (ver página 34), 4 (ver página 38) e 6 (ver página 50). Houve heterogeneidade entre os estudos em relação ao índice de massa corporal (22,4 - 29,0 kg/m<sup>2</sup>), glicose (5,9 - 67,2 mmol/L), CRP (3,2 - 27,2 mg/L), D-dímero (1,7 - 3,9 mg/L), bem como a quantidade de hipertensos (18 - 97, 4%) e diabéticos (0 - 91, 6%) nos indivíduos entre estudos.

O grupo de resultados *ruim* era mais velho (57%) e apresentava níveis mais elevados de glicose (68%), PCR (88%) e D-dímero (67%), quando comparado com o grupo *bom*.

Além disso, houve uma grande heterogeneidade entre os estudos em relação à gravidade clínica do AVC [NIHSS (pontuação 2-27), GCS (pontuação 8-15) e deterioração neurológica precoce (6,5-32,1%)], os achados de neuroimagem [Fisher Grau III-IV (28,8-94,1%), volume do hematoma (4,3-76,2mL), presença de hemorragia intraventricular (2,2-83,6%) e crescimento do hematoma (4,3-26,5%)] (Tabela 4; ver página 38). O grupo de resultado ruim apresentou maior gravidade clínica [NIHSS (92%), GCS (88%) e deterioração neurológica precoce (100%)] e maior volume e distribuição de hemorragia [Fisher (100%), volume do hematoma (95%), presença de hemorragia intraventricular (81%) e crescimento de hematoma (88%)] do que o grupo de resultado bom (Tabela 5; ver página 44).

### *Biomarcadores como prognóstico de recuperação funcional*

Considerando o papel do biomarcador durante o processo fisiopatológico do AVC hemorrágico, 32 estudos avaliaram biomarcadores classificados como inflamatórios<sup>6,18,21,23-26,28,31-35,38-42,46,49,55,60,62,63,65,72,73</sup>, 2 biomarcadores como estresse oxidativo<sup>24,59</sup>, 8 para dano neuronal<sup>29,37,45,47,48,54,67</sup>, 4 para ativação glial<sup>22,29,53,69</sup>, 19 para metabólico<sup>3,17,21,25,30,31,35,36,44,50-52,56,57,36,68</sup>, e finalmente, 10 estudos avaliaram biomarcadores classificados como circulação, coagulação e função vascular.<sup>2,17,22,39,40,43,58,64,69</sup> Dos 79 biomarcadores incluídos, 61 foram identificados como marcadores preditivos de recuperação funcional após-AVC hemorrágico. No entanto, os biomarcadores: NLR; Glóbulos Brancos; G-CSF; IL-1 $\beta$ ; Ferritina; S100B; Glicose; Angiopietina 1; e VEGF foram classificados como preditores em alguns estudos, mas não em outros (Tabela 6, ver página 50).

A maioria dos biomarcadores de processo inflamatório apresentaram sua expressão aumentada em indivíduos pós-AVC, de pior prognóstico comparados aos indivíduos com bom prognóstico funcional. Exceto klotho e linfócitos, que apresentaram baixo nível de expressão. Para os biomarcadores MMP-3, MMP-9 e ácido hialurônico, não houve diferença no nível de expressão entre os grupos. No entanto, eles foram considerados como preditores com valores de corte estabelecidos para cada um desses biomarcadores. Os biomarcadores classificados na categoria *stress oxidativo* e *dano neuronal*, também mostraram aumento da expressão em participantes com baixa funcionalidade, com exceção de Omentina-1 e Gelsolina.

O aumento de GFAP e S100B, categorizados como ativadores gliais, está associado a um prognóstico ruim para recuperação funcional.

Por outro lado, em relação aos biomarcadores de respostas metabólicas, pacientes com baixa funcionalidade mostraram uma diminuição no colesterol, cálcio e ácidos biliares totais. Os outros biomarcadores considerados preditores nesta categoria têm expressões aumentadas.

Os níveis de glicose são controversos entre os estudos. A maioria dos biomarcadores relacionados à circulação, coagulação e função vascular também aumentaram sua expressão, com exceção do VEGF, em pacientes com prognóstico funcional ruim, em comparação com aqueles com boa funcionalidade. Para Angiopietina 1, o aumento da expressão foi associado com boa funcionalidade após o AVC.

### *Medidas de precisão diagnóstica*

A análise ROC foi utilizada por trinta e dois estudos, para avaliar a capacidade preditiva dos biomarcadores em detectar recuperação funcional pós-AVC hemorrágico, utilizando a área sob a curva ROC. Porém dois estudos<sup>71,72</sup> não mencionam os valores de AUC ou corte. No geral, foram relatados 35 biomarcadores e seus valores de corte (Tabela 6; ver página 50). Ao categorizar os pacientes no pós-AVC hemorrágico como *pior resultado* ou *melhor resultado*, 24 biomarcadores alcançaram uma precisão *muito boa* (AUC = 0,8-0,9), e 27 obtiveram uma *baixa taxa de má classificação* (10-30%). As melhores relações entre a AUC e a taxa de má classificação foram encontradas utilizando-se o fator de crescimento endotelial vascular (corte=111,17 pg/mL)<sup>16</sup> e os biomarcadores de ativação glial [GFAP (corte=1.04 ng/mL)<sup>53</sup> e S100B específico glial (corte=133 pg/mL)<sup>67</sup>] (Figure 2; ver página 56).

### *Risco de viés*

O QUADAS-2 avaliou 61 estudos de biomarcadores e recuperação física, no AVC hemorrágico. Quatro domínios foram considerados para "risco de viés" e 3 domínios para "preocupações de aplicabilidade" (Figura 3; ver página 57). Todos os estudos estavam em risco de viés, com 66% com classificação "não clara" em "Fluxo e tempo". Em contrapartida, desses 61 artigos, 22 (36%) foram considerados de "baixa preocupação com a aplicabilidade". Dos 39 artigos considerados com "preocupações com a aplicabilidade", 21 (34%) destes pontuaram "não claro" na "seleção do paciente" ou no "teste de índice".

## Discussão

Este estudo revisou sistematicamente biomarcadores moleculares relacionados à recuperação funcional após o AVC hemorrágico e sintetizou os valores de corte para o biomarcador ideal, em uma análise de curva ROC. O QUADAS foi utilizado para avaliar o risco de viés dos estudos selecionados. As novas informações fornecidas por esta revisão devem contribuir para o campo da neuro reabilitação, pois trazem insights sobre alvos moleculares para intervenções farmacológicas e físicas, e prevê indivíduos com melhores resultados funcionais. Esta previsão pode ajudar a equipe de reabilitação a projetar melhores ensaios para entender perfis de recuperação, como *bom* e *mau* respondedores. Além disso, pode recomendar uma terapia mais seletiva, baseada na recuperação neurobiológica. Dos 79 biomarcadores moleculares identificados nesta revisão sistemática, 52 foram considerados *preditor*, 18 como *não preditor* e 9 apresentaram resultados controversos.

Existem semelhanças e discrepâncias entre diferentes etiologias de AVC, de acordo com a literatura.<sup>4,5</sup> O aumento de biomarcadores inflamatórios como TNF- $\alpha$ , Glóbulos Brancos, Osteopontina e Glicose parece ser um perfil comum para o AVC isquêmico e hemorrágico, relacionados ao prognóstico funcional ruim.<sup>4,5</sup> No entanto, considerando estudos que indicam um perfil molecular específico para diferenciar o diagnóstico entre cada AVC<sup>74</sup>, pode-se esperar que haja um perfil molecular específico relacionado à recuperação funcional entre AVC isquêmico e hemorrágico. Por exemplo, em ambos os tipos de AVC, o GFAP e o MMP-9 são capazes de prever a recuperação funcional e diferenciar o tipo de AVC.<sup>10,32,55,74,75</sup> Embora os aumentos da proteína C-reativa sejam considerados preditores de recuperação motora, pós-AVC isquêmico, isso não foi observado na presente revisão para o AVC hemorrágico.<sup>6,74</sup> No entanto, interpretações e comparações devem ser tomadas com cautela devido à grande variabilidade entre os estudos (incluindo fontes de análise e classificação de biomarcadores utilizados). Estudos futuros devem considerar abordagens genômicas, metabolômicas e proteômicas para trazer maiores informações moleculares, e detalhadas, para agrupar os participantes no pós-AVC, de acordo com a etiologia do AVC e a recuperação funcional.

De acordo com nossos resultados os biomarcadores inflamatórios são os mais avaliados no pós-AVC hemorrágico, e seu aumento foi relacionado à má recuperação funcional. Além disso, as vias do cálcio foram frequentemente investigadas pelos estudos e são consideradas para o prognóstico funcional. Maiores concentrações de cálcio no sangue foram relacionadas a uma melhor recuperação funcional. Em relação à análise ROC e à taxa de má classificação, o

VEGF apresentou melhor precisão (AUC=0,95 e taxa de má classificação=5%) quando o valor de corte 111,17 pg/mL<sup>16</sup> foi considerado.

As variações metodológicas entre os estudos para avaliar os biomarcadores, também podem explicar parcialmente os resultados discrepantes. Por exemplo, diferentes pontos de tempo para coletas de amostras podem ser uma fonte de má interpretação, como observado para Angiopietina 1, VEGF e ferritina. Da mesma forma, para os biomarcadores NLR, IL-B e S100, os resultados contraditórios podem ser explicados pelo tipo de amostra utilizada, como: sangue, plasma, soro ou líquido cefalorraquidiano. O presente estudo mostrou que o biomarcador sanguíneo foi frequentemente relatado, provavelmente porque os exames de sangue são comumente parte da rotina na avaliação de emergência do AVC e permitem a análise de diferentes condições sistêmicas ou muitos biomarcadores preditivos.

Considerando a patologia complexa do AVC hemorrágico<sup>76</sup>, a combinação de vários biomarcadores poderia melhorar a precisão da previsão. Por exemplo, a chance de ter um resultado ruim quando NLR e PLR foram combinados (OR=5,44) aumentou até 118%, o que significa mais do que o dobro da eficácia de previsão, em comparação com os biomarcadores isolados (OR=2,30 e 2,49, respectivamente).<sup>71</sup> Além disso, outros tipos de biomarcadores surgiram como preditores independentes para a recuperação sensório-motora após acidente vascular cerebral, como a NIHSS<sup>6,16-18,24,27,28,32,32,34,37,38,40,41,52,58-60,62-64,66,67</sup>, volume do hematoma<sup>17,26-28,32,34,37,38,40,41,52,54,58-60,62-64,66,67</sup>, alterações do eletrocardiograma no tipo isquêmico<sup>77</sup>, parâmetros de variabilidade da frequência cardíaca<sup>78</sup> e oscilações de baixa frequência<sup>79</sup> podem melhorar a precisão para prever a recuperação funcional. Essa abordagem foi observada em um estudo realizado por Dong *et al.*<sup>58</sup>, que observou melhor precisão para prever a recuperação funcional, a longo prazo, ao combinar o biomarcador trombospondina-1 com a NIHSS ou com volume de hematoma.

Embora tenham sido consideradas as estratégias para evitar viés, os resultados atuais devem ser interpretados com cautela, e alguns pontos devem se ter em mente: 1) o número limitado de estudos que avaliaram o mesmo biomarcador restringe a realização de uma meta-análise, e limita a capacidade de identificação do melhor biomarcador capaz de prever a funcionalidade; 2) o ritmo circadiano pode afetar a expressão de alguns biomarcadores<sup>4</sup>, e não foi controlado nos estudos; 3) avaliadores cegos não são frequentemente utilizados nos estudos incluídos; 4) a falta de terminologia padronizada de forma clara para resultados funcionais ruins ou bons no pós-AVC, bem como a abordagem dos melhores instrumentos de avaliação pela comunidade científica<sup>22</sup>; 5) muitos fatores contextuais podem influenciar o estado funcional após o AVC, como o comportamento sedentário, a quantidade de reabilitação recebida,

comorbidades, medicamentos, e etc, poderia afetar modelos de previsão. Provavelmente modelos não lineares, com diferentes fatores e pontos de tempo de avaliação podem representar melhor essa complexidade; 6) poucos estudos têm considerado acompanhamentos de longo prazo para recuperação funcional ( $\geq 6$  months).

## **Conclusão**

Esta revisão sistemática mostra que a recuperação funcional tardia pode ser prevista por 61 biomarcadores moleculares avaliados na fase aguda, após um AVC hemorrágico

## Reference

1. Maas MB, Furie KL. Molecular biomarkers in stroke diagnosis and prognosis. *Biomark Med.* Aug 2009;3(4):363-383. doi:10.2217/bmm.09.30
2. Gerner ST, Auerbeck K, Sprügel MI, et al. Peak Troponin I Levels Are Associated with Functional Outcome in Intracerebral Hemorrhage. *Cerebrovasc Dis.* 2018;46(1-2):72-81. doi:10.1159/000492395
3. Huang YC, Wu YL, Lee MH, et al. Association of renal biomarkers with 3-month and 1-year outcomes among critically ill acute stroke patients. *PLoS One.* 2013;8(9):e72971. doi:10.1371/journal.pone.0072971
4. Lai YJ, Hanneman SK, Casarez RL, Wang J, McCullough LD. Blood biomarkers for physical recovery in ischemic stroke: a systematic review. *Am J Transl Res.* 2019;11(8):4603-4613.
5. Donkel SJ, Benaddi B, Dippel DWJ, Ten Cate H, de Maat MPM. Prognostic Hemostasis Biomarkers in Acute Ischemic Stroke. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 03 2019;39(3):360-372. doi:10.1161/ATVBAHA.118.312102
6. Shoaeb MA, Shehata, M.A., Taema, K.M., Hammouda, M.A. CRP in cerebrovascular stroke: Prognostic implications. 2014. doi:10.1016/j.ejccm.2014.03.001
7. Hasan N, McColgan P, Bentley P, Edwards RJ, Sharma P. Towards the identification of blood biomarkers for acute stroke in humans: a comprehensive systematic review. *Br J Clin Pharmacol.* Aug 2012;74(2):230-40. doi:10.1111/j.1365-2125.2012.04212.x
8. Moher D, Hopewell S, Schulz KF, et al. CONSORT 2010 explanation and elaboration: updated guidelines for reporting parallel group randomised trials. *Int J Surg.* 2012;10(1):28-55. doi:10.1016/j.ijsu.2011.10.001
9. Ng GJL, Quek AML, Cheung C, Arumugam TV, Seet RCS. Stroke biomarkers in clinical practice: A critical appraisal. *Neurochem Int.* Jul 2017;107:11-22. doi:10.1016/j.neuint.2017.01.005
10. Kamtchum-Tatuene J, Jickling GC. Blood Biomarkers for Stroke Diagnosis and Management. *Neuromolecular Med.* 12 2019;21(4):344-368. doi:10.1007/s12017-019-08530-0
11. Šimundić AM. Measures of Diagnostic Accuracy: Basic Definitions. *EJIFCC.* Jan 2009;19(4):203-11.
12. Eusebi P. Diagnostic accuracy measures. *Cerebrovasc Dis.* 2013;36(4):267-72. doi:10.1159/000353863
13. Kaizik MA, Garcia AN, Hancock MJ, Herbert RD. Measurement properties of quality assessment tools for studies of diagnostic accuracy. *Braz J Phys Ther.* 2020 Mar - Apr 2020;24(2):177-184. doi:10.1016/j.bjpt.2019.01.009
14. Schueler S, Schuetz GM, Dewey M. The revised QUADAS-2 tool. *Ann Intern Med.* Feb 2012;156(4):323; author reply 323-4. doi:10.7326/0003-4819-156-4-201202210-00018
15. Higgins JP, Altman DG, Gøtzsche PC, et al. The Cochrane Collaboration's tool for assessing risk of bias in randomised trials. *BMJ.* Oct 2011;343:d5928. doi:10.1136/bmj.d5928

16. Zheng J, Sun J, Yang L, Zhao B, Fan Z. The potential role of vascular endothelial growth factor as a new biomarker in severe intracerebral hemorrhage. *J Clin Lab Anal.* Sep 2017;31(5)doi:10.1002/jcla.22076
17. Sobrino T, Arias S, Rodríguez-González R, et al. High serum levels of growth factors are associated with good outcome in intracerebral hemorrhage. *J Cereb Blood Flow Metab.* Dec 2009;29(12):1968-74. doi:10.1038/jcbfm.2009.182
18. Tang SC, Yeh SJ, Tsai LK, et al. Association between plasma levels of hyaluronic acid and functional outcome in acute stroke patients. *J Neuroinflammation.* Jun 2014;11:101. doi:10.1186/1742-2094-11-101
19. Goyal N, Tsivgoulis G, Malhotra K, et al. Serum Magnesium Levels and Outcomes in Patients With Acute Spontaneous Intracerebral Hemorrhage. *J Am Heart Assoc.* 04 2018;7(8)doi:10.1161/JAHA.118.008698
20. You S, Han Q, Xu J, et al. Serum Calcium and Phosphate Levels and Short- and Long-Term Outcomes in Acute Intracerebral Hemorrhage Patients. *J Stroke Cerebrovasc Dis.* Apr 2016;25(4):914-20. doi:10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2015.12.023
21. Kim KH. Predictors of 30-day mortality and 90-day functional recovery after primary intracerebral hemorrhage : hospital based multivariate analysis in 585 patients. *J Korean Neurosurg Soc.* Jun 2009;45(6):341-9. doi:10.3340/jkns.2009.45.6.341
22. James ML, Blessing R, Phillips-Bute BG, Bennett E, Laskowitz DT. S100B and brain natriuretic peptide predict functional neurological outcome after intracerebral haemorrhage. *Biomarkers.* Sep 2009;14(6):388-94. doi:10.1080/13547500903015784
23. Wang MD, Wang Y, Xia YP, et al. High Serum MiR-130a Levels Are Associated with Severe Perihematomal Edema and Predict Adverse Outcome in Acute ICH. *Mol Neurobiol.* Mar 2016;53(2):1310-1321. doi:10.1007/s12035-015-9099-0
24. Alexandrova ML, Danovska MP. Serum C-reactive protein and lipid hydroperoxides in predicting short-term clinical outcome after spontaneous intracerebral hemorrhage. *J Clin Neurosci.* Feb 2011;18(2):247-52. doi:10.1016/j.jocn.2010.07.125
25. Zweifel C, Katan M, Schuetz P, et al. Growth hormone and outcome in patients with intracerebral hemorrhage: a pilot study. *Biomarkers.* Sep 2011;16(6):511-6. doi:10.3109/1354750X.2011.599074
26. Bakhshayesh B, Hosseinezhad M, Saadat SN, Ansar MM, Ramezani H, Saadat SM. Iron overload is associated with perihematoma edema growth following intracerebral hemorrhage that may contribute to in-hospital mortality and long-term functional outcome. *Curr Neurovasc Res.* 2014;11(3):248-53. doi:10.2174/1567202611666140530124855
27. Pérez de la Ossa N, Sobrino T, Silva Y, et al. Iron-related brain damage in patients with intracerebral hemorrhage. *Stroke.* Apr 2010;41(4):810-3. doi:10.1161/STROKEAHA.109.570168
28. Bian L, Mao LG, Sun Y, et al. Serum lipoprotein-associated phospholipase A2 as a promising prognostic biomarker in association with 90-day outcome of acute intracerebral hemorrhage. *Clin Chim Acta.* Aug 2019;495:429-435. doi:10.1016/j.cca.2019.05.017
29. Brea D, Sobrino T, Blanco M, et al. Temporal profile and clinical significance of serum neuron-specific enolase and S100 in ischemic and hemorrhagic stroke. *Clin Chem Lab Med.* 2009;47(12):1513-8. doi:10.1515/CCLM.2009.337



30. Chen YW, Li CH, Yang CD, et al. Low cholesterol level associated with severity and outcome of spontaneous intracerebral hemorrhage: Results from Taiwan Stroke Registry. *PLoS One*. 2017;12(4):e0171379. doi:10.1371/journal.pone.0171379
31. Chen B, Shen J, Zheng GR, et al. Serum cyclophilin A concentrations and prognosis of acute intracerebral hemorrhage. *Clin Chim Acta*. Nov 2018;486:162-167. doi:10.1016/j.cca.2018.08.002
32. Chen S, Chen XC, Lou XH, Qian SQ, Ruan ZW. Determination of serum neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a prognostic biomarker of acute spontaneous intracerebral hemorrhage. *Clin Chim Acta*. May 2019;492:72-77. doi:10.1016/j.cca.2019.02.009
33. Hu L, Dong MX, Zhao H, Xu GH, Qin XY. Fibulin-5: a novel biomarker for evaluating severity and predicting prognosis in patients with acute intracerebral haemorrhage. *Eur J Neurol*. 07 2016;23(7):1195-201. doi:10.1111/ene.13013
34. Huangfu XQ, Wang LG, Le ZD, Tao B. Utility of serum amyloid A as a potential prognostic biomarker of acute primary basal ganglia hemorrhage. *Clin Chim Acta*. Jun 2020;505:43-48. doi:10.1016/j.cca.2020.02.022
35. Inoue Y, Miyashita F, Toyoda K, Minematsu K. Low serum calcium levels contribute to larger hematoma volume in acute intracerebral hemorrhage. *Stroke*. Jul 2013;44(7):2004-6. doi:10.1161/STROKEAHA.113.001187
36. Mao J, Jiang W, Liu G, Jiang B. Serum calcium levels at admission is associated with the outcomes in patients with hypertensive intracerebral hemorrhage. *Br J Neurosurg*. Apr 2019;33(2):145-148. doi:10.1080/02688697.2019.1571162
37. Ji WJ, Chou XM, Wu GQ, et al. Association between serum periostin concentrations and outcome after acute spontaneous intracerebral hemorrhage. *Clin Chim Acta*. Nov 2017;474:23-27. doi:10.1016/j.cca.2017.09.002
38. Jiang YX, Zhang GH, Wang ZM, Yang H. Serum YKL-40 levels as a prognostic factor in patients with intracerebral hemorrhage. *Clin Biochem*. Dec 2014;47(18):302-6. doi:10.1016/j.clinbiochem.2014.09.015
39. Landreneau MJ, Mullen MT, Messé SR, et al. CCL2 and CXCL10 are associated with poor outcome after intracerebral hemorrhage. *Ann Clin Transl Neurol*. Aug 2018;5(8):962-970. doi:10.1002/acn3.595
40. Li N, Liu YF, Ma L, et al. Association of molecular markers with perihematomal edema and clinical outcome in intracerebral hemorrhage. *Stroke*. Mar 2013;44(3):658-63. doi:10.1161/STROKEAHA.112.673590
41. Lin XF, Ten XL, Tang XB, Chen J. Serum soluble CD40 ligand levels after acute intracerebral hemorrhage. *Acta Neurol Scand*. Mar 2016;133(3):192-201. doi:10.1111/ane.12445
42. Lin Q, Cai JY, Lu C, et al. Macrophage migration inhibitory factor levels in serum from patients with acute intracerebral hemorrhage: Potential contribution to prognosis. *Clin Chim Acta*. Sep 2017;472:58-63. doi:10.1016/j.cca.2017.07.016
43. Qiu SZ, Wang HX, Shen J, et al. The prognostic value of serum signal peptide-Cub-Egf domain-containing protein-1 concentrations in acute intracerebral hemorrhage. *Clin Chim Acta*. Oct 2016;461:103-9. doi:10.1016/j.cca.2016.08.001

44. Qureshi AI, Palesch YY, Martin R, et al. Association of serum glucose concentrations during acute hospitalization with hematoma expansion, perihematomal edema, and three month outcome among patients with intracerebral hemorrhage. *Neurocrit Care*. Dec 2011;15(3):428-35. doi:10.1007/s12028-011-9541-8
45. Sheng B, Lai NS, Yao Y, et al. Early serum miR-1297 is an indicator of poor neurological outcome in patients with aSAH. *Biosci Rep*. 12 2018;38(6)doi:10.1042/BSR20180646
46. Sun Y, You S, Zhong C, et al. Neutrophil to lymphocyte ratio and the hematoma volume and stroke severity in acute intracerebral hemorrhage patients. *Am J Emerg Med*. Mar 2017;35(3):429-433. doi:10.1016/j.ajem.2016.11.037
47. Sun DB, Xu MJ, Chen QM, Hu HT. Significant elevation of serum caspase-3 levels in patients with intracerebral hemorrhage. *Clin Chim Acta*. Aug 2017;471:62-67. doi:10.1016/j.cca.2017.05.021
48. Wang LG, Huangfu XQ, Tao B, Zhong GJ, Le ZD. Serum tenascin-C predicts severity and outcome of acute intracerebral hemorrhage. *Clin Chim Acta*. Jun 2018;481:69-74. doi:10.1016/j.cca.2018.02.033
49. Wang C, Kou Y, Han Y, Li X. Early Serum Calprotectin (S100A8/A9) Predicts Delayed Cerebral Ischemia and Outcomes after Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage. *J Stroke Cerebrovasc Dis*. May 2020;29(5):104770. doi:10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2020.104770
50. Wang K, Zhang Y, Zhong C, et al. Increased Serum Total Bile Acids can be Associated with a Small Hematoma Volume and Decreased Clinical Severity During Acute Intracerebral Hemorrhage. *Curr Neurovasc Res*. 2018;15(2):158-163. doi:10.2174/1567202615666180516114211
51. Wu H, Jia Q, Liu G, et al. Decreased uric acid levels correlate with poor outcomes in acute ischemic stroke patients, but not in cerebral hemorrhage patients. *J Stroke Cerebrovasc Dis*. Mar 2014;23(3):469-75. doi:10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2013.04.007
52. Xiong XY, Chen J, Zhu WY, et al. Serum hepcidin concentrations correlate with serum iron level and outcome in patients with intracerebral hemorrhage. *Neurol Sci*. Oct 2015;36(10):1843-9. doi:10.1007/s10072-015-2266-2
53. Xiong L, Yang Y, Zhang M, Xu W. The use of serum glial fibrillary acidic protein test as a promising tool for intracerebral hemorrhage diagnosis in Chinese patients and prediction of the short-term functional outcomes. *Neurol Sci*. Nov 2015;36(11):2081-7. doi:10.1007/s10072-015-2317-8
54. Zhang GH, Ye ZH, Guan HJ, Guo M, Zhou XX, Xu YY. Impact of serum omentin-1 concentrations on functional outcome among acute intracerebral hemorrhage patients. *Clin Chim Acta*. Apr 2020;503:169-174. doi:10.1016/j.cca.2020.01.026
55. Zheng GR, Chen B, Shen J, et al. Serum myeloperoxidase concentrations for outcome prediction in acute intracerebral hemorrhage. *Clin Chim Acta*. Dec 2018;487:330-336. doi:10.1016/j.cca.2018.10.026
56. Zhu Y, Jiang H, Li Y, et al. Serum Alkaline Phosphatase Level is Associated with Angiographic Vasospasm, Delayed Cerebral Ischemia-Caused Clinical Deterioration, and Functional Outcome After Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage. *Neurocrit Care*. 12 2019;31(3):466-475. doi:10.1007/s12028-019-00714-7

57. Crago EA, Sherwood PR, Bender C, Balzer J, Ren D, Poloyac SM. Plasma Estrogen Levels Are Associated With Severity of Injury and Outcomes After Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage. *Biol Res Nurs.* Oct 2015;17(5):558-66. doi:10.1177/1099800414561632
58. Dong XQ, Yu WH, Zhu Q, et al. Changes in plasma thrombospondin-1 concentrations following acute intracerebral hemorrhage. *Clin Chim Acta.* Oct 2015;450:349-55. doi:10.1016/j.cca.2015.09.013
59. Du Q, Yu WH, Dong XQ, et al. Plasma 8-iso-Prostaglandin F2 $\alpha$  concentrations and outcomes after acute intracerebral hemorrhage. *Clin Chim Acta.* Nov 2014;437:141-6. doi:10.1016/j.cca.2014.07.014
60. Hu ZJ, Wang XC, Zhu LC, et al. Circulating Klotho is linked to prognosis of acute intracerebral hemorrhage. *Clin Chim Acta.* Oct 2019;497:114-119. doi:10.1016/j.cca.2019.07.023
61. Hviid CVB, Lauridsen SV, Gyldenholm T, Sunde N, Parkner T, Hvas AM. Plasma Neurofilament Light Chain Is Associated with Poor Functional Outcome and Mortality Rate After Spontaneous Subarachnoid Hemorrhage. *Transl Stroke Res.* Aug 2020;11(4):671-677. doi:10.1007/s12975-019-00761-4
62. Lattanzi S, Cagnetti C, Rinaldi C, Angelocola S, Provinciali L, Silvestrini M. Neutrophil-to-lymphocyte ratio improves outcome prediction of acute intracerebral hemorrhage. *J Neurol Sci.* 04 2018;387:98-102. doi:10.1016/j.jns.2018.01.038
63. Li HJ, Han NN, Nan Y, Zhang K, Li G, Chen H. Plasma osteopontin acts as a prognostic marker in acute intracerebral hemorrhage patients. *Clin Chim Acta.* Jan 2020;500:208-212. doi:10.1016/j.cca.2019.10.018
64. Wang CL, Lin HY, Xu JW, et al. Blood levels of adrenomedullin on admission predict outcomes after acute intracerebral hemorrhage. *Peptides.* Apr 2014;54:27-32. doi:10.1016/j.peptides.2014.01.005
65. Yan XJ, Yu GF, Jie YQ, Fan XF, Huang Q, Dai WM. Role of galectin-3 in plasma as a predictive biomarker of outcome after acute intracerebral hemorrhage. *J Neurol Sci.* Sep 2016;368:121-7. doi:10.1016/j.jns.2016.06.071
66. Zhang X, Lu XM, Huang LF, Ye H. Copeptin is associated with one-year mortality and functional outcome in patients with acute spontaneous basal ganglia hemorrhage. *Peptides.* Feb 2012;33(2):336-41. doi:10.1016/j.peptides.2012.01.011
67. Zhao DQ, Wang K, Zhang HD, Li YJ. Significant reduction of plasma gelsolin levels in patients with intracerebral hemorrhage. *Clin Chim Acta.* Jan 2013;415:202-6. doi:10.1016/j.cca.2012.10.048
68. Zhao Y, Yang J, Zhao H, Ding Y, Zhou J, Zhang Y. The association between hyperglycemia and the prognosis of acute spontaneous intracerebral hemorrhage. *Neurol Res.* Feb 2017;39(2):152-157. doi:10.1080/01616412.2016.1270575
69. Zhou S, Bao J, Wang Y, Pan S. S100 $\beta$  as a biomarker for differential diagnosis of intracerebral hemorrhage and ischemic stroke. *Neurol Res.* Apr 2016;38(4):327-32. doi:10.1080/01616412.2016.1152675
70. Zhou F, Chen B, Chen C, et al. Elevated homocysteine levels contribute to larger hematoma volume in patients with intracerebral hemorrhage. *J Stroke Cerebrovasc Dis.* Apr 2015;24(4):784-8. doi:10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2014.11.005

71. Tao C, Wang J, Hu X, Ma J, Li H, You C. Clinical Value of Neutrophil to Lymphocyte and Platelet to Lymphocyte Ratio After Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage. *Neurocrit Care*. Jun 2017;26(3):393-401. doi:10.1007/s12028-016-0332-0
72. Lv SY, Wu Q, Liu JP, et al. Levels of Interleukin-1 $\beta$ , Interleukin-18, and Tumor Necrosis Factor- $\alpha$  in Cerebrospinal Fluid of Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage Patients May Be Predictors of Early Brain Injury and Clinical Prognosis. *World Neurosurg*. Mar 2018;111:e362-e373. doi:10.1016/j.wneu.2017.12.076
73. El Husseini N, Hoffman BM, Bennett ER, et al. Association of IL6ST (gp130) Polymorphism with Functional Outcome Following Spontaneous Intracerebral Hemorrhage. *J Stroke Cerebrovasc Dis*. Jan 2018;27(1):125-131. doi:10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2017.08.017
74. Misra S, Montaner J, Ramiro L, et al. Blood biomarkers for the diagnosis and differentiation of stroke: A systematic review and meta-analysis. *Int J Stroke*. Oct 2020;15(7):704-721. doi:10.1177/1747493020946157
75. Abdelnaseer M, Elfayomi N, Esmail EH, et al. Relationship between matrix metalloproteinase-9 and common carotid artery intima media thickness. *Neurol Sci*. Jan 2016;37(1):117-122. doi:10.1007/s10072-015-2358-z
76. Glushakova OY, Glushakov AV, Miller ER, Valadka AB, Hayes RL. Biomarkers for acute diagnosis and management of stroke in neurointensive care units. *Brain Circ*. 2016 Jan-Mar 2016;2(1):28-47. doi:10.4103/2394-8108.178546
77. Junttila E, Vaara M, Koskenkari J, et al. Repolarization abnormalities in patients with subarachnoid and intracerebral hemorrhage: predisposing factors and association with outcome. *Anesth Analg*. Jan 2013;116(1):190-7. doi:10.1213/ANE.0b013e318270034a
78. Lees T, Shad-Kaneez F, Simpson AM, Nassif NT, Lin Y, Lal S. Heart Rate Variability as a Biomarker for Predicting Stroke, Post-stroke Complications and Functionality. *Biomark Insights*. 2018;13:1177271918786931. doi:10.1177/1177271918786931
79. Cassidy JM, Wodeyar A, Wu J, et al. Low-Frequency Oscillations Are a Biomarker of Injury and Recovery After Stroke. *Stroke*. 05 2020;51(5):1442-1450. doi:10.1161/STROKEAHA.120.028932

## ANEXO 5

**Parecer Consubstanciado do Comitê de ética em Pesquisa da UFSCAR****PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP****DADOS DA EMENDA**

**Título da Pesquisa:** SEDENTARISMO E DISFUNÇÃO ARTERIAL EM INDIVÍDUOS PÓS-ACIDENTE VASCULAR CEREBRAL CRÔNICO

**Pesquisador:** Jean Alex Matos Ribeiro

**Área Temática:**

**Versão:** 3

**CAAE:** 62417216.9.0000.5504

**Instituição Proponente:** Departamento de Fisioterapia

**Patrocinador Principal:** Universidade Federal de São Carlos/UFSCar

**DADOS DO PARECER**

**Número do Parecer:** 2.772.384

**Apresentação do Projeto:**

Trata-se de uma nova solicitação de emenda a projeto de pesquisa aprovado por este CEP. O estudo é do tipo transversal onde serão avaliados 49 indivíduos, idade entre 40 e 80 anos, que tiveram AVC há pelo menos 6 meses e 49 sujeitos saudáveis, pareados por idade, sexo e índice de massa corporal (IMC). Avaliações serão realizadas em 2 dias. Foram solicitadas na emenda: inclusão da descrição no projeto o acesso a lista de pacientes e prontuários médicos de algumas instituições hospitalares de São Carlos para recrutamento de voluntários; alteração de alguns critérios de elegibilidade, principalmente porque estavam limitando o recrutamento de voluntários e não influenciavam os desfechos de interesse. Retiramos “da artéria cerebral anterior ou média” e “com hemiparesia”; foi retirado “arritmia” e “uso de betabloqueadores”, pois não influenciavam os desfechos de interesse; acréscimo do Questionário Internacional de Atividade Física (IPAQ) e Questionário de Atividade Física Habitual de Baecke ou Questionário de Baecke. Foi acrescentado um Diário do Sono e alterado o cronograma, pois o prazo previsto foi curto e não conseguiram a quantidade de participantes necessários.

**Objetivo da Pesquisa:**

**Objetivo Primário:** Caracterizar a função arterial frente ao tempo em atividades sedentárias de pacientes hemiparéticos pós-acidente vascular cerebral na fase crônica.

**Endereço:** WASHINGTON LUIZ KM 235

**Bairro:** JARDIM GUANABARA

**UF:** SP

**Município:** SÃO CARLOS

**CEP:** 13.565-905

**Telefone:** (16)3351-9683

**E-mail:** cephumanos@ufscar.br



Continuação do Parecer: 2.772.384

Objetivo Secundário: • Caracterizar a função endotelial (%DFM) dos pacientes hemiparéticos pós-acidente vascular cerebral na fase crônica versus controle pareado; • Caracterizar a rigidez arterial (VOP-CF e AI) dos pacientes hemiparéticos pós-acidente vascular cerebral na fase crônica versus controle pareado; • Caracterizar o controle autonômico cardiovascular por meio da variabilidade da frequência cardíaca (AF, BF, AFun, BFun e BF/AF) e sensibilidade barorreflexa [(AF) e (BF)] dos pacientes hemiparéticos pós-acidente vascular cerebral na fase crônica versus controle pareado; • Caracterizar o consumo de oxigênio durante o teste de caminhada de 6 minutos dos pacientes hemiparéticos pós-acidente vascular cerebral na fase crônica versus controle pareado; • Correlacionar o tempo em atividades sedentárias com a dilatação fluxo-mediada, variabilidade da frequência cardíaca, sensibilidade barorreflexa, velocidade da onda de pulso, augmentation index, testes de caminhada de 6 minutos e 10 metros, consumo de oxigênio e grau de comprometimento sensoriomotor.

#### **Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

Riscos:

1 Avaliação do nível de dependência de deambulação - sem risco. 2 Avaliação da função cognitiva - pode ocorrer dor de cabeça de intensidade leve. 3 Avaliação das características antropométricas - sem risco. 4 Avaliação do comprometimento sensorio-motor - pode ocorrer sensação de cansaço e/ou dores nas articulações e/ou nos músculos de intensidade leve. 5 Avaliação da capacidade funcional submáxima e consumo de oxigênio pode ocorrer queda, aumento da pressão arterial, sensação de cansaço, falta de ar, sudorese, tontura, palidez, caibras e/ou dores no peito, nas articulações e/ou nos músculos. 6 Avaliação da velocidade da marcha - pode ocorrer queda, aumento da pressão arterial, sensação de cansaço, falta de ar, sudorese, tontura, palidez, caibras e/ou dores no peito, nas articulações e/ou nos músculos. 7 Avaliação do tempo em sedentarismo - sem risco. 8 Avaliação do controle autonômico cardiovascular - pode provocar hipotensão e/ou tontura no momento da mudança de postura de sedestação para ortostatismo, e/ou leve desconforto no terceiro dedo e no braço no momento da insuflação do manguito. 9 Avaliação da rigidez arterial - pode provocar leve desconforto no momento da insuflação do manguito. 10 Avaliação da função endotelial - pode provocar pequenas alterações sensoriais, formigamento, dor de intensidade leve e/ou sensação de "jato quente e forte" devido ao retorno do sangue após liberação do manguito de pressão na mão e/ou antebraço. 11 Exames laboratoriais - pode provocar dor de intensidade leve e às vezes levar a formação de um pequeno hematoma (coloração arroxeadada) no local e muito raramente vermelhidão.

**Endereço:** WASHINGTON LUIZ KM 235

**Bairro:** JARDIM GUANABARA

**UF:** SP

**Município:** SAO CARLOS

**CEP:** 13.565-905

**Telefone:** (16)3351-9683

**E-mail:** cephumanos@ufscar.br



Continuação do Parecer: 2.772.384

Benefícios: Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), os países em desenvolvimento terão uma perda econômica acumulada estimada de US\$ 7 trilhões com doenças não transmissíveis entre 2011 a 2025 (WHO, 2014). Dentre estas doenças, o acidente vascular cerebral (AVC) é responsável por altos índices de mortalidade e incapacidade em adultos, com custo elevado aos cofres públicos (CHRISTENSEN et al., 2009; JENNUM et al., 2015). A falta de condicionamento físico associado à comorbidades e prejuízos funcionais dos sobreviventes pós-AVC pioram seu estilo de vida e os predis põem ao sedentarismo. O sedentarismo, por sua vez, resulta no descondicionamento vascular através de adaptações negativas na função e estrutura dos vasos sanguíneos, levando à disfunção arterial. Alterações na função arterial são preditores significativos de AVC recorrente e outras doenças cardiovasculares. Assim, a caracterização da função arterial e do tempo em atividades sedentárias desses indivíduos são necessárias para que novas estratégias de prevenção secundária e terapias sejam realizadas a fim de melhorar a qualidade de vida desses sujeitos e reduzir o custo aos cofres públicos.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

Trata-se de uma pesquisa com relevância científica e social respeitando os preceitos éticos estabelecidos pela Resolução CNS 466/2012 e suas complementares. As solicitações da emenda são coerentes e exequíveis para a execução do projeto. Foram apresentadas as justificativas para as alterações solicitadas.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Termos de acordo com as normas da Resolução CNS 466/2012 e suas complementares.

**Recomendações:**

Nada a recomendar.

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Projeto adequado.

**Considerações Finais a critério do CEP:**

O Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) em Seres Humanos recomenda que os pesquisadores responsáveis consultem as normas do CEP e a resolução nº 466 de 2012, disponíveis na página da Plataforma Brasil em caso de dúvidas

**Endereço:** WASHINGTON LUIZ KM 235

**Bairro:** JARDIM GUANABARA

**UF:** SP

**Município:** SAO CARLOS

**Telefone:** (16)3351-9683

**CEP:** 13.565-905

**E-mail:** cephumanos@ufscar.br



Continuação do Parecer: 2.772.384

**Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:**

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_1128578_E1.pdf	08/06/2018 11:35:37		Aceito
Outros	Termo_de_doacao_de_material_biologico.pdf	04/05/2018 00:20:15	Jean Alex Matos Ribeiro	Aceito
Outros	Parecer_final_HU_UFSCar.pdf	04/05/2018 00:18:40	Jean Alex Matos Ribeiro	Aceito
Outros	Orientacoes_pre_teste.pdf	04/05/2018 00:18:07	Jean Alex Matos Ribeiro	Aceito
Outros	Orientacoes_pre_exame.pdf	04/05/2018 00:17:49	Jean Alex Matos Ribeiro	Aceito
Outros	Ficha_de_avaliacao_sociodemografica_e_clinica.pdf	04/05/2018 00:17:18	Jean Alex Matos Ribeiro	Aceito
Outros	Diario_do_sono.pdf	04/05/2018 00:16:48	Jean Alex Matos Ribeiro	Aceito
Outros	Cartilha_uso_do_SAM.pdf	04/05/2018 00:16:34	Jean Alex Matos Ribeiro	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Termo_de_Consentimento_Livre_e_Esclarecido.pdf	04/05/2018 00:15:42	Jean Alex Matos Ribeiro	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_Detalhado.pdf	04/05/2018 00:15:31	Jean Alex Matos Ribeiro	Aceito
Parecer Anterior	Parecer_Anterior.pdf	04/05/2018 00:15:15	Jean Alex Matos Ribeiro	Aceito
Cronograma	Cronograma.pdf	04/05/2018 00:15:01	Jean Alex Matos Ribeiro	Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_rosto.pdf	16/11/2016 15:29:36	Jean Alex Matos Ribeiro	Aceito
Outros	Escala_de_Fugl_Meyer.pdf	15/11/2016 13:40:49	Jean Alex Matos Ribeiro	Aceito
Outros	Classificacao_de_deambulacao_funcional_FAC.pdf	14/11/2016 20:12:50	Jean Alex Matos Ribeiro	Aceito
Outros	Contraindicacoes_para_o_teste_de_caminhada_de_6_minutos.pdf	14/11/2016 20:09:48	Jean Alex Matos Ribeiro	Aceito
Outros	Escala_de_Borg_modificada.pdf	14/11/2016 20:06:04	Jean Alex Matos Ribeiro	Aceito
Outros	Ficha_do_teste_de_caminhada_de_6_minutos.pdf	14/11/2016 20:05:15	Jean Alex Matos Ribeiro	Aceito
Outros	Ficha_do_teste_de_caminhada_de_10_metros.pdf	14/11/2016 20:04:21	Jean Alex Matos Ribeiro	Aceito
Outros	Frases_padronizadas_de_encorajamento_para_o_TC6min.pdf	14/11/2016 20:02:42	Jean Alex Matos Ribeiro	Aceito
Outros	MEEM.pdf	14/11/2016	Jean Alex Matos	Aceito

**Endereço:** WASHINGTON LUIZ KM 235

**Bairro:** JARDIM GUANABARA

**CEP:** 13.565-905

**UF:** SP **Município:** SAO CARLOS

**Telefone:** (16)3351-9683

**E-mail:** cephumanos@ufscar.br





Continuação do Parecer: 2.772.384

Outros	MEEM.pdf	20:00:59	Ribeiro	Aceito
--------	----------	----------	---------	--------

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

SAO CARLOS, 16 de Julho de 2018

---

**Assinado por:**  
**Priscilla Hortense**  
**(Coordenador)**

**Endereço:** WASHINGTON LUIZ KM 235

**Bairro:** JARDIM GUANABARA

**CEP:** 13.565-905

**UF:** SP

**Município:** SAO CARLOS

**Telefone:** (16)3351-9683

**E-mail:** cephumanos@ufscar.br