



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE (CCBS)
DEPARTAMENTO DE FISIOTERAPIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FISIOTERAPIA



LUISA FERNANDA GARCÍA SALAZAR

CARACTERIZAÇÃO DAS METALOPROTEINASES DE MATRIZ- 2 E -9
CIRCULANTES COM O NÍVEL DE ATIVIDADE FÍSICA E OS EFEITOS DO TREINO
AERÓBIO EM INDIVÍDUOS PÓS-ACIDENTE VASCULAR CEREBRAL EM FASE
CRÔNICA

SÃO CARLOS – SP

2022

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE (CCBS)
DEPARTAMENTO DE FISIOTERAPIA
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM FISIOTERAPIA

Luisa Fernanda García Salazar

Caracterização das metaloproteinases de matriz- 2 e -9 circulantes com o nível de atividade física e os efeitos do treino aeróbio em indivíduos pós-acidente vascular cerebral em fase crônica

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fisioterapia da Universidade Federal de São Carlos, para obtenção do título de Doutora em Fisioterapia, área de concentração: biomarcadores moleculares na recuperação de indivíduos com afecções do sistema nervoso central

Orientador: Prof. Dr. Thiago Luiz de Russo

Co-orientadora: Profa. Dra. Natália Pereira Duarte

São Carlos – SP

2022



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

Centro de Ciências Biológicas e da Saúde
Programa de Pós-Graduação em Fisioterapia

Folha de Aprovação

Defesa de Tese de Doutorado da candidata Luisa Fernanda García Salazar, realizada em 07/02/2022.

Comissão Julgadora:

Prof. Dr. Thiago Luiz de Russo (UFSCar)

Profa. Dra. Anna Carolyn Lepesteur Gianlorenço (UFSCar)

Profa. Dra. Larissa Pires de Andrade (UFSCar)

Profa. Dra. Rita de Cássia Marqueti Durigan (UnB)

Profa. Dra. Aline Alvim Scianni (UFMG)

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

O Relatório de Defesa assinado pelos membros da Comissão Julgadora encontra-se arquivado junto ao Programa de Pós-Graduação em Fisioterapia.

Dedico este trabalho aos aprendizados e descobertas em tempos difíceis; ao reconhecimento de tudo o que eu tenho conseguido, e ao meu próprio valor; e a toda minha família que sempre está presente.

AGRADECIMENTOS

À primeira pessoa que tenho que agradecer é ao **Prof. Dr. Thiago Luiz de Russo**. Sem dúvida, foi por ele que comecei meus estudos na pós-graduação. Sempre estarei agradecida por todas as oportunidades que ele tem colocado no meu caminho, por sempre querer o melhor para minha formação, e por pensar no meu bem-estar profissional, e até pessoal. O Thiago é um exemplo a seguir, eu me encho de orgulho por ter ele como meu orientador. O apoio que ele dá a todos seus orientandos é admirável.

Também agradeço à minha segunda inspiração profissional, a minha coorientadora **Profa. Dra. Natália Duarte Pereira**. Grandes experiências e aprendizados consegui nestes 4 anos por toda a confiança que ela tem colocado em mim. Muitas das minhas projeções profissionais também são por ela. Agradeço também por todo o apoio que me deu nos momentos difíceis, e pela vontade de querer trabalhar comigo. É uma honra trabalhar com você.

Agradeço à toda a **equipe do Laboratório de Pesquisa em Fisioterapia Neurológica (LaFiN)**, pela colaboração no desenvolvimento deste projeto. Sem o apoio deles, esta tese não teria sido possível. Especialmente, quero agradecer ao **Jean** e a **Rafa**. Ao Jean, por compartilhar horas do seu trabalho comigo, para eu poder ter uma tese; por trabalhar junto comigo numa jornada sempre contra o tempo, durante a pandemia, e inclusive, em fusos horários diferentes. Jean, aprendi muito de você!. E a Rafa, por ser uma dessas pessoas que foi indispensável nos momentos em que a vida não parece ser cor de rosa. Obrigada pela companhia, por escutar, e também por me ensinar sobre o dia a dia.

Ao **Programa de Estudante-Convênio de Pós-Graduação PEC-PG** pelo suporte financeiro, e à **Universidad del Rosario** por me permitir ter esta oportunidade.

Aos meus **amigos do “Porto Seguro”** por me ajudar a levar estes tempos de pandemia e estudos com mais leveza. E a todos os outros **amigos**, que mesmo um pouco longe nesta ocasião, fazem eu amar este país e ficar agradecida por tudo o que foi compartilhado.

A **minha família** por todo o apoio, o amor, a força e as orações, que foram indispensáveis para eu poder concluir meus estudos longe deles. Incluindo aos que agora estão lá em cima, perto das estrelas.

Por fim, agradeço à **vida**, por ter colocado todas essas pessoas maravilhosas no meu caminho, e por fazer destes 4 anos uma jornada de descobertas enriquecedoras e únicas.

Gracias Brasil!

RESUMO

Altas concentrações das metaloproteinases de matriz-2 (MMP-2) e -9 (MMP-9) estão associadas à inflamação logo após o acidente vascular cerebral (AVC) e ao prognóstico funcional. É proposto que, durante a fase crônica, os indivíduos pós-AVC apresentem um estado inflamatório sistêmico que pode estar relacionada às comorbidades. Por outro lado, as características musculares desta população estão associadas à liberação de algumas citocinas que podem potencializar a inflamação sistêmica, tais como a interleucina-6 e -10. A inclusão de exercícios aeróbicos (EA) nos programas de reabilitação destes indivíduos, tem sido sugerida como uma importante estratégia para a recuperação. O EA melhora a mobilidade, as condições cardiopulmonares, a cognição e controla os fatores de risco cardiovascular destes indivíduos. Além disso, tem sido associado à neuroplasticidade e, portanto, à recuperação motora, em decorrência do aumento da concentração do Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro (BDNF) que estaria mediado pela miocina Irisina. Diante disso, nesta tese foram desenvolvidos dois estudos, o primeiro teve como objetivo quantificar a atividade sérica da MMP-2 e da MMP-9 em indivíduos crônicos pós-AVC e correlacionar essas gelatinases com variáveis de nível de atividade física, composição corporal, capacidade funcional e de marcha, bem como, com biomarcadores metabólicos e inflamatórios. Além disso, a atividade das gelatinases foi caracterizada de acordo com o comprometimento motor desses indivíduos. O segundo estudo, avaliou as alterações na atividade destas gelatinases em amostras de soro de indivíduos pós-AVC crônicos, que receberam um protocolo de intervenção por duas semanas, que consistia em uma sessão de EA de alta intensidade e intervalado, antes da terapia por contensão induzida modificada (TCIm). Também correlacionamos as gelatinases com as concentrações de BDNF e Irisina, e com as mudanças na destreza manual e na capacidade funcional. Foi demonstrado com esses estudos que os indivíduos pós-AVC crônicos apresentam atividade aumentada da MMP-9 quando comparados com indivíduos saudáveis. Foram observadas correlações positivas com tempo e passos em cadência baixa e negativas com cadência média e índice de atividade de pico. De acordo com o comprometimento motor, a atividade da MMP-2 está aumentada no grupo leve-moderado em relação ao grupo controle. Além disso, foi observado que o protocolo de intervenção com a inclusão do EA, produz uma resposta aguda na MMP-9 aumentando sua atividade. Esse aumento não foi correlacionado com a destreza manual nem com a capacidade funcional destes indivíduos, e também não houve relação com o BDNF e a Irisina. Em conclusão, os indivíduos pós-AVC crônicos apresentam uma alteração na atividade das MMP-2 e -9 indicando uma possível inflamação sistêmica associada às condições cardiovasculares destes indivíduos. Além de apresentar, diante uma intervenção aguda, um aumento na atividade da MMP-9, indicando um possível processo adaptativo prévio às modificações dos vasos e tecido muscular frente ao EA. Para modificações a longo prazo nas condições cardiovasculares e/ou musculares seria necessária uma mudança no nível de atividade física destes indivíduos ou a execução de programas de intervenção de longa duração.

Palavras-chave:

Doenças cerebrovasculares, biomarcadores, gelatinases, inflamação, atividade física, reabilitação.

ABSTRACT

High concentrations of matrix metalloproteinases-2 (MMP-2) and -9 (MMP-9) are associated with inflammation shortly after stroke and functional prognosis. It is proposed that during the chronic phase, post-stroke individuals exhibit a systemic inflammatory state that may be related to comorbidities. On the other hand, the muscular characteristics of this population are associated with the release of some cytokines that may enhance systemic inflammation, such as interleukin-6 and -10. The inclusion of aerobic exercises (AE) in the rehabilitation programs of these individuals has been suggested as an important strategy for recovery. AE improves mobility, cardiopulmonary conditions, cognition, regulates cardiovascular risk factors in these individuals, and has been associated with neuroplasticity, therefore motor recovery due to the increased concentration of Brain Derived Neurotrophic Factor (BDNF) mediated by the myokine Irisin. In this context, two studies were developed in this thesis, the first one aimed to quantify the serum activity of MMP-2 and MMP-9 in chronic post-stroke individuals and correlate these gelatinases with variables of physical activity level, body composition, functional capacity, and walking test, as well as with metabolic and inflammatory biomarkers. In addition, the activity of these gelatinases was characterized according to the motor impairment of these individuals. The second study, evaluated the changes in gelatinases activity in serum samples from chronic post-stroke subjects who received an intervention protocol for two-week, consisting of one session of high-intensity interval EA before the modified constraint-induced movement therapy (mCIMT). We also correlated the gelatinases with BDNF and Irisin concentrations, and with changes in manual dexterity and functional capacity. It was demonstrated with these studies that chronic post-stroke individuals have increased MMP-9 activity when compared to healthy individuals. Positive correlations were observed with time and steps at low cadence and negative correlations with medium cadence and peak activity index. According to motor impairment, MMP-2 activity is increased in the mild-moderate group compared to the control group. Furthermore, it was observed that the intervention protocol with the inclusion of AE, produces an acute response in MMP-9 increasing its activity. This increase was not correlated with manual dexterity nor with the functional capacity of these individuals, and there was also no relationship with BDNF and Irisin concentration. In conclusion, chronic post-stroke individuals present altered MMP-2 and -9 activity indicating a possible systemic inflammation, associated with the cardiovascular conditions of these individuals. In addition to showing, before an acute intervention, an increase in MMP-9 activity indicates a possible adaptive process prior to the modifications of vessels and muscle tissue to the AE. For long-term modifications in cardiovascular and/or muscular conditions, a change in the physical activity level of these individuals or the execution of longer duration intervention programs would be necessary.

Keywords:

Cerebrovascular diseases, biomarkers, gelatinases, inflammation, physical activity, rehabilitation.

SUMARIO

1 CONTEXTUALIZAÇÃO	13
1.1 INSERÇÃO NA LINHA DE PESQUISA DA ORIENTADORA E DO PROGRAMA	13
1.2 PARCERIAS NACIONAIS E INTERNACIONAIS	13
1.3 ORIGINALIDADE, CONTRIBUIÇÃO DOS RESULTADOS DA PESQUISA PARA O AVANÇO CIENTÍFICO E RELEVÂNCIA SOCIAL	13
1.4 LISTA DE TRABALHOS CIENTÍFICOS E ATIVIDADES DESENVOLVIDOS DURANTE O DOUTORADO	14
1.4.1 Artigos publicados relacionados à tese	14
1.4.2 Artigos submetidos relacionados à tese	14
1.4.3 Artigos publicados desenvolvidos no LaFiN	15
1.4.4 Artigos submetidos desenvolvidos no LaFiN	15
1.4.5 Artigos submetidos desenvolvidos no Gfit Neuro	15
1.4.6 Capítulo de Livro	15
1.4.7 Resumos de participação em congresso publicados	16
1.4.8 Participação em projetos de pesquisa	16
1.4.9 Participação em projetos de extensão	17
1.4.10 Participação em congresso, encontros ou simpósios	17
1.4.11 Orientações e co-orientações alunos de graduação	18
1.4.12 Participação em bancas de avaliação	18
1.4.13 Aulas ministradas	19
1.5 LINK DO CURRÍCULO LATTES DO ALUNO E SEU ORCID	19
1.6 DESCRIÇÃO DA TESE PARA O PÚBLICO LEIGO	19
2 REVISÃO DA LITERATURA	19
2.1 AVC E ATIVIDADE FÍSICA	19
2.2 AS METALOPROTEINASES DE MATRIZ 2 (MMP-2) E -9 (MMP-9)	21
2.3 EXERCÍCIO AERÓBIO E AVC	25
3 OBJETIVOS DA PESQUISA	29
3.1 OBJETIVO GERAL	29
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	29
4 ARTIGOS	30
4.1 ARTIGO 1 – ESTUDO PILOTO EXPLORATÓRIO	30
4.2 DIRECIONAMENTO PARA PRÓXIMO ESTUDO	58
4.3 ARTIGO 2 – RESULTADOS PRELIMINARES DE UM ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO	59
5 CONCLUSÕES	79
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	79

7 REFFERENCIAS81
ANEXOS94

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Ativação e função das MMPs em processo inflamatório	22
Figura 2 - Participação das MMPs após um AVC	23
Figura 3 - Esquema da função da MMP-9 na fase de recuperação	24
Figura 4 - Atividade da MMP-9 e da MMP-2 em indivíduos pós-AVC crônico e grupo controle	40
Figura 5 - Comparação da atividade total da MMP-9 e da MMP-2 entre indivíduos pós-AVC crônicos classificados de acordo com o comprometimento motor e grupo controle	44
Figura S1 - Diferença estatisticamente significativa nos dados entre os pacientes pós-AVC crônico e o grupo controle para as características principais	50
Figura S2 - Resultado estatisticamente significativo na relação de alguns biomarcadores inflamatórios com variáveis de composição corporal e LDL em indivíduos pós-AVC crônicos	51
Figura S3 - Resultado estatisticamente significativo na relação da MMP-9 com as variáveis do nível de atividade física em indivíduos pós-AVC crônicos	52
Figura S4 - Achado estatisticamente significativo na relação de um biomarcador inflamatório com variáveis do nível de atividade física em indivíduos crônicos pós-AVC	53
Figura 6 - Fluxograma da população do estudo	68
Figura 7 - Comparação da concentração de Irisina e BDNF entre os grupos e dentro das avaliações	71
Figura 8 - Atividade da MMP-2 e da MMP-9 no grupo EA-TCIm e no grupo TCIm	72

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Principais características dos pacientes e do grupo controle	38
Tabela 2 - Correlações de Spearman das MMPs com biomarcadores inflamatórios em indivíduos crônicos pós-AVC	41
Tabela 3 - Correlações de Spearman dos biomarcadores com a composição corporal e os lípideos em indivíduos crônicos pós-AVC	41
Tabela 4 - Correlações de Spearman das MMPs com testes funcionais e nível de atividade física em indivíduos crônicos pós-AVC	43
Tabela S1 - Nível de atividade física de indivíduos pós-AVC crônicos de acordo com comprometimento sensório-motor e controles	54
Tabela S2 - Correlações de Spearman das MMPs com biomarcadores inflamatórios no grupo controle	55
Tabela S3 - Correlações de Spearman de biomarcadores com composição corporal e lipídios no grupo controle	56
Tabela S4 - Correlações de Spearman das MMPs com testes funcionais e nível de atividade física no grupo controle	57
Tabela 5 - Dados clínicos e demográficos dos participantes	69
Tabela 6 - Diferença entre os grupos e dentro dos grupos para os testes de destreza manual e capacidade funcional	70
Tabela 7 - Correlações de Spearman entre os biomarcadores e com os testes de destreza manual e capacidade funcional na avaliação pós-intervenção no grupo EA+TCIm	73
Tabela S5 - Diferença entre os grupos e dentro dos grupos para a escala Wolf Motor Function Test.	78

LISTA DE ABREVIATURAS

AVC	Acidente Vascular Cerebral
BDNF	Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro
EA	Exercício aeróbio
FCR	Frequência cardíaca de reserva
IL	Interleucina
MAL	Motor Activity Log
MEC	Matriz extracelular
MMPs	Metaloproteinases de matriz
MMP-9	Metaloproteinase de matriz -9
MMP-2	Metaloproteinase de matriz -9
TCI	Terapia por Contensão Induzida
TCIm	Terapia por Contensão Induzida modificada
TC6m	Teste de caminhada de 6 minutos
TNF α	Fator de Necrose Tumoral Alfa
VEGF	Fator de Crescimento Endotelial Vascular
WMFT	Wolf Motor Function Test

1 CONTEXTUALIZAÇÃO

1.1 INSERÇÃO NA LINHA DE PESQUISA DA ORIENTADORA E DO PROGRAMA

A presente tese foi desenvolvida pela doutoranda Luisa Fernanda García Salazar, professora do programa de Fisioterapia da Universidad del Rosario (Bogotá, Colômbia), bolsista do Programa de Estudantes-Convênio de Pós-Graduação (PEC-PG), agência financiadora: Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento (CNPq); sob orientação do Prof. Dr. Thiago Luiz de Russo e coorientada pela Profa. Dra. Natalia Duarte Pereira, ambos vinculados ao Programa de Pós Graduação em Fisioterapia da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), e coordenadores do Laboratório de Pesquisa em Fisioterapia Neurológica (LaFiN) e do Grupo de Funcionalidade e Inovação Tecnológica em Neuroreabilitação (Gfit Neuro), respectivamente.

Especificamente, esta pesquisa se insere na linha de pesquisa do LaFiN, que envolve a investigação de biomarcadores moleculares e suas relações com o efeito das intervenções e o desempenho funcional em indivíduos com afecções do sistema nervoso central.

1.2 PARCERIAS NACIONAIS E INTERNACIONAIS

O desenvolvimento do projeto contou com a colaboração da Profa. Dra. Aparecida Maria Catai e da Profa. Dra. Stela Marcia Mattiello, professoras efetivas do Departamento de Fisioterapia da UFSCar; Dra. Isabela Arruda Verzola Aniceto, médica cardiologista da Unidade de Saúde Escola da UFSCar e da Profa. Dra. Alexandra Borstad, professora associada do The College of St. Thomas, Duluth, Minnesota, EUA.

1.3 ORIGINALIDADE, CONTRIBUIÇÃO DOS RESULTADOS DA PESQUISA PARA O AVANÇO CIENTÍFICO E RELEVÂNCIA SOCIAL

Os resultados dos estudos desenvolvidos nesta tese consideram aspectos importantes na área de reabilitação dos indivíduos pós-acidente vascular cerebral (AVC), pois inclui a área básica e seu impacto na clínica (estudos translacionais), sendo isto de interesse mundial, mas mesmo assim, considerado como um grande desafio da medicina contemporânea. Especificamente, avançamos na exploração de biomarcadores, como as metaloproteinases de matriz (MMPs), que permitem identificar respostas ou condições inflamatórias nos indivíduos pós-AVC, além de entender a relação destes processos com

o comportamento sedentário ou as características sensório-motoras destes indivíduos. Nossos estudos estão focados especificamente, na fase crônica a qual tem sido pouco explorada neste assunto.

Além disso, acrescentamos à evidencia que a associação do exercício aeróbio (EA) com estratégias de reabilitação como a Terapia por Contensão Induzida (TCI), pode gerar também alguns benefícios sistêmicos ou locais, e não só potencializar os efeitos na recuperação do membro superior, como resposta ao efeito *priming*, como tem sido sugerido em estudos prévios (MANG et al., 2013). Esta contribuição faz parte dos resultados preliminares de um ensaio clínico randomizado, que segue a exploração de biomarcadores moleculares, mas neste caso, relacionados com processos de neuroplasticidade e recuperação da função do membro superior, ao associar o EA intervalado de moderada a alta intensidade com a TCI.

Considerando a Classificação Internacional de Funcionalidade, Incapacidade e Saúde (CIF), nossos resultados aportam em termos da estrutura e funções corporais, pela exploração de mecanismos moleculares relacionados às alterações cardiovasculares, metabólicas e musculares nos indivíduos pós-AVC em fase crônica. Além disso, buscase o estabelecimento de possíveis relações entre estes biomarcadores moleculares e componentes de atividade e participação em pessoas que tiveram AVC.

1.4 LISTA DE TRABALHOS CIENTÍFICOS E ATIVIDADES DESENVOLVIDOS DURANTE O DOUTORADO

1.4.1 Artigos publicados relacionados à tese

García-Salazar, L. F., Ribeiro, J., Cunha, J. E., Mattiello, S. M., & Russo, T. (2021). Serum activity of matrix metalloproteinase-2 and -9 is increased in chronic post-stroke individuals: a cross-sectional exploratory study. *Topics in stroke rehabilitation*, 1–11. <https://doi.org/10.1080/10749357.2021.1956048> (Ver anexo).

1.4.2 Artigos submetidos relacionados à tese

García-Salazar, L. F., Pereira, D. N., Silva, E.S., Ribeiro, J., Ocamoto, G. N., Zambetta, R. M. Oliveira, S. G., Catai, A. M., Borstad, A. & Russo, T. Serum biomarkers changes due to the association of aerobic exercise with modified Constraint-Induced Movement Therapy in chronic post-stroke individuals: preliminary results of a randomized controlled trial. *Topics in stroke rehabilitation*.

1.4.3 Artigos publicados desenvolvidos no LaFiN

García-Salazar, L. F., Ribeiro, J., Saade-Pacheco, C. R., Mattiello, S. M., Catai, A. M., Garcia-Araújo, A. S., & Russo, T. L. (2021). Adiponectin Concentration and Chronic Stroke Individuals, Associations with Body Composition, Physical Activity Levels and Lipid Profile: A Cross-Sectional Explorative Study. *Journal of stroke and cerebrovascular diseases: the official journal of National Stroke Association*, 30(10), 105993. <https://doi.org/10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2021.105993> (Ver anexo).

Alex Matos Ribeiro, J., García-Salazar, L., Regina Saade-Pacheco, C., Shirley Moreira Silva, É., Garcia Oliveira, S., Flávia Silveira, A., Sanches Garcia-Araújo, A., & Luiz Russo, T. (2021). Prognostic molecular markers for motor recovery in acute hemorrhagic stroke: A systematic review. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*, 522, 45–60. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2021.08.006> (Ver anexo).

1.4.4 Artigos submetidos desenvolvidos no LaFiN

Trevisan, C., Garcia-Salazar, L.F., Santos, G.L., Silva, E.S. M. Duarte, N.P., Alouche, S. R., Zambetta, R. M., Marques, L., & Russo, T. Variability of interjoint coordination between elbow and wrist during reaching in chronic hemiparetic individuals: a pilot study. *Topics in Stroke Rehabilitation*

1.4.5 Artigos submetidos desenvolvidos no Gfit Neuro

García-Salazar, L. F., Pacheco, M.M, Alcantara, C.C., Russo, T. L., & Pereira, N. D. Lower Extremity Constraint-Induced Movement Therapy increase variability in the intra-limb coordination during walking in chronic post-stroke individuals. *Clinical Biomechanics*.

1.4.6 Capítulo de Livro

Russo, T.L., Silva, E. S. M., García-Salazar, L. F., & Santos, G. L. Conceito priming aplicado à Fisioterapia Neurofuncional após Acidente Vascular Cerebral. In: Christina Danielli Coelho de Moraes Faria; Hércules Ribeiro Leite. (Org.). Programa de Atualização PROFISIO Fisioterapia Neurofuncional. 1ed.Porto Alegre: Artmed/Panamericana Editora Ltda, 2020, v. 4, p. 11-38. ISBN: 978-65-87335-47-6.

1.4.7 Resumos de participação em congresso publicados

Garcia-Salazar L.F., Ribeiro, J.M., Croti, G. C., Cunha, J.M., & Russo, T. L. (2021) Serum activity of matrix metalloproteinases is altered in chronic post-stroke individuals according to the sensorimotor impairment. P0687. WFNR & SOFMER 2020 - Neurorehabilitation and Neural Repair 1–275. <https://doi.org/10.1177/1545968320988381>

Garcia-Salazar L.F., Faria, L. C., Marques, D. B., Ilha, J., Russo, T. L., & Pereira, N. D. Lower Extremity Constraint-Induced Movement Therapy promotes changes on gait and use of the lower limb in the real environment – a case series. P0863 WFNR & SOFMER 2020 - Neurorehabilitation and Neural Repair 1–275. <https://doi.org/10.1177/1545968320988381>

Morais, B. S., Nogueira, S. L., Russo, T. L., Santos G.L., Garcia-Salazar. L.F., and Montagnoli, A.N. Analysis of Myoelectric Signals to Prosthesis Applications. Congresso Metrologia XIII SEMETRO Seminário Internacional de Metrologia Elétrica -2019. Journal of Physics: Conference Series. 1826 (2021). <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1826/1/012084>.

1.4.8 Participação em projetos de pesquisa

Terapia por contensão induzida protocolo membros inferiores em indivíduos pós-AVC e com lesão medular. Coordenador do projeto: Profa. Dra. Natália Duarte Pereira. Grupo de Funcionalidade e Inovação Tecnológica em Neuroreabilitação (Gfit-Neuro). Universidade Federal de São Carlos, Brasil. Início 2018.

Aplicação da terapia e avaliação da marcha por cinemática (coleta e análises de dados).

Biomarkers related to upper limb function in people who have suffered stroke: A systematic review. PROSPERO 2021 CRD42021274244. Coordenador do projeto: Prof. Dr. José Luiz Tatagiba Lamas. Departamento de enfermagem. Universidade Estadual de Campinas. Brasil. Início 2021.

Colaboração na orientação da condução da revisão. Terceira revisora no processo de inclusão e exclusão dos artigos.

1.4.9 Participação em projetos de extensão

Telesaúde em Fisioterapia Neurofuncional. Coordenador do projeto: Prof. Dr. Thiago Luiz de Russo. Laboratório de Pesquisa em Fisioterapia Neurofuncional. Universidade Federal de São Carlos, Brasil. Início: Agosto 2020. Fim: Dezembro 2020.

Atendimentos online a pacientes com alterações neurológicas. Orientação a estudantes da graduação e participação de seminários estudo de casos.

1.4.10 Participação em congresso, encontros ou simpósios

Garcia-Salazar L.F. Clinical experience of the LE-CIMT protocol in Spinal Cord Injury: biomechanical changes. I International Symposium of Constraint-Induced Movement Therapy. On-line. Janeiro 2022.

Garcia-Salazar L.F., Silva, E. S., Ribeiro, J.M., Oliveira S. G., Zambetta, R. M., Pereira, N. D., & Russo, T. L. Relação entre a força da pinça e o desempenho dos membros superiores no dia a dia de indivíduos hemiparéticos crônicos: estudo exploratório piloto. XIII Congresso Brasileiro de Doenças Cerebrovasculares. On-line. Novembro 2021.

Garcia-Salazar L.F. Concepto Priming como facilitador de los procesos de recuperación funcional después de un ACV. XXVII Congreso Nacional de Fisioterapia. Medellín, Colômbia. On-line. Agosto de 2021.

Cleves-Osorio, M., Garcia-Salazar L.F., Torres-Narvaez, M, Mora-Mera, J., Caicedo-Caicedo, L. M., Bermudez-Hernandez, P.A., Riesgo-Prendes, L. “Desarrollo motor y condición metabólica en niños con riesgo de asfixia perinatal del Hospital Méderi”. XXVI Congreso Nacional de Fisioterapia. Barranquilla, Colômbia. Novembro 2019.

Cleves-Osorio, M., Garcia-Salazar L.F., Cucarian-Hurtado, J. D., Efectos de la terapia dual combinando Toxina Botulínica Tipo A y Electro estimulación Funcional en pacientes con Parálisis Cerebral Espástica. IV Encuentro Nacional de Estudiantes de Fisioterapia y VI Jornada de Semilleros de Investigación en Fisioterapia. Medellín, Colômbia. Novembro 2018.

Silva, E. S., Ocamoto, G. N., Oliveira, S. G., Ribeiro, J. A. M., Garcia-Salazar L. F., & Russo, T. O efeito do exercício aeróbico associado a terapia por contensão induzida

modificada sobre o comprometimento da função sensorial e destreza manual. V Congresso Brasileiro de Fisioterapia Neurofuncional. Florianópolis. Outubro 2018.

1.4.11 Orientações e co-orientações alunos de graduação

Gabrielle Croti. Correlação entre a capacidade de deambulação e a concentração de metaloproteínas de matriz em indivíduos pós-AVC. Trabalho de graduação 2. Orientador: Prof. Dr. Thiago Luiz de Russo. Departamento de Fisioterapia. Universidade Federal de São Carlos. 2018.

Ana Maria Valbuena. Análisis cinemático del miembro superior en sujetos con ACV. Programa de Fisioterapia. Universidad del Rosario. Bogotá, Colômbia. 2018. Intercambio na Universidade Federal de São Carlos. 2018

1.4.12 Participação em bancas de avaliação

Pereira, N.D; Gomez-Cequeira, L. H; Garcia-Salazar, L. F. Tradução e validação do questionário Lower Extremity Motor Function Test (LEMFT) baseada na versão brasileira do manual de aplicação. Estudante: Darlene Barbosa Marques. Trabalho de conclusão de curso 3 Fisioterapia - Universidade Federal de São Carlos. 2021.

Pereira, N.D; Gomez-Cequeira, L. H; Garcia-Salazar, L. F Tradução e validação do questionário lower extremity motor activity log (LEMAL) baseada na versão brasileira do manual de aplicação. Estudante: Lisandra Cristine de Faria. Trabalho de conclusão de curso 3. Fisioterapia - Universidade Federal de São Carlos. 2021.

Russo, T. L.; Oliveira, S. G.; Garcia-Salazar, L. F. Análise das propriedades métricas da plataforma de monitoramento de atividades em reabilitação (MARE) para tempo em inatividade em indivíduos pós acidente vascular cerebral. Estudante: Vitoria Regina Rocha Urruchia. Trabalho de conclusão de curso 3. Fisioterapia - Universidade Federal de São Carlos. 2019.

Russo, T. L.; Alcantara, C. C.; Garcia-Salazar, L. F. Relação entre a resistência passiva ao alongamento e a força de dorsiflexores e flexores plantares após aplicação de crioterapia em indivíduos hemiparéticos espásticos crônicos. Estudante: Lucilene

Oliveira. Trabalho de conclusão de curso 3. Fisioterapia - Universidade Federal de São Carlos. 2018.

1.4.13 Aulas ministradas

Garcia-Salazar, L. F. “Ciclo da marcha normal, senil e patológica”. Aula ministrada aos alunos do Curso de Graduação em Gerontologia e Medicina, na disciplina Aspectos Funcionais do Envelhecimento. Carga horaria: 4 horas. 2021

Garcia-Salazar, L. F. “Avaliação Sensorial para pacientes neurológicos”. Aula ministrada aos alunos do II Curso de Especialização em Fisioterapia Neurofuncional. Carga horaria: 2 horas. 2019.

1.5 LINK DO CURRÍCULO LATTES DO ALUNO E SEU ORCID

Currículo Lattes: <http://lattes.cnpq.br/5857467388927483>

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9804-2089>

1.6 DESCRIÇÃO DA TESE PARA O PÚBLICO LEIGO

Os estudos desenvolvidos nesta tese, investigaram como o comportamento sedentário de pessoas que tiveram AVC (derrame), há mais de 6 meses, está relacionado com moléculas que indicam a presença de inflamação. Além disso, foi investigado como o exercício aeróbio altera essas moléculas, sendo um possível indicador dos benefícios da atividade física para estas pessoas.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 AVC E ATIVIDADE FÍSICA

O AVC é considerado a segunda causa de morte no mundo e a terceira causa de incapacidade em adultos. Desde o ano 1990 tem sido observado um aumento considerável de casos, especificamente nos países de baixa e média renda, sendo registrado no 2019, 12.2 milhões de casos de AVC no mundo (FEIGIN, 2021). Esse aumento não foi apenas devido ao crescimento e envelhecimento da população, mas também devido ao aumento substancial da exposição a vários fatores de risco. No Brasil, tem sido observado um

aumento de casos em adultos jovens, e o AVC é o responsável por 40% das aposentadorias precoces (CABRAL et al., 2017; LOBO et al., 2021). Na Colômbia, segundo dados da Associação Colombiana de Neurologia, são observados aproximadamente 45.000 casos de AVC por ano, sendo considerada a primeira causa de incapacidade na população adulta.

A recuperação sensório-motora destes indivíduos depende de importantes processos biológicos que ocorrem logo após o AVC e que continuam acontecendo, mas em menor intensidade, ao longo do tempo. Os mecanismos de reparo neural sugerem que as mudanças comportamentais mais significativas são observadas na maioria das pessoas, nas primeiras semanas a meses após o AVC, isto significa, na fase aguda e subaguda do AVC (BERNHARDT et al., 2017). A fase aguda é definida como os primeiros 7 dias após o AVC e é antecedida pela fase hiperaguda, ou seja, as primeiras 24 horas após a lesão. A fase subaguda é dividida em precoce, que considerada a primeira semana até os 3 meses, e a tardia, que vai desde os três meses até os 6 meses após o AVC. Finalmente, a fase crônica do AVC é definida como os 6 meses posteriores à lesão (BERNHARDT et al., 2017).

Além das consequências sensório-motoras que alteram a funcionalidade após o AVC, tem sido observado que estes indivíduos são sedentários e permanecem nessa condição mesmo um ano após o AVC (TIEGES et al., 2015). Também apresentam baixo nível de atividade física que tem sido associado a vários fatores como: a capacidade física, depressão, fadiga e a qualidade de vida (THILARAJAH et al., 2018). O comportamento sedentário é definido como qualquer comportamento de vigília caracterizado por um gasto de energia de 1,5 MET ou menos, podendo ser observado em atividades em posturas sentada, reclinada ou deitada, como assistir à TV, ler, conversar, usar o celular e o computador, dirigir, etc. (BULL et al., 2020).

Como medida para identificar este comportamento na fase crônica pós-AVC, os estudos têm utilizado dispositivos como os acelerômetros ou pedômetros, os quais registram o tempo que a pessoa permanece sentada ou deitada, o número de passos e o tempo de deambulação ao dia, a estimativa de gasto energético, etc. (FINI et al., 2017; THILARAJAH et al., 2018; TIEGES et al., 2015). Estes dispositivos tem sido considerados válidos para estas medidas (LEE et al., 2018). Os resultados mostram que os indivíduos pós-AVC permanecem 81% do tempo do dia em comportamentos sedentários (TIEGES et al., 2015). O gasto energético diminui ao aumentar o tempo pós-AVC, sendo descrito na fase subaguda um gasto médio de 2205 kcal/dia e na fase crônica

de 1257 kcal/dia. Entre as fases, também existe uma diferença em relação à média de número de passos por dia. Por exemplo, na fase subaguda os indivíduos dão em média 5535 passos, já na fase crônica 4078, enquanto que nos indivíduos saudáveis, a média de número de passos é de 8338 por dia (FINI et al., 2017).

Assim como nos indivíduos sem história de AVC, o comportamento sedentário ou o baixo nível de atividade física aumenta o risco de complicações cardiovasculares, que podem estar relacionadas a resposta celular endotelial prejudicada e vasodilatação diminuída, que leva a rigidez arterial e aumento do tônus arterial basal (LAVIE et al., 2019; NOSOVA et al., 2014). Estas disfunções endoteliais são resultado da perda do controle de produção e destruição espécies reativas de oxigênio (aumento de estresse oxidativo). Por outro lado, em nível muscular observa-se um aumento de interleucina-6 (IL-6) e de proteína C-reativa (LAVIE et al., 2019), indicando que além da presença de inflamação sistêmica, existem processos de inflamação local decorrentes da baixa atividade física. Além disso, deve-se considerar, durante a fase crônica após o AVC, é ainda observada uma inflamação que poderia estar relacionada à presença de outros fatores de risco comuns nestes indivíduos como a dislipidemia, diabetes mellitus ou hipertensão. Esses fatores de risco também se comportam como estímulos inflamatórios que desencadeiam um conjunto de citocinas pró-inflamatórias (ALEXANDROVA; BOCHEV, 2005).

Por este motivo, torna-se importante avançar em estudos com biomarcadores moleculares que permitam identificar mecanismos relacionados a processos de inflamação nos indivíduos pós-AVC na fase crônica, como por exemplo, as MMPs. As MMP-2 e MMP-9 circulantes tem sido associadas à rigidez arterial, hipertensão sistólica e com instabilidade de placas arterioscleróticas (CHEN et al., 2018; YASMIN et al., 2005), bem como na interferência da regulação da resposta adaptativa do músculo esquelético ao exercício físico (LO PRESTI; HOPPS; CAIMI, 2017).

2.2 AS METALOPROTEINASES DE MATRIZ 2 (MMP-2) E -9 (MMP-9)

As MMPs compreendem uma grande família de endopeptidases dependentes de zinco as quais estão compostas por um propéptido pepitídeo e um domínio catalítico. O propéptido de uma MMP típica tem cerca de 80 aminoácidos e contém a sequência de consenso PRCXXPD. O domínio catalítico contém a sequência HEXXHXXGXXH, que ligam o sítio ativo zinco (GILL; PARKS, 2011). A combinação das possíveis estruturas gera uma família de MMPs, de cerca de 28 proteínas das quais pelo menos 23 são

expressas em tecido humano (CUI; HU; KHALIL, 2017), e podem ser divididas em: colagenases (MMP-1,8 e 13), gelatinases (MMP-2 e 9), estromelinas (MMP-3, 7 e 10), matrilisinas (MMP-7 e 26), MMPs tipo-membrana (MMP-14, 15, 16, 17 e 24), entre outras. Por exemplo, no caso das gelatinases, estas apresentam no seu domínio catalítico três histidinas que não são observadas nas outras proteínas (Para revisão ver: LARONHA; CALDEIRA, 2020).

A função das MMPs está ligada a proteólises da matriz extracelular (MEC), principalmente, na reposição fisiológica normal de proteína sob condições homeostáticas, e a destruição prematura ou excessiva da matriz (i.e. degradação da matriz), como visto tipicamente em condições inflamatórias crônicas, como artropatias, enfisema pulmonar e doença vascular (GILL; PARKS, 2011). A liberação das citocinas inflamatórias ativa várias vias de sinalização, que ao mesmo tempo, vão acionar outras proteínas as quais vão participar de todos mecanismos envolvidos na lesão do tecido, como seria a degradação da MEC por parte das MMPs, a qual vai estar regulada por quatro glicoproteínas (i.e. TIMP-1, 2, 3 e 4) que tem como função a inibição tecidual das MMPs (GILL; PARKS, 2011) (Figura 1).

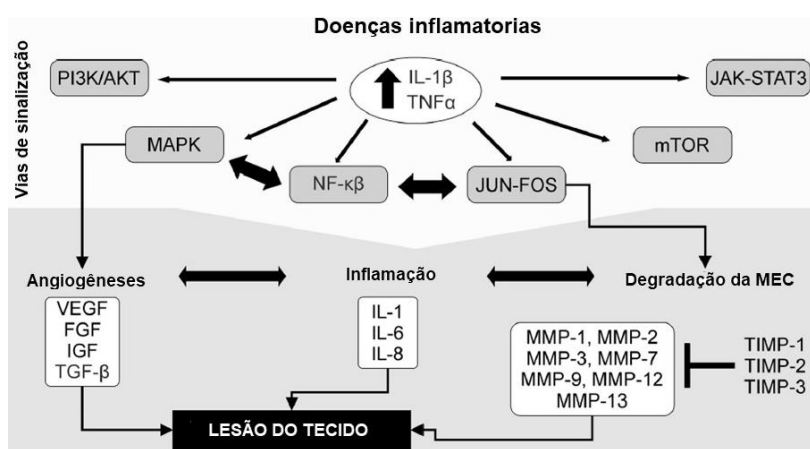


Figura 1. Ativação e função das MMPs em processo inflamatório. MEC: matriz extracelular. Modificado de: CABRAL-PACHECO et al., 2020.

Em relação as lesões no sistema nervoso central, as MMPs também têm um papel importante. Especificamente, a MMP-2 e -9 têm sido associadas aos processos inflamatórios após o AVC (LUCIVERO et al., 2007; ROMI; HELGELAND; GILHUS, 2012), sendo induzidas pelas citocinas, ciclo-oxigenase e o estresse oxidativo participando na abertura da barreira hematoencefálica (BHE) (Figura 2A) (YANG; ROSENBERG, 2015). Um aumento da MMP-2 circulante tem sido observado dentro das primeiras 12 horas após o AVC (LUCIVERO et al., 2007), evidenciando uma participação durante a hipóxia e a ruptura das proteínas da MEC na lâmina basal (CHANG; STANFILL; POURMOTABBED, 2016; YANG; ROSENBERG, 2015). Enquanto o aumento da atividade de MMP-9 é observado depois de 48 horas do início da lesão, pela ação de radicais livres e outras enzimas, induzindo uma segunda abertura da BHE, ainda mais severa (LUCIVERO et al., 2007; YANG; ROSENBERG, 2015). Na fase aguda pós-AVC, o aumento precoce da MMP-2 parece estar relacionado a um melhor prognóstico funcional destes indivíduos, no entanto, o aumento tardio da MMP-9 tem sido associado a maior volume de área infartada ou desenvolvimento de hemorragia intracerebral, e pior resultado funcional (LUCIVERO et al., 2007; ROMI; HELGELAND; GILHUS, 2012).

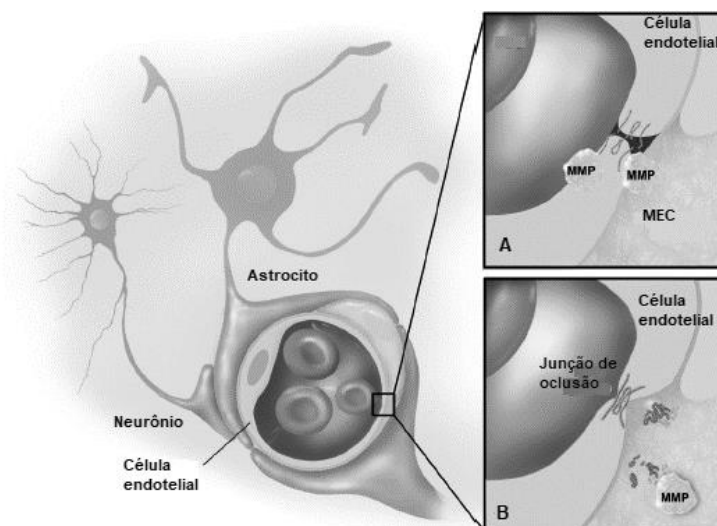


Figura 2. Participação das MMPs após um AVC. **A.** Fase aguda: células endoteliais e leucócitos recrutados secretam MMP-9, que degrada a barreira hematoencefálica, a membrana basal, e a matriz extracelular (MEC). **B.** Fase de remodelamento: os astrócitos e os neurônios secretam MMP-9, que contribui para o remodelamento da MEC na unidade neurovascular. Modificado de: REMPE; HARTZ; BAUER, 2016.

Apesar das MMPs gerarem efeitos prejudiciais logo após o AVC, o aumento das gelatinases, especificamente da MMP-9, durante a fase de recuperação, parece ser benéfica por participar dos processos de neoangiogênese que vão contribuir na reparação neuronal, tanto na sinaptogênese como na neurogênese. A angiogênese requer degradação da membrana basal vascular e remodelamento da MEC (sendo essencial a participação da MMP-9) para permitir que as células epiteliais migrem e invadam o tecido circundante (Figura 2B), além de favorecer a liberação de fatores neurotróficos determinantes para os processos de neurogênese, vasculogênese e angiogênese (Figura 3). A participação da MMP-9 no remodelamento neurovascular nas áreas peri-infarto parece ser evidente entre os 7 e 14 dias após o AVC, quando tem sido observado um aumento desta gelatinase (YANG; ROSENBERG, 2015).

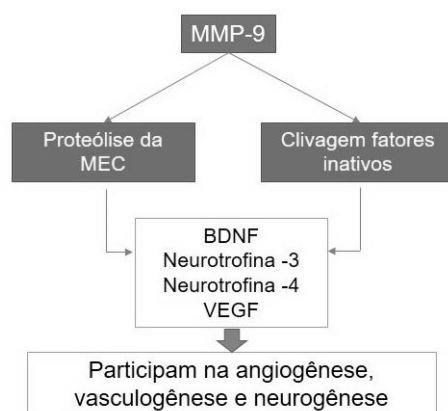


Figura 3. Esquema da função da MMP-9 na fase de recuperação.

Por outro lado, a participação da MMP-2 e -9 nos processos de angiogênese também tem sido associada ao efeito do exercício físico sobre as estruturas vasculares. Um aumento das MMPs circulantes tem sido observada após exercícios de resistência, acompanhada de mudanças na concentração do Fator de Crescimento Endotelial Vascular (VEGF, do inglês: Vascular Endotelial Growth Factor) e liberação de células progenitoras circulantes (LO PRESTI; HOPPS; CAIMI, 2017; ROSS et al., 2014). No entanto, o curso de tempo dessas mudanças é diferente, sendo mais precoce o aumento das MMPs e dos fatores de crescimento angiogênicos, e de forma tardia, o aumento das células progenitoras pode ser observado (ROSS et al., 2014).

A participação das gelatinases nos processos de angiogênese, decorrentes do exercício físico tem sido associada a modificações locais do tecido muscular, mas também em nível sanguíneo. Particularmente, o aumento da MMP-9 parece ser parte de uma

reação sistêmica ao exercício extenuante agudo, enquanto a expressão da MMP-2 ocorre mais tardiamente após o exercício e deve estar envolvida na adaptação do tecido muscular à carga (LO PRESTI; HOPPS; CAIMI, 2017).

Além disso, é importante considerar que a resposta das gelatinases parece depender da intensidade do exercício. Alguns autores dos estudos incluídos na revisão de Lo Presti e colaboradores (2017) sugeriram que exercícios realizados em bicicleta em intensidade submáxima podem não ser eficazes para as mudanças nas concentrações de MMP-9 no sangue, assim como programas de caminhada a intensidades de 60-65% da frequência cardíaca de reserva. Ainda, segundo os diferentes estudos, a resposta das MMPs ao exercício depende também do tipo e do nível de atividade física dos indivíduos (LO PRESTI; HOPPS; CAIMI, 2017).

Apesar dos efeitos das MMPs no remodelamento vascular, desencadeados pelo exercício físico, suportarem os benefícios do exercício físico em populações outras que não o AVC, como nos indivíduos com insuficiência cardíaca crônica (GATTA et al., 2012), até o momento, não foi estudada a atividade das MMPs nestes indivíduos em fase crônica. Vários biomarcadores foram estudados na fase aguda do AVC, incluindo as gelatinases, para compreender todos os sistemas implicados no processo inflamatório ou de reparo após a lesão (GANDOLFI et al., 2017; RAMIRO et al., 2018). Porém, menos atenção tem sido direcionada ao comportamento desses biomarcadores na fase crônica e sua possível associação com a condição funcional ou o nível de atividade física destes indivíduos, e o efeito de uma intervenção com EA nestas proteínas. Essas informações permitiriam identificar a presença ou não de processos inflamatórios, os quais poderiam influenciar na resposta à reabilitação, ou ainda, o controle desses processos inflamatórios serem considerados como o objetivo de reabilitação, para assim melhorar as condições sistêmicas desta população as quais poderiam agravar as limitações funcionais desta população.

2.3 EXERCÍCIO AERÓBIO E AVC

Assim como nos indivíduos saudáveis, a realização de exercício físico como estratégia de prevenção de complicações cardiovasculares, tem sido recomendada em pacientes pós-AVC (BILLINGER et al., 2014). Ademais, a inclusão de EA nos programas de reabilitação também pode favorecer a recuperação motora e ameniza alterações cognitivas e emocionais nesta população (BILLINGER et al., 2014). Neste último caso, o benefício do EA tem sido associado ao aumento significativo do Fator Neurotrófico

Derivado do Cérebro (BDNF, do seu nome em inglês *Brain Derived Neurotrophic Factor*), do VEGF e do fator de crescimento semelhante à insulina 1 (IGF-1, do seu nome em inglês *Insulin-like Growth Factor 1*) (LIMAYE; CARVALHO; KRAMER, 2021), biomarcadores associados à neuroplasticidade e aos mecanismos homeostáticos logo após o AVC, auxiliando no equilíbrio entre a excitação e a inibição dos neurônios da área lesada (MURPHY; CORBETT, 2009; REGEHR; CAREY; BEST, 2009). Por exemplo, o estudo de El-Tamawy e colaboradores (2014) demonstrou uma melhora nas funções cognitivas, acompanhada por um aumento nos níveis séricos de BDNF, além de ser observada uma correlação positiva entre estas duas variáveis, após 8 semanas de treinamento em ciclo ergômetro, em indivíduos pós-AVC.

A regulação do BDNF após o exercício parece estar mediada por outros fatores, como por exemplo, a liberação da miocina Irisina. O exercício aumenta a sinalização de cálcio no músculo esquelético e ativa posteriormente vários fatores de transcrição, como o coativador-1 α (PGC1- α), que participa na plasticidade muscular e supressão das respostas inflamatórias ligadas ao exercício. O PGC1- α aumenta a expressão da Fibronectina tipo III com a proteína 5 (FNDC5), que é clivada proteoliticamente e secretada no sangue como Irisina (MAAK et al., 2021; PEDERSEN, 2019). Esta miocina, participa na modulação do metabolismo energético através da transformação do tecido adiposo branco em marrom (*browning*). Sua função como potencial indutor do BDNF, surge quando é indicado que a circulação de FNDC5 até o fígado através de vetores adenovirais, aumenta a concentração de Irisina no sangue que, posteriormente, atravessa a barreira hematoencefálica para induzir a expressão de BDNF no hipocampo (HUBERMAN et al., 2021; MAAK et al., 2021; PEDERSEN, 2019).

Por outro lado, Hsu e colaboradores (2021) concluíram que um treinamento de EA de alta intensidade e intervalado (cinco intervalos de 3 minutos a 80% do VO_{2pico} , cada intervalo separado por 3 minutos de exercício a 40% do VO_{2pico}) induziu a um maior aumento do VO_{2pico} e das concentrações séricas de BDNF em pacientes com AVC crônico, em comparação com um treinamento contínuo de intensidade moderada (60% do VO_{2pico}), indicando que a regulação da concentração de BDNF poderia depender da intensidade do exercício. Neste mesmo sentido, outros estudos têm observado que são necessárias intensidades altas de exercício para aumentar a expressão de neurotrofinas que favorecem o reparo neural, sendo o treino de alta-intensidade e intervalado mais eficaz para induzir benefícios mais pronunciados após o AVC (CROZIER et al., 2018; LIMAYE; CARVALHO; KRAMER, 2021). De acordo com isso, a intensidade

recomendada para os indivíduos pós-AVC é um treinamento intervalado (4 em 4 minutos) alternando faixas de moderada/alta intensidade (75-90% FC de reserva) com períodos de recuperação em intensidades moderadas (60% da FC de reserva) (BILLINGER et al., 2014; MEZZANI et al., 2013)

No entanto, tem sido proposto que para obter efeitos mais significativos e duradouros sobre a recuperação motora ou a funcionalidade destes indivíduos, o exercício aeróbico deveria estar acompanhado de uma prática motora orientada à tarefa, consistente com a mudança comportamental desejada (MANG et al., 2013). Neste caso, o EA serviria como *priming* do sistema nervoso central, para favorecer os processos de neuroplasticidade que subjazem à mudança de comportamento desejada (p.e. aquisição e retenção de habilidades motoras). Esta teoria descreve que o cérebro, ao passar por algum método prévio de ativação, tornar-se mais responsivo ao treinamento motor, criando uma espécie de janela terapêutica (STOYKOV; MADHAVAN, 2015), isto estaria relacionado, por exemplo, dentre outros mecanismos, com o aumento de BDNF após o EA. Haveria então a facilitação processos neuroplásticos, pela ativação de cascatas moleculares de sinalização, que modulam os potenciais de longo prazo e a depressão de longo prazo, os quais são indispensáveis para a recuperação e a aprendizagem motora (PURVES et al., 2004).

Neste sentido, Linder e colaboradores (2017) observaram que o treino orientado à tarefa (TOT) posterior ao EA forçado e de alta intensidade em indivíduos pós-AVC é uma estratégia eficaz para a aumentar a recuperação motora do membro superior mais afetado (parético). O treino aeróbico (cicloergômetro de membros inferiores reclinado; 45 minutos; frequência cardíaca (FC) alvo entre 60% e 80% da FC de reserva, com cadência forçada similar ao teste de esforço cardiorrespiratório), realizado 3 vezes por semana durante 8 semanas, associado a 45 minutos de TOT reduziu o comprometimento sensório-motor do membro superior, quando comparado a os grupos que realizaram apenas o TOT ou o treino aeróbico de forma auto selecionada. Em um estudo posterior, Linder e colaboradores (2019) constaram que a intensidade do EA prévio ao treino motor é um importante parâmetro para potencializar processos de aprendizagem. No entanto, apesar de ambos os estudos acrescentarem evidencia sobre o EA como *priming* nos indivíduos pós-AVC, ainda não foi correlacionada a melhora na coordenação motora grossa e fina do membro superior parético de pessoas na fase crônica do pós-AVC, com as mudanças nas concentrações de biomarcadores moleculares como relacionados com os processos de recuperação ou de aprendizado como as MMPs, o BDNF e a Irisina.

O TOT é estruturado a partir da prática de tarefas funcionais, ou parte delas, dentro de um contexto ambiental que permita a correção (feedback) e progressão. Dentre as técnicas usadas, a Terapia por Contensão Induzida (TCI) apresenta alta evidência científica para a recuperação funcional do membro superior parético no pós-AVC (WINSTEIN et al., 2016). A TCI tem como objetivo proporcionar ao indivíduo maior uso funcional do membro superior mais afetado. Está baseada nos princípios do TOT e considera os pilares de treino intensivo, com grande número de repetições, a inclusão de estratégias comportamentais, como diários de tarefas e avaliações diárias, além da contensão do membro superior menos afetado (MORRIS; TAUB, 2001; TAUB et al., 1993). A versão modificada da TCI (TCIm) recomenda que o indivíduo realize 3 horas diárias de exercícios tarefa específica (*shaping* e *tasking*) e 90% do dia de contensão do membro durante 2 semanas (5 dias por semana). Este protocolo tem evidenciado melhora na função do membro superior durante as atividades da vida diária, na quantidade e na qualidade do uso do membro superior mais afetado de indivíduos pós-AVC (CORBETTA et al., 2015).

Contudo, mais estudos ainda são necessários para compreender se a eficácia da TCIm na recuperação de membros superiores poderia ser potencializada pelo uso do EA como um *priming* à técnica. Além, de estabelecer se a associação destas estratégias de reabilitação com curta duração (por exemplo, duas semanas de intervenção segundo protocolo da TCI) seriam eficazes para os indivíduos pós-AVC em fase crônica, os quais apresentam diferentes condições de plasticidade neural em comparação com as fases aguda e subaguda. Além disso, compreender os possíveis mecanismos moleculares relacionados à mudança comportamental é necessário para sugerir possíveis combinações terapêuticas, como, por exemplo, a associação de fármacos à reabilitação.

Diante desta perspectiva, essa tese investigou a atividade das MMP-2 e MMP-9 em indivíduos pós-AVC em fase crônica, e sua possível relação com variáveis de atividade física, composição corporal, capacidade funcional e com outros biomarcadores inflamatórios como TNF α , IL-6, IL-1 β , IL-10; além de medir, se o exercício aeróbio associado à TCIm, modificaria a atividade destas gelatinases, e sua possível relação com a recuperação do membro superior mais afetado nestes indivíduos. Também indagamos se as modificações de outros biomarcadores como o BDNF e Irisina poderiam acontecer, como descrito pelo conceito *priming*.

3 OBJETIVOS DA PESQUISA

3.1 OBJETIVO GERAL

Investigar a associação da atividade sérica das metaloproteinases de matriz -2 e -9 com o nível de atividade física e o efeito do exercício aeróbico em indivíduos pós-AVC em fase crônica.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Quantificar a atividade sérica das metaloproteinases de matriz -2 e -9;
- Associar a atividade das metaloproteinases de matriz -2 e -9 com:
 - a. O nível de atividade física;
 - b. A capacidade funcional e testes de caminhada;
 - c. A composição corporal;
 - d. Biomarcadores metabólicos e inflamatórios tais como TNF α , IL-6, IL-1 β , IL-10.
- Quantificar a atividade sérica das metaloproteinases de matriz -2 e -9 segundo o comprometimento sensório-motor.
- Avaliar as modificações da atividade das metaloproteinases de matriz -2 e -9 após uma intervenção de duas semanas de EA de alta intensidade e intervalado, associado a TCI modificada (TCIm).
- Avaliar as modificações das concentrações de BDNF e Irisina após uma intervenção de duas semanas de EA de alta intensidade e intervalado, associado TCIm.
- Associar as modificações da atividade das metaloproteinases de matriz -2 e -9 após a intervenção com:
 - a. A concentração de BDNF e Irisina após a intervenção;
 - b. A destreza manual após a intervenção;
 - c. A capacidade funcional após a intervenção;
- Associar as modificações na concentração de BDNF e Irisina após a intervenção com
 - a. A destreza manual após a intervenção;
 - b. A capacidade funcional após a intervenção.

4 ARTIGOS

4.1 ARTIGO 1 – ESTUDO PILOTO EXPLORATÓRIO

A atividade sérica das metaloproteinases de matriz -2 e -9 está aumentada em indivíduos pós-AVC em fase crônica: um estudo transversal exploratório

Luisa Fernanda García-Salazar^{1,2}, MSc; Jean Alex Matos Ribeiro¹, MSc; Jonathan Emanuel Cunha¹, PhD ; Stella Marcia Matiello¹, PhD; Thiago Luiz Russo¹, PhD

¹ Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), Departamento de Fisioterapia, São Carlos, Brasil.

² Universidad del Rosario, Escuela de Medicina y Ciencias de la Salud, Grupo de investigación Ciencias de la Rehabilitación, Bogotá, Colombia.

Artigo publicado em Topics in stroke rehabilitation, 2021. (Ver anexo)

<https://doi.org/10.1080/10749357.2021.1956048>

RESUMO

Introdução: Altas concentrações das metaloproteinases da matriz -2 (MMP-2) e -9 (MMP-9) estão associadas à inflamação logo após o AVC. Na fase crônica, o aumento de algumas citocinas está relacionado à presença de comorbidades nesses indivíduos. Além disso, algumas características como o comprometimento sensório-motor, a atrofia e o sedentarismo predis põem o sistema a uma resposta inflamatória. **Objetivo:** Quantificar a atividade sérica da MMP-2 e -9 em indivíduos pós-AVC na fase crônica, e correlacioná-la com variáveis de atividade física, composição corporal, capacidade funcional e com biomarcadores inflamatórios. Além disso, a atividade das gelatinases foi caracterizada de acordo com o comprometimento motor. **Métodos:** Quatorze pacientes com evento de AVC > 6 meses e sete indivíduos saudáveis foram incluídos neste estudo. A avaliação clínica incluiu: composição corporal medida pelo analisador de impedância bioelétrica; Escala de Fugl-Meyer; teste de caminhada de seis minutos e dez metros, e nível de atividade física avaliado pelo StepWatch® Activity Monitor. Amostras de sangue foram coletadas da veia antecubital e a atividade sérica da MMP-2 e -9 foi analisada através da técnica zimografia, e os biomarcadores TNF α , IL-6, IL-1 β , IL-10 usando kits de ELISA. **Resultados:** Indivíduos crônicos pós-AVC apresentaram atividade aumentada da MMP-2 e -9 em comparação com indivíduos saudáveis. Foram observadas correlações positivas com o tempo e o número de passos em baixa cadência. Já em cadência média, estas correlações foram negativas, assim como no pico do índice de atividade. De acordo com o comprometimento motor, a atividade da MMP-2 está aumentada no grupo leve a moderado em comparação com o grupo controle. **Conclusão:** A atividade aumentada da MMP-2 e da MMP-9 em indivíduos pós-AVC, em fase crônica, pode descrever um processo inflamatório relacionado à capacidade limitada de caminhar em altas intensidades.

Palavras-chave: biomarcadores, acidente vascular cerebral, atividade física, comprometimento sensório-motor, inflamação crônica.

INTRODUÇÃO

As metaloproteinases de matriz (MMPs) são uma família de endopeptidases dependentes de zinco que promovem a degradação e a síntese de proteínas da matriz extracelular (MEC). Entre uma das categorias deste tipo de enzimas estão a metaloproteinase de matriz -2 (MMP-2) e a metaloproteinase de matriz -9 (MMP-9) (YANG; ROSENBERG, 2015). Na circulação sanguínea, altas concentrações dessas gelatinases estão associadas ao processo inflamatório observado logo após o acidente vascular cerebral (AVC) (ROMI; HELGELAND; GILHUS, 2012; ZHONG et al., 2017). A ativação da MMP-2 começa durante a hipóxia cerebral e participa da ruptura das proteínas da MEC na lâmina basal, e degrada as proteínas da junção de oclusão (*tight junction proteins*) (CHANG; STANFILL; POURMOTABBED, 2016; YANG; ROSENBERG, 2015). Por outro lado, as enzimas induzíveis da MMP-9, que normalmente são mantidas inativas, tornam-se ativas pela ação de radicais livres e outras enzimas, e geram a abertura da barreira hematoencefálica (BHE). Esta gelatinase degrada a matriz neurovascular, promovendo neuroinflamação e edema vasogênico, incluindo a ativação de várias outras citocinas pró-inflamatórias e quimiocinas como a interleucina (IL) -1 e o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) na fase aguda do pós-AVC (CHANG; STANFILL; POURMOTABBED, 2016; YANG; ROSENBERG, 2015).

Tem sido proposto, que durante a fase crônica após o AVC, é ainda observada uma inflamação que poderia estar relacionada à presença de fatores de risco como dislipidemia, diabetes mellitus ou hipertensão. Esses fatores de risco se comportam como estímulos inflamatórios que desencadeiam um conjunto de citocinas que, ao mesmo tempo, favorecem a ativação de radicais livres (ALEXANDROVA; BOCHEV, 2005; PÉREZ FERNÁNDEZ; KASKI, 2002). Dentre essas citocinas, tem sido observado que a IL-10 apresenta uma expressão baixa em indivíduos crônicos pós-AVC em comparação com indivíduos sem história de AVC, o que aumenta a possibilidade de desenvolver placas ateroscleróticas (ALEXANDROVA; BOCHEV, 2005). Além disso, tem sido observado um aumento nos níveis de TNF- α , associado a elevação de leucócitos (ALEXANDROVA; BOCHEV, 2005; BRUUNSGAARD et al., 2000); e uma modificação oxidativa das lipoproteínas de baixa densidade (LDL) sendo considerada como um dos mecanismos de estresse oxidativo presente na fase crônica após o AVC (ALEXANDROVA; BOCHEV, 2005). No entanto, ainda há uma lacuna em relação ao papel da MMP-2 e da MMP-9 circulantes na fase crônica e sua possível relação com esses biomarcadores.

Por outro lado, as deficiências sensório-motoras, bem como a baixa capacidade de suportar esforço físico, predisõem os indivíduos pós-AVC crônicos a diminuição da sua funcionalidade restringindo sua atividade física e, portanto, levando-os a um estilo de vida sedentário (TIEGES et al., 2015). Diferentes biomarcadores, como a IL-10 e a IL-6, tem sido associados com a piora da atrofia muscular; e com sarcopenia, no caso da MMP-2 (DRUMMOND et al., 2013; GANDOLFI et al., 2017); condições que poderiam estar relacionadas ao comportamento sedentário, e que podem ser consideradas como fatores influenciadores da inflamação sistêmica presente nestes indivíduos. Além disso, em diferentes populações, tem sido relatado que a resposta adaptativa do músculo esquelético ao exercício regular poderia ser intercedida pela expressão da MMP-2, considerada como um marcador de processos homeostáticos, e pela atividade da MMP-9, como marcador de inflamação (LO PRESTI; HOPPS; CAIMI, 2017).

Portanto, vários biomarcadores foram estudados na fase aguda do AVC, para compreender todos os sistemas implicados no processo inflamatório ou de reparo após a lesão (GANDOLFI et al., 2017; RAMIRO et al., 2018). Porém, menos atenção tem sido direcionada ao comportamento desses marcadores na fase crônica e sua possível associação com a condição funcional ou musculoesquelética desses indivíduos. Essas informações permitiriam identificar a presença ou não de processos inflamatórios, os quais poderiam influenciar na resposta à reabilitação. Por esse motivo, este estudo teve como objetivo quantificar a atividade sérica da MMP-2 e da MMP-9 em indivíduos com hemiparesia crônica, bem como correlacioná-la com variáveis de atividade física, capacidade funcional, composição corporal e outros biomarcadores inflamatórios. Como segundo objetivo, este estudo descreve as atividades séricas dessas MMPs de acordo com o grau de comprometimento motor, de indivíduos pós-AVC crônicos. As hipóteses deste estudo foram as seguintes: 1) A atividade da MMP-2 e -9 é maior em indivíduos pós-AVC do que em controles; e 2) maior atividade de MMP-2 e -9 está relacionada a menor nível de atividade física e piores perfis lipídicos e inflamatórios.

METODOLOGIA

Este estudo transversal foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de São Carlos (Parecer nº 1.873.512), que está de acordo com a Declaração de Helsinque e a Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde. Todos os procedimentos foram explicados aos participantes antes da assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. A Declaração STROBE foi considerada para relatar esta pesquisa.

População de estudo

Indivíduos pós-AVC com hemiparesia crônica (tempo pós-AVC > 6 meses) foram recrutados na comunidade local de julho de 2017 a junho de 2018. Os participantes foram incluídos se: 1) tivessem uma tomografia computadorizada ou ressonância magnética que confirmasse o diagnóstico de AVC; 2) idade entre 40 e 80 anos; 3) ausência de déficits cognitivos segundo o Mini-Exame do Estado Mental (BRUCKI et al., 2003; FOLSTEIN; FOLSTEIN; MCHUGH, 1975); e 4) que foram classificados como deambuladores independentes segundo a Classificação Funcional de Ambulação (HOLDEN et al., 1984; KOLLEN; KWAKKEL; LINDEMAN, 2006). Os critérios de exclusão foram os seguintes: doença crônica não controlada, como por exemplo, hipertensão, doença cardiovascular e/ou metabólica, arritmia; cirurgia cardíaca ou infarto do miocárdio prévio, uso de betabloqueadores, fumantes ativos ou passivos, consumidores regulares de bebidas alcoólicas, participar em programa regular de atividade física, exercícios físicos e/ou qualquer outro tipo de intervenção nos últimos 3 meses.

Ao mesmo tempo, indivíduos saudáveis foram recrutados na comunidade local com os mesmos critérios de exclusão dos indivíduos pós-AVC, e participaram de todas as avaliações deste estudo.

Coleta e armazenamento de sangue

Os participantes foram convidados a comparecer a um laboratório de análises clínicas para exames de sangue. As coletas de sangue foram realizadas sempre no período da manhã entre as 7 e 10 horas da manhã. O sangue foi coletado da veia antecubital do braço menos afetado, com sistema de vácuo utilizando tubo estéril S-Monovette® de 4ml com gel de éster poliacrílico. Para a obtenção do soro, as amostras permaneceram por 30 minutos em temperatura ambiente para permitir a coagulação. Posteriormente, as amostras de sangue foram centrifugadas a 3.000 rpm por 10 minutos na centrífuga Inbras® modelo ALB 50 CS e o soro armazenado a -20°C.

Análises enzimática das MMPs

As concentrações séricas das MMPs foram analisadas utilizando a técnica de zimografia, que é considerada como a técnica predominante para este tipo de análise, por ser um método simples, sensível, quantitativo e funcional para as atividades proteolíticas (KUPAI et al., 2010; LUCIVERO et al., 2007). O seguinte protocolo foi adaptado de Pinheiro-Dardis & Russo (2017). As amostras foram colocadas em géis com uma concentração de 8% de Tris-

Glycine, BisAcrilamida, SDS e 100mg/ml de gelatina. A eletroforese durou duas horas, começando com 80v durante 15 minutos e o tempo restante a 100v. Após o processo de separação de proteínas, foram realizadas duas lavagens de 15 minutos cada, com 2,5% de solução de Triton® X-100. Em seguida, os géis foram incubados em um tampão de substrato (50 mM Tris-HCl, pH 8,5, 5 mM CaCl₂ e 0,02% NaN₃) por 20 horas a uma temperatura de 37°.

Após a incubação, a coloração foi realizada com Coomassie Brilliant Blue R-250 (0,25%), isopropanol e ácido acético por 30 minutos e a descoloração com 10% de metanol e ácido acético por 2 horas (WALIA; SAMUELS, 2018). Finalmente, a MMP-9 e a MMP-2 foram identificadas de acordo com o peso molecular de 92 kDa e 72 kDa, respectivamente. Posteriormente, as imagens dos géis foram adquiridas com o gerador de imagens ChemiDoc™ MP usando um tempo de exposição de 30 segundos, seguindo o protocolo de “coloração Coomassie Blue” do programa BioRad's Image Lab™ versão 5.1. O volume das faixas com subtração de fundo foi usado para a quantificação da densidade. O tamanho da área ao redor da faixa a ser considerada para quantificação foi estabelecido de acordo com a faixa maior observada nos géis, e este mesmo tamanho foi usado para medir todas as amostras. Cada atividade das gelatinases foi conduzida em triplicata e a média foi usada para a análise.

Biomarcadores inflamatórios

Um kit de Imunoensaio de Imunoabsorção Enzimática altamente sensível (ELISA) foi usado para quantificar a concentração sérica dos biomarcadores inflamatórios: TNF α , IL-6, IL-1 β , IL-10 (Invitrogen, Camarillo, CA, EUA). Todas as etapas foram concluídas de acordo com as instruções de cada kit ELISA. Cada reação foi conduzida em duplicata e a média foi usada para a análise.

As análises do soro (zimografia e ELISA) foram feitas por um pesquisador independente e cego dos dados clínicos dos indivíduos incluídos no estudo.

Avaliação clínica

Os participantes foram convidados a comparecer ao laboratório em dois momentos distintos. Inicialmente, foi realizada uma avaliação, que incluiu coleta de dados pessoais e dos dados clínicos do AVC (tempo pós-AVC e lado da lesão), classificação da deficiência motora usando a Escala de Avaliação Motora Fugl-Meyer (FMA) (Leve-moderado: \geq 85 pontos; Marcante-severo: $<$ 85 pontos) (GLADSTONE; DANELLS; BLACK, 2002; MAKI et al., 2006), e aplicação dos testes de caminhada funcional e posicionamento do monitor de atividade.

Nove dias depois, os participantes retornaram ao laboratório para remover o monitor de atividades e avaliar a composição corporal.

Capacidade funcional e testes de caminhada

A capacidade funcional e a velocidade da caminhada foram medidas pelo teste de caminhada de seis minutos (TC6m) e pelo teste de caminhada de dez metros (TC10M) entre as 14 e 18 horas. O TC6m foi realizado de acordo com os procedimentos e recomendações da American Thoracic Society (BROOKS; SOLWAY, 2003). Os indivíduos foram instruídos a caminhar o máximo que pudessem durante 6 minutos a uma velocidade de caminhada rápida, ao longo de um corredor interno de 30 metros e a distância percorrida em metros foi registrada para a análise. O TC10M foi realizado três vezes em uma velocidade de caminhada rápida e confortável, ao longo de um corredor interno de 14 metros (2 metros de aceleração, 10 metros de distância cronometrada e 2 metros de desaceleração) (NASCIMENTO et al., 2012; SALBACH et al., 2001). O tempo médio das três tentativas foi considerado para análise. Um único fisioterapeuta com experiência em testes funcionais realizou tanto TC6m quanto o TC10M.

Avaliação da atividade física

O nível de atividade física foi medido pelo Monitor de Atividades StepWatch® (SAM, Modus Health, Washington, D.C., EUA (MACKO et al., 2002; MUDGE; STOTT; WALT, 2007). O SAM foi calibrado e colocado no tornozelo do lado menos comprometido dos participantes. Os participantes foram instruídos a usar o SAM por 9 dias, retirando-o para dormir, nadar e tomar banho. Os participantes receberam uma folha de instruções com informações detalhadas sobre os cuidados e o uso do SAM. Para as análises, foram considerados 7 dias, excluindo o primeiro e o último dia de uso. As variáveis analisadas do dispositivo foram: 1) média de passos/dia; 2) porcentagem de tempo em inatividade (0 passos/min); 3) porcentagem de tempo em atividade em cadências baixa (1-15 passos/min), média (16-40 passos/min) e Alta (> 40 passos/min); 4) porcentagem de passos em cadências baixa, média e alta; 4) Pico do índice de atividade (passos/min): taxa média de passos por 30 minutos não consecutivos em alta cadência ao longo de 1 dia (taxa de caminhada).

Composição corporal

A composição do corpo foi medida por um analisador de impedância bioelétrica (InBody® 720, InBody Co., Ltd., Seul, Coréia), que tem excelente concordância com a

absorciometria de raios-x de dupla energia (LING et al., 2011). O protocolo de medição foi realizado de acordo com as diretrizes do fabricante e, para a análise, foram consideradas como variáveis: massa magra, massa de gordura corporal, massa livre de gordura, massa muscular esquelética.

Análise estatística

A normalidade e homogeneidade da distribuição dos dados foram verificadas usando o teste Shapiro-Wilk e Levene, respectivamente. O teste Mann-Whitney U foi usado para as variáveis contínuas (dados clínicos, demográficos, composição corporal, capacidade funcional, atividade física, expressões de TFN α , IL-6, IL-10, IL-1 β , colesterol, HDL, LDL e triglicérides), o teste Qui-quadrado para o gênero, e o Teste t independente para os dados distribuídos com normalidade (MMP-2 e -9), a fim de determinar se havia uma diferença estatisticamente significativa entre os grupos pós-AVC e controle. Por outro lado, utilizamos o teste ANOVA unidirecional com pós-teste Tukey para investigar as diferenças estatísticas entre os grupos pós-AVC (leve-moderada e marcante-severo) e o grupo de controle para a idade, e para atividade do MMP-2 e -9.

O coeficiente de correlação Spearman foi usado para avaliar se existem associações bivariadas entre biomarcadores, composição corporal, nível de atividade física e lipídios no grupo pós-AVC. 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]) (MUNRO, 2001). Utilizamos o bootstrap viés-corregido e acelerado (BCa) com 10.000 réplicas para estimar um intervalo de confiança de 95% (CI₉₅). A estimativa CI₉₅, zero excluída, foi considerada estatisticamente significativa no nível de 5% (FIELD, 2018). Todas as análises foram bicaudais e realizadas com um nível de significância alfa de 5%. Todos os testes estatísticos foram realizados utilizando o software SPSS versão 26.0 (SPSS Inc, Chicago, IL, USA).

O tamanho da amostra foi calculado utilizando a atividade da MMP-9 e da MMP-2 dos cinco primeiros indivíduos de cada grupo. Para estes indivíduos, a média da atividade da MMP-2 foi de 1.694.148 (\pm 355.261,72) e 530.251 (\pm 173.230,89) para o grupo AVC e o controle, respectivamente. Para a atividade da MMP-9, a média do grupo AVC foi de 1.176.984 (\pm 256.671,27) e do grupo controle 388.647 (\pm 109.015,74). O tamanho total da amostra calculado foi de 8 indivíduos (quatro indivíduos para cada grupo), o que proporcionou um poder de 0,95 e um nível alfa de 0,05.

Posteriormente no final do experimento, o *poder* do teste para a atividade da MMP-2 e da MMP-9, para o grupo pós-AVC (n=14) vs. grupo controle (n=7) foi verificada pós-hoc com

um teste t independente. Para a MMP-2, o poder ($1-\beta$) foi 0,72 com nível alfa = 0,05 e tamanho do efeito = 1,24. Para a MMP-9, o $1-\beta$ foi de 0,99 com nível alfa = 0,05 e tamanho do efeito = 2,77. Os cálculos do tamanho da amostra e do *poder* do teste foram realizados com o software G*Power 3.1.9.2 (Universidade de Kiel, Alemanha).

RESULTADOS

Características da população de estudo

Para este estudo, foi incluída uma amostragem de conveniência de 14 indivíduos pós-AVC em fase crônica e um grupo controle de 7 indivíduos com idade e índice de massa corporal (IMC) semelhantes aos indivíduos pós-AVC. As principais características dos pacientes e dos controles estão resumidas na Tabela 1. Como esperado, ambos os grupos diferiram no teste de caminhada, mostrando que o grupo pós-AVC tinha capacidade de funcional reduzida. Além disso, estes indivíduos tinham baixa concentração de IL-6 e alta expressão de triglicerídeos em comparação com o grupo controle (para ter um contexto adicional destes resultados, ver Material Suplementar ao final do artigo, Figura S1).

Tabela 1. Principais características dos pacientes e do grupo controle

	Pós-AVC (n=14)	Controle (n=7)	P
<i>Dados clínicos e demográficos</i>			
Sexo (F/M)	6/8	4/3	0,537
Idade (anos)	63 (7)	53 (15)	0,057
Tipo de AVC (isquêmico/hemorragico)	13/1	NA	NA
Lado da lesão (esquerda/direita)	10/4	NA	
Tempo pós-AVC (meses)	24 (33)	NA	NA
EFM	82,5 (66,25)	NA	NA
IMC (kg/m ²)	28,40 (6,90)	28,80 (2,50)	0,606
Massa de gordura corporal (kg)	27,60 (15,25)	28,70 (10,50)	0,968
Massa magra (kg)	44,55 (10,50)	43,30 (13,80)	0,606
Massa livre de gordura (kg)	47 (11,20)	46 (14,30)	0,606
Massa muscular esquelética (kg)	25,80 (7,15)	25,30 (8,80)	0,476
<i>Capacidade funcional</i>			
TC10Mc (m/s)	0,95 (0,62)	1,3 (0,40)	0,005
TC10Mr (m/s)	1,14 (0,82)	2,07 (0,54)	0,001
TC6m (m)	330 (274,20)	564 (135,05)	0,001
<i>Atividade física</i>			

Passos por dia (número)	3806 (1751)	5242 (2689)	0,086
Tempo de inatividade (%)	74 (11,58)	70,05 (6,51)	0,296
Tempo em baixa cadência (%)	75,39 (14,33)	72,08 (6,98)	0,296
Tempo em média cadência (%)	23,16 (9,76)	26,05 (3,95)	0,136
Tempo em alta cadência (%)	0,42 (4,87)	1,77 (2,94)	0,156
Passos em baixa cadência (%)	43,84 (26,54)	38,94 (5,30)	0,233
Passos em média cadência (%)	44,28 (16,19)	52,46 (6,75)	0,233
Passos em alta cadência (%)	1,72 (17,47)	7,02 (6,67)	0,296
Pico de índice de atividade (passos/min)	29,60 (17,10)	35,60 (6,90)	0,073
<i>Dados bioquímicos e laboratoriais</i>			
TNF α (pg/mL)	2,6 (0,9)	2,87 (0,75)	0,205
IL-6 (pg/mL)	0,29 (0,1)	0,39 (0,09)	0,009
IL-10 (pg/mL)	0,78 (0,09)	0,84 (0,11)	0,278
IL-1B (pg/mL)	0,97 (0,1)	0,94 (0,03)	0,332
Colesterol (mg/dL)	180 (42)	176 (97)	0,881
HDL (mg/dL)	47 (14)	52 (97)	0,067
LDL (mg/dL)	100 (27)	110 (83)	0,765
Triglicérides (mg/dL)	125 (54)	77 (18)	0,005

F: feminino. M: masculino. EFM: Escala Fugl-Meyer. TC10Mc: teste de caminhada de 10 metros a velocidade confortável. TC10Mf: teste de caminhada de 10 metros a velocidade rápida. TC6m: Teste de caminhada de 6 minutos. TNF α : fator de necrose tumoral alfa. IL-6: Interleucina 6. IL-1B: Interleucina 1-Beta. IL-10: Interleucina 10. HDL: Lipoproteínas de alta densidade. LDL: Lipoproteínas de baixa densidade. Valor do *P* da comparação de grupos utilizando o teste Mann-Whitney. Dados expressos como número de contagem para gênero, tipo de AVC e lado lesado. Dados expressos como mediana e intervalo interquartil para o resto das variáveis. Inativo (0 passos/min), baixa cadência (1-15 passos/min), média cadência (16-40 passos/min) e alta cadência (> 40 passos/min).

Diferença na atividade das MMPs entre o grupo pós-AVC crônicos e o grupo controle

Como mostrado na Figura 1, foram observadas duas bandas principais representativas da atividade da MMP-9 (95 kDa) e da MMP-2 (72 kDa). Os indivíduos pós-AVC mostraram um aumento significativo nas atividades da MMP-2 ($p = 0,029$) e da MMP-9 ($p < 0,001$) em comparação com o grupo de controle (Figura 1).

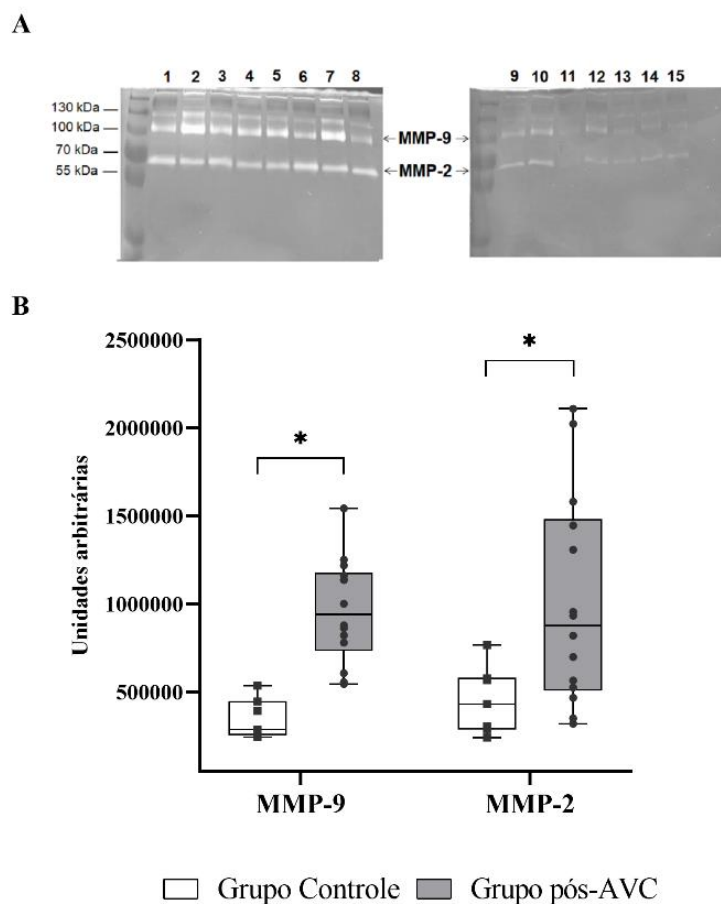


Figura 4. Atividade da MMP-9 e da MMP-2 em indivíduos pós-AVC crônico ($n = 14$) e grupo controle ($n = 7$). **A.** Imagem representativa de zimografia de gelatina da atividade sérica da MMP-9 e da MMP-2. Padrão de peso molecular: Thermo Scientific™ PageRuler™ Plus Protein Ladder (Thermo Fischer Scientific Inc., Waltham, MA, US). Poços 1 e 3, indivíduos pós-AVC com deficiência motora marcante-severa, Poços 4-6, indivíduos pós-AVC com deficiência motora leve a moderada. Poços 2, 7-8, dados não incluídos na análise. Poços 9-15, indivíduos não afetados por acidente vascular cerebral. Observe a maior atividade das MMPs no gel do grupo pós-AVC. Alguns complexos de MMP-9 são detectados na banda de 130 kDa. **B.** Comparação da atividade total da MMP-9 e da MMP-2. Dados mostrados em mediana. Cada atividade de gelatinase foi conduzida em triplicata e a média foi usada para análise. * valor de $p < 0,05$ da comparação dos grupos usando o Teste t independente.

Relação entre as gelatinases e os biomarcadores inflamatórios em indivíduos pós-ACV crônicos

Não foram observadas correlações estatisticamente significativas entre as MMP-2 e -9, e os outros biomarcadores inflamatórios (Tabela 2).

Tabela 2. Correlações de Spearman das MMPs com biomarcadores inflamatórios em indivíduos crônicos pós-AVC (n=14).

	TNFα	IL-6	IL-1β	IL-10
MMP-9	-0,262	-0,139	-0,455	-0,103
MMP-2	-0,187	-0,508	0,356	-0,042

Nota: Não houve relação estatisticamente significativa entre as variáveis analisadas ($p > 0,05$). MMP-2: Metaloproteinase da matriz -2. MMP-9: Metaloproteinase da matriz -9. TNF α : fator de necrose tumoral alfa. IL-6: Interleucina 6. IL-1B: Interleucina 1Beta. IL-10: Interleucina 10.

Relação dos biomarcadores com a composição corporal e os lípídeos em indivíduos pós-ACV crônicos

As MMPs não foram significativamente correlacionadas com quaisquer variáveis de composição corporal e lípídeos ($p > 0,05$). Da mesma forma, não foram observadas relações do TNF α e da IL-10 com estas variáveis ($p > 0,05$). No entanto, o nível de IL-6 foi inversamente relacionado com a massa de gordura corporal ($r_s = -0,615$; $p = 0,025$), e o biomarcador pró-inflamatório IL-1 β , apresentou uma correlação positiva estatisticamente significativa com a LDL ($r_s = 0,543$; $p = 0,045$) (Tabela 3) (ver Material Suplementar ao final do artigo, Figura S2).

Tabela 3. Correlações de Spearman dos biomarcadores com a composição corporal e os lípídeos em indivíduos crônicos pós-AVC (n=14).

	Massa de gordura corporal	Massa magra	Massa livre de gordura	Massa muscular esquelética	Colesterol	HDL	LDL	Triglicérides
MMP-9	-0,324	-0,523	-0,527	-0,493	0,059	0,172	-0,064	-0,187
MMP-2	0,060	-0,006	-0,027	-0,092	0,143	-0,163	0,235	0,174
TNFα	-0,220	-0,003	-0,011	0,078	0,099	-0,020	-0,042	-0,002
IL-6	-0,615*	-0,135	-0,146	-0,175	-0,011	-0,207	-0,135	0,305
IL-10	-0,278	0,218	0,198	0,228	0,051	-0,281	0,125	0,048
IL-1β	0,201	0,423	0,415	0,353	0,381	-0,001	0,543*	0,062

MMP-2: Metaloproteinase da matriz -2. MMP-9: Metaloproteinase da matriz -9. TNF α : fator de necrose tumoral alfa. IL-6: Interleucina 6. IL-1B: Interleucina 1Beta. IL-10: Interleucina 10. HDL: Lipoproteínas de alta densidade. LDL: Lipoproteínas de baixa densidade. * $p < 0,05$.

Relação dos biomarcadores com o nível de atividade física e os testes de capacidade funcional em indivíduos pós-AVC crônicos

A atividade da MMP-9 teve uma correlação positiva com o tempo e o número de em baixa cadência ($r_s = 0,723$; $p = 0,003$; $r_s = 0,785$; $p = 0,001$, respectivamente). Foi observada

uma relação negativa com o tempo e os passos em média cadência ($r_s = -0,714$; $p = 0,004$; $r_s = -0,701$; $p = 0,005$, respectivamente), e com o pico de índice de atividade ($r_s = -0,691$; $p = 0,006$) (Tabela 4) (ver Material Suplementar ao final do artigo, Figura S3). Por outro lado, a MMP-2 não apresentou relação com nenhuma variável ($p > 0,05$). No entanto, a IL-10 teve uma correlação positiva significativa com o tempo em inatividade ($r_s = 0,625$; $p = 0,017$) e negativa com o número de passos ($r_s = -0,618$; $p = 0,018$) (Tabela 4) (ver Material Suplementar ao final do artigo, Figura S4). Nenhuma outra relação estatisticamente significativa foi observada ($p > 0,05$).

Tabela 4. Correlações de Spearman das MMPs com testes funcionais e nível de atividade física em indivíduos crônicos pós-AVC (n=14).

	Número de passos	Tempo de inatividade	Tempo em baixa cadência	Tempo em média cadência	Tempo em alta cadência	Passos em baixa cadência	Passos em média cadência	Passos em alta cadência	Pico do índice de atividade	TC6m	TC10Mc	TC10Mr
MMP-9	-0,371	0,138	0,723*	-0,714*	-0,236	0,785*	-0,701*	-0,249	-0,691*	-0,455	-0,467	-0,518
MMP-2	-0,046	0,033	0,068	-0,218	0,457	0,064	-0,371	0,444	0,044	0,029	-0,063	0,014
TNFα	0,218	-0,213	-0,112	0,341	-0,126	-0,244	0,292	-0,099	0,004	-0,020	0,102	0,042
IL-6	-0,305	0,263	0,062	0,088	-0,222	-0,035	0,117	-0,177	-0,218	-0,163	-0,053	-0,203
IL-10	-0,618*	0,625*	-0,015	-0,004	0,102	0,055	-0,220	0,144	-0,252	-0,018	-0,044	-0,089
IL-1β	0,376	-0,191	-0,484	0,416	0,214	-0,473	0,334	0,219	0,471	0,409	0,376	0,432

MMP-2: Metaloproteinase da matriz -2. MMP-9: Metaloproteinase da matriz -9. TNF α : fator de necrose tumoral alfa. IL-6: Interleucina 6, IL-1B: Interleucina 1Beta. IL-10: Interleucina 10, TC10Mc: teste de caminhada de 10 metros a velocidade confortável. TC10Mr: teste de caminhada de 10 metros a velocidade rápida. TC6m: Teste de caminhada de 6 minutos. Inativo (0 passos/min), baixa cadência (1-15 passos/min), média cadência (16-40 passos/min) e alta cadência (> 40 passos/min). * $p < 0,05$.

Diferença entre os indivíduos pós-AVC crônicos, considerando o comprometimento motor e o grupo de controle

De acordo com a EFM, os indivíduos pós-AVC foram classificados em dois grupos (n=7/grupo): comprometimento motor leve-moderado e marcante-severo a com uma mediana de 97 (IQR 4) e 31 (IQR 52), respectivamente. Cada grupo tinha 3 mulheres e 4 homens; idade média de 61,85 (± 9) e 63 ($\pm 9,5$) anos, e uma mediana de tempo pós-AVC de 24 (IQR 33) e 60 (IQR 163) meses para o grupo leve-moderado e marcante-severo, respectivamente. As diferenças entre os grupo pós-AVC no tempo pós-AVC ($p = 0,084$) e idade (incluindo também o grupo de controle) ($p = 0,145$) não foram estatisticamente significativas ($p > 0,05$).

Considerando esta classificação, a atividade da MMP-9 estava aumentada tanto no grupo leve-moderado ($p = 0,001$) como no grupo marcante-severo ($n = 7/\text{grupo}$) ($p < 0,001$) em comparação com o grupo de controle, mas sem diferença entre eles ($p = 0,890$). A atividade da MMP-2 estava aumentada no grupo de leve-moderado em comparação com o grupo de controle ($p = 0,018$) (Figura 2). Nenhuma outra diferença foi observada para esta gelatinase ($p > 0,05$).

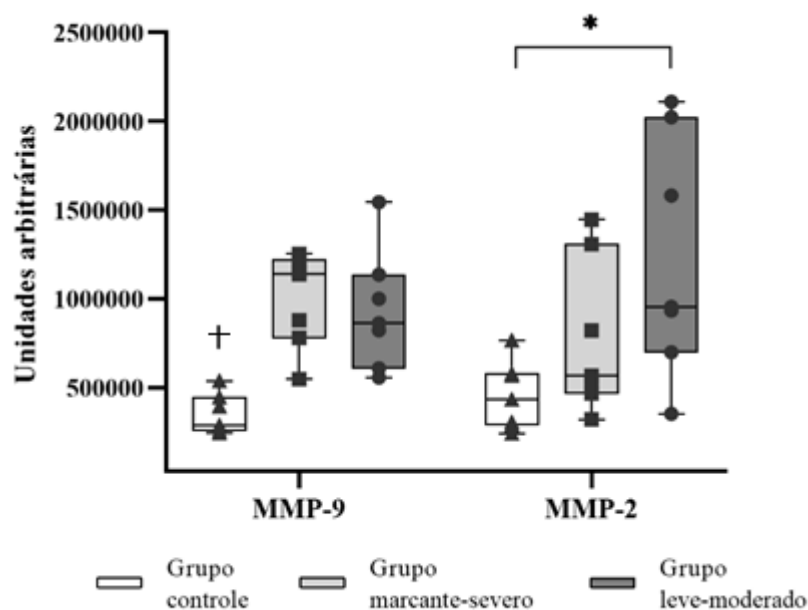


Figura 5. Comparação da atividade total da MMP-9 e da MMP-2 entre indivíduos pós-AVC crônicos classificados de acordo com o comprometimento motor e grupo controle (n = 7 / grupo). Dados mostrados em mediana. Cada atividade de gelatinase foi conduzida em triplicata e a média foi usada para análise. † valor $p < 0,05$ da comparação do grupo controle com os grupos pós-AVC leve-moderado e marcante-severo usando ANOVA de uma via com teste post hoc de Tukey. * Valor de $p < 0,05$ da comparação do grupo de controle com o grupo pós-AVC leve a moderado usando ANOVA de uma via com o teste post hoc de Tukey.

DISCUSSÃO

Embora a participação da MMP-2 e -9 nos processos inflamatórios e a associação com o prognóstico funcional após o AVC sejam bem conhecidas (LI et al., 2013; LUCIVERO et al., 2007; ZHONG et al., 2017), até onde sabemos, este é o primeiro estudo exploratório que caracterizou essas gelatinases na fase crônica em indivíduos pós-AVC. De acordo com nossos resultados, esta população apresenta atividade aumentada da MMP-2 e -9 quando comparada a um grupo controle.

Pode-se especular que esse aumento da atividade em estágios crônicos pode ser decorrente de mecanismos inflamatórios devido à ativação de vias específicas para gelatinases, ligadas a condições cardiovasculares. A MMP-2 e MMP-9 circulante tem sido associada a rigidez arterial, hipertensão sistólica (YASMIN et al., 2005) e com instabilidade da placa arteriosclerótica (CHEN et al., 2018); condições que são considerados preditores de doenças cardiovasculares, e inclusive, de AVC recorrentes (ZHANG et al., 2021; ZHOU; KOU, 2019).

Deste modo, é possível que o aumento da atividade das MMPs observada neste estudo, esteja relacionado a condições cardiovasculares semelhantes. No entanto, embora nossos critérios de exclusão controlassem as alterações cardiovasculares que poderiam gerar esse aumento na atividade das gelatinases, e considerando que o AVC é uma doença neurológica cuja fisiopatologia se sobrepõe à função cardiovascular, uma explicação plausível é que algumas condições arteriais, como a rigidez arterial, permanecem em estádios crônicos e aumenta a atividade das MMPs. Um estudo prévio, observou que indivíduos pós-AVC apresentavam velocidade sustentada elevada da onda de pulso carotídeo-femoral, medida padrão da rigidez arterial, após exercício aeróbio, e os autores sugeriram que isso se deve a um desequilíbrio autonômico apresentado nesta população (NOGUCHI et al., 2021). Estudos futuros com amostras maiores poderiam ser desenhados, considerando outros fatores além dos funcionais e moleculares, como espessura da artéria carótida, formas de onda da artéria radial, função cardíaca e influência autonômica, para um maior entendimento da relação das condições cardiovasculares com a atividade das MMPs nestes indivíduos.

Neste estudo, observamos que a maior atividade da MMP-9 foi positivamente correlacionada com a caminhada na vida cotidiana em baixa cadência e negativamente correlacionada com média cadência e o pico de índice de atividade. Considerando que a população investigada neste estudo está de acordo com a literatura (NASCIMENTO et al., 2015), mostrando baixa cadência de caminhada e capacidade limitada de deambulação avaliada pelos testes TC10Mc, TC10Mr e TC6m, pode-se hipotetizar que a limitação de caminhar a intensidades maiores e longas distâncias, pode estar relacionada ao perfil inflamatório

observado pela atividade da MMP-9. Nesta linha, um estudo anterior mostrou que o gasto energético da caminhada estava positivamente associado à baixa cadência em indivíduos crônicos pós-AVC (RIBEIRO et al., 2019). Juntando os dois resultados, pode-se especular que a caminhada em baixa cadência não é apenas um indicador da aptidão cardiorrespiratória de indivíduos pós-AVC crônico, mas também de alguns processos inflamatórios paralelos a essa condição. Isto reforça a necessidade de encontrar estratégias multicomponentes para melhorar os parâmetros da caminhada e, portanto, ajudar a prevenir condições deletérias nos diversos sistemas corporais.

Investigações anteriores revelaram que o exercício modula a atividade da MMP-2 e da MMP-9 na circulação sanguínea em diferentes populações, mas também que sua resposta depende do tipo de exercício, intensidade e até mesmo do nível de atividade física do indivíduo (LO PRESTI; HOPPS; CAIMI, 2017). No entanto, nesse estudo observaram que, apesar das diferenças nas metodologias de cada um dos estudos, diminuição da atividade da MMP-9 é observada após o exercício aeróbio regular. Assim, para indivíduos pós-AVC crônicos, esta resposta inflamatória mediada por gelatinases poderia ser regulada por uma mudança em seu nível de atividade física ou talvez até promover um aumento na cadência durante a caminhada (ou seja, para cadência média de acordo com nossos resultados). Em contrapartida, considerando que não foram observadas correlações para a atividade da MMP-2, é possível que a regulação dessa gelatinase aconteça de outra forma ou que sua alta atividade esteja relacionada a outros mecanismos. Esses resultados contrastantes estão de acordo com a literatura anterior, que mostrou uma tendência mais clara para reduzir a MMP-9 como uma consequência do exercício em comparação com MMP-2 (LO PRESTI; HOPPS; CAIMI, 2017). Considerando que a população investigada neste estudo é constituída por indivíduos sedentários, estudos futuros devem avaliar a atividade das MMPs em indivíduos pós-AVC crônicos com diferentes níveis de atividade física para verificar nossa hipótese.

Em nossa análise por grupos de acordo com a alteração motora, não foram observadas diferenças entre os grupos nem para MMP-9 nem para MMP-2. No entanto, o grupo com comprometimento motor leve a moderado apresentou maior atividade de MMP-2 em comparação ao grupo controle. Embora os grupos leve-moderado e marcante-severo tenham apresentado uma quantidade semelhante de passos por dia, o grupo leve-moderado caminhou em uma intensidade maior do que o marcante-severo (ver Material Suplementar ao final do artigo, Tabela S1). Foi descrito que as MMP-2 e -9 circulantes são pensadas para modular a ativação de fatores de crescimento, citocinas e angiogênese em resposta a carga muscular (LO PRESTI; HOPPS; CAIMI, 2017; URSO et al., 2009). Portanto, é possível que, para o grupo de

comprometimento leve a moderado, o aumento da atividade de MMP-2 esteja relacionado a características musculares crônicas, incluindo fraqueza muscular esquelética (ALAMEDDINE, 2012; LI et al., 2013) e pequenos ciclos de remodelamento muscular de acordo com o estresse físico durante as atividades diárias.

Em resumo, parece que nos indivíduos pós-AVC crônico, cada resposta da atividade das gelatinases ocorre de maneira diferente dependendo da intensidade da caminhada, sugerindo que intensidades mais altas podem estar inversamente associadas com a MMP-9, mas a direção da relação com MMP -2 pode ser dependente da intensidade da dose. Esta resposta específica de cada gelatinase pode ser devido à sua participação em processos diferenciados (ou seja, metabólico ou inflamatório) após a atividade física, conforme relatado em estudos anteriores (LO PRESTI; HOPPS; CAIMI, 2017). Como suporte adicional das hipóteses aqui apresentadas, sobre a relação entre o aumento da atividade das MMPs, o nível de atividade física e a presença de um processo inflamatório, não foram observadas correlações relevantes para o grupo de controle em todas as variáveis do estudo (ver Material Suplementar ao final do artigo, Tabelas S2-S4).

Em relação às associações de atividade das MMPs e outros biomarcadores, e composição corporal ou perfis lipídicos, nenhuma correlação significativa foi observada. No entanto, maior concentração da IL-10 foi associada a variáveis de duração da caminhada, com menos passos em baixa cadência e maior tempo de inatividade. Se considerarmos o sedentarismo em indivíduos crônicos pós-AVC, a IL-10 poderia estar regulando alguns processos inflamatórios pela via TWEAK/Fn-14, que têm sido relacionada à inflamação e fibrose em doenças cardiovasculares (MÉNDEZ-BARBERO et al., 2020). Por outro lado, correlações moderadas foram encontradas entre IL-6 e massa de gordura corporal e entre IL-1 β e LDL. Embora este estudo tenha controlado a inclusão de pessoas com distúrbios metabólicos, os indivíduos pós-AVC crônicos apresentaram níveis mais elevados de triglicerídeos em comparação aos controles; e a IL-6 e a IL-1 β têm sido relacionadas à síndrome metabólico, resistência à insulina e dislipidemia (PETERSEN; PEDERSEN, 2005; SADASHIV et al., 2015).

Como limitação deste estudo, podemos apontar que o número de indivíduos incluídos neste estudo talvez não tenha sido suficiente para observar algumas relações entre a MMP-2 e as demais variáveis que poderiam facilitar sua interpretação. Porém, foi demonstrado que a atividade dessa gelatinase parece estar relacionada ao comprometimento motor, sendo este um potencial alvo de estudo para pesquisas futuras. De acordo com as características demográficas dos nossos grupos, eles poderiam apresentar potencial diferença de idade (Tabela 1; $p = 0,057$)

sendo o grupo com AVC mais velho. Após o AVC ainda na fase aguda, as concentrações de MMP-2 e -9 tem sido influenciadas pela idade (KREISEL et al., 2016), além disso, sua atividade tem sido relacionada a mudanças estruturais na vasculatura em decorrência do envelhecimento (KNOX, 2018); no entanto, após verificado em análises posteriores, esse parâmetro não interferiu em nossos resultados. Por outro lado, dentro do estudo, excluímos indivíduos com comorbidades que pudessem distorcer nossos resultados ou que pudessem atuar como variáveis de confusão, porém é importante destacar que a maioria da população pós-AVC crônico apresentam essas características clínicas, portanto, nossos resultados devem ser interpretados com cautela. Para confirmar algumas das hipóteses geradas neste estudo, estudos futuros podem considerar: 1) variáveis diretamente relacionadas às alterações arteriais; 2) inibidores das MMPs (por exemplo, o TIMP); 3) a, a fim de fortalecer nossos resultados, e considerar variáveis que têm uma relação direta com as MMPs, como idade, massa muscular, comorbidades, deficiência motora, intensidade da caminhada (DE SOUSA NETO et al., 2018; LIU et al., 2010).

No entanto, este estudo mostra um ponto importante para a prática clínica. Atualmente, atenção considerável é dada aos biomarcadores que podem ser usados como um prognóstico de recuperação após o AVC nos estágios agudos e até mesmo a resposta de algumas MMPs aos processos de reabilitação (MA et al., 2016; ZHONG et al., 2017). Neste estudo, mostramos que indivíduos pós-AVC crônicos podem apresentar processo inflamatório relacionado ao aumento da atividade das gelatinases em resposta as características cardiovasculares e musculares que podem depender do nível de atividade física ou intensidade durante a caminhada. Assim, em cenários de reabilitação clínica, é possível considerar que as terapias que visam aumentar a cadência da caminhada em ambientes da vida real podem controlar a atividade da MMP-9 e, portanto, reduzir o risco de outras alterações cardiovasculares, como um AVC recorrente. O treinamento resistido tem sido sugerido como um método para controlar o remodelamento vascular associada à idade, através da regulação da atividade das MMPs (KNOX, 2018), portanto, esse tipo de exercício pode ser considerado nessa população em abordagens terapêuticas. Porém, aparentemente, a escolha da carga e intensidade de treinamento é uma questão importante para modular a atividade dessas gelatinases. Estudos futuros são necessários sobre os mecanismos fisiológicos ou o efeito do exercício sobre esses marcadores em indivíduos pós-AVC crônicos.

CONCLUSÃO

Indivíduos pós-AVC em fase crônica apresentam maior atividade da MMP-2 e da MMP-9 do que controles saudáveis. A atividade das MMPs não foi correlacionada com outros

biomarcadores inflamatórios e com um perfil lipídico, no entanto, parâmetros de caminhada da vida cotidiana de cadência média foram associados com menor atividade da MMP-9, sugerindo um possível mecanismo regulador de uma resposta inflamatória que pode estar relacionada a condições cardiovasculares ou características musculares.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Audrey Borghi-Silva (PhD) por compartilhar sua infraestrutura laboratorial, o que possibilitou incluir variáveis importantes neste estudo.

FINANCIAMIENTO

Este estudo foi financiado pelos Órgãos de Financiamento do Governo Brasileiro: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES sob o Código de Bolsa 001; Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo - FAPESP com sob o processo 2017/13655-6; Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq sob o processo 442972 / 2014-8; Programa Convênio Alunos de Pós-Graduação - PEC-PG, do CNPq sob o processo 190413 / 2017-4.

MATERIAL SUPLEMENTAR

FIGURAS

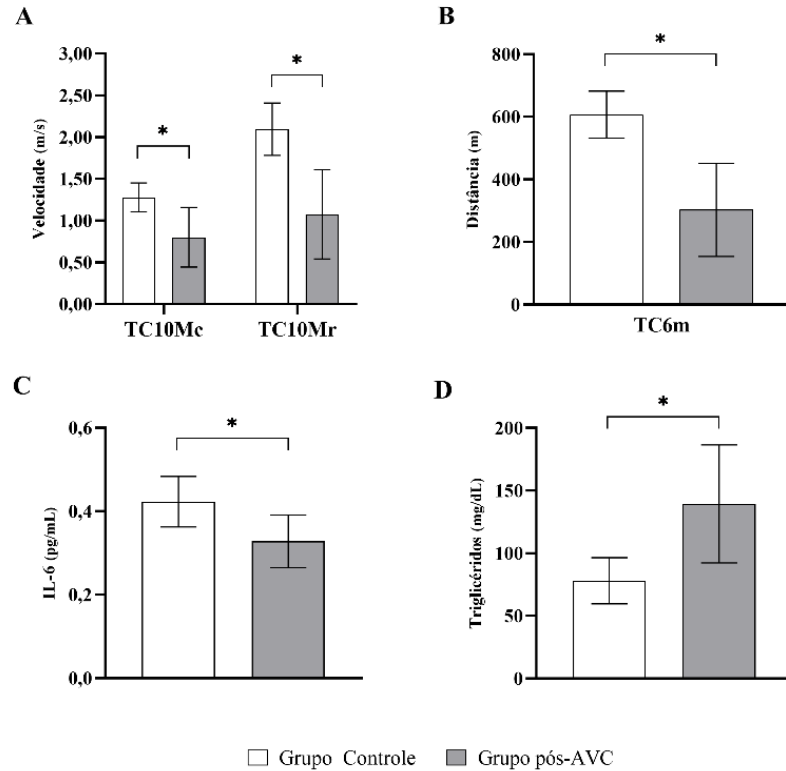


Figura S1. Diferença estatisticamente significativa nos dados entre os pacientes pós-AVC crônico ($n = 14$) e o grupo controle ($n = 7$) para as características principais. **A.** Diferenças para o Teste de Caminhada de Dez Metros realizado em uma velocidade de caminhada confortável e em uma velocidade de caminhada rápida. **B.** Diferença para o Teste de Caminhada de Seis Minutos realizado em uma velocidade de caminhada rápida. **C.** Diferença para a IL-6. **D.** Diferença para triglicérides. TC10Mc: Teste de caminhada de dez metros em uma velocidade de caminhada confortável. TC10Mr: Teste de caminhada de dez metros em uma velocidade de caminhada rápida. TC6m: caminhada de seis minutos. IL-6: Interleucina 6. Dados apresentados em média e desvio padrão. * Valor de $p < 0,05$ da comparação dos grupos pelo teste de Mann-Whitney.

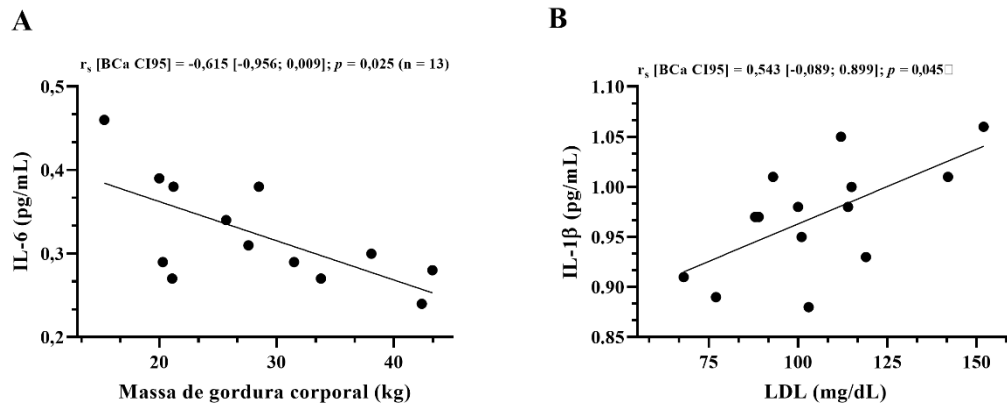


Figura S2. Resultado estatisticamente significativo na relação de alguns biomarcadores inflamatórios com variáveis de composição corporal e LDL em indivíduos pós-AVC crônicos. IL-6: Interleucina 6. IL-1 β : Interleucina 1 Beta. LDL: Lipoproteína de baixa densidade. BCa: Viés corrigido. CI95: intervalo de confiança de 95%. r_s : coeficiente de correlação de posto de Spearman.

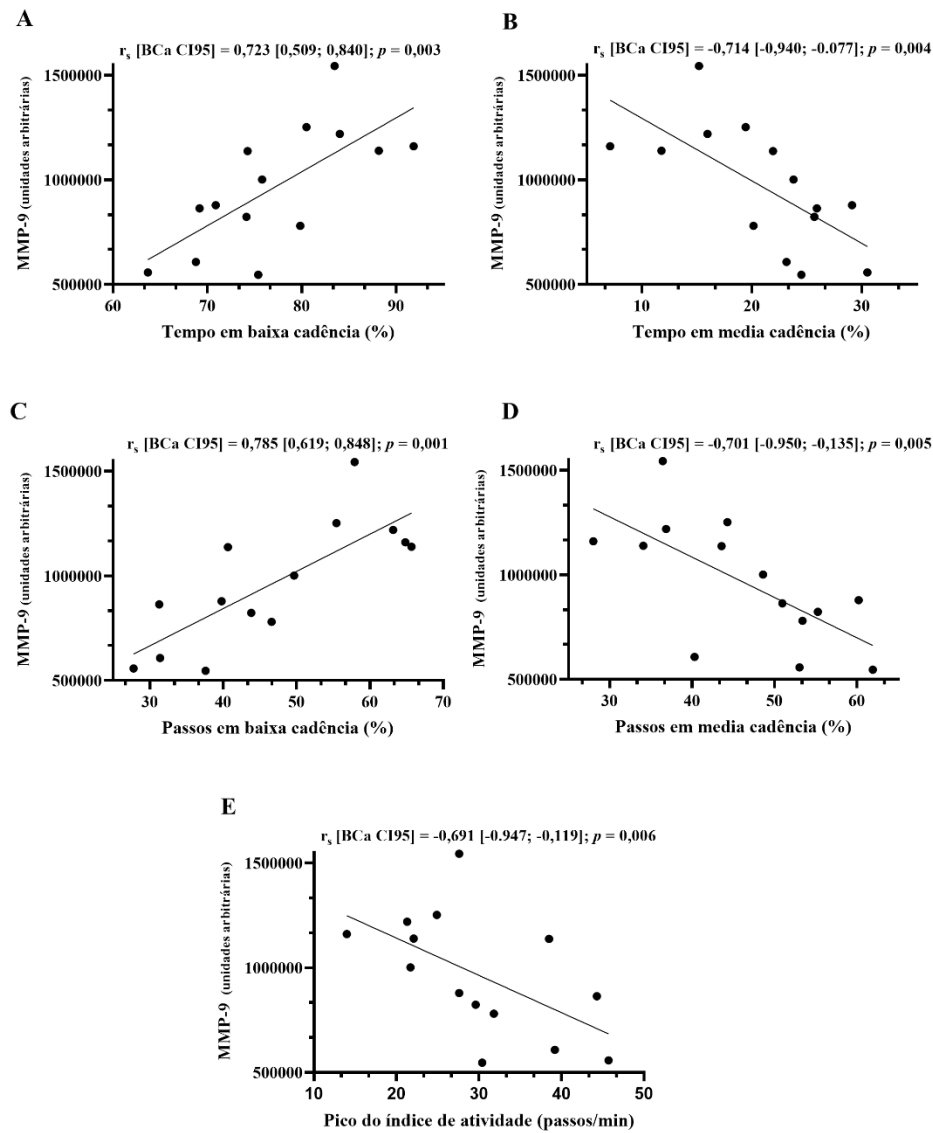


Figura S3. Resultado estatisticamente significativo na relação da MMP-9 com as variáveis do nível de atividade física em indivíduos pós-AVC crônicos. Baixa cadência (1-15 passos / min), media cadência (16-40 passos / min) e alta cadência (> 40 passos / min). BCa: Viés corrigido; CI95: intervalo de confiança de 95%. r_s : coeficiente de correlação de posto de Spearman.

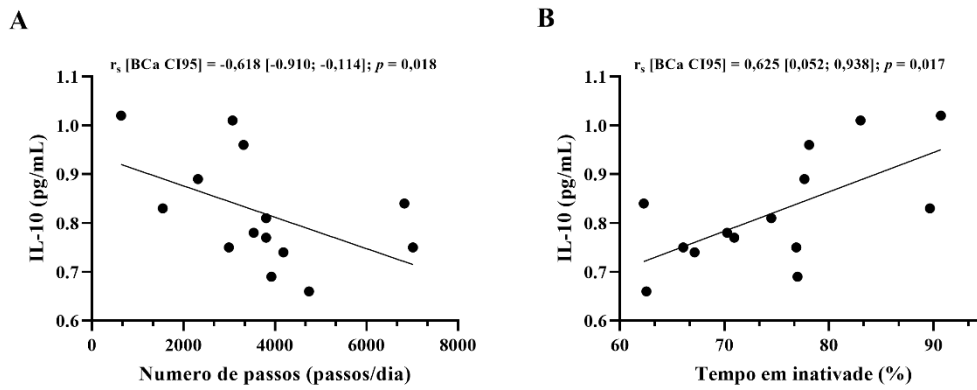


Figura S4. Achado estatisticamente significativo na relação de um biomarcador inflamatório com variáveis do nível de atividade física em indivíduos crônicos pós-AVC. IL-10: Interleucina 10. BCa: Viés corrigido. CI95: intervalo de confiança de 95%. r_s : coeficiente de correlação de posto de Spearman.

TABELAS

Tabela S1. Nível de atividade física de indivíduos pós-AVC crônicos de acordo com comprometimento sensório-motor e controles

	Grupo leve-moderado (n=7)	Grupo marcante-severo (n=7)	Controle (n=7)	<i>p</i>
Passos por dia (número)	3808 (3833)	3536 (1865)	5242 (2682)	0,175
Tempo de inatividade (%)	76,87 (16,95)	70,92 (10,95)	70,05 (6,51)	0,561
Tempo em baixa cadência (%)	74,13 (7,02)	80,50 (12,78)	72,08 (6,98)	0,068
Tempo em média cadência (%)	23,79 (3,98)	19,44 (12,71)	26,05 (3,95)	0,143
Tempo em alta cadência (%)	3,81 (5,38)	0,040 (0,11)*†	1,77 (2,94)	0,003
Passos em baixa cadência (%)	40,65 (18,39)	55,44 (25,04)	38,94 (5,30)	0,111
Passos em média cadência (%)	48,60 (12,72)	44,28 (26,12)	52,46 (6,75)	0,490
Passos em alta cadência (%)	15,77 (17,46)	0,23 (0,48) *†	7,02 (6,67)	0,006
Pico do índice de atividade (passos/min)	38,50 (16,70)	24,90 (9,10)*	35,60 (6,90)	0,018

Dados expressos em mediana e intervalo interquartil, valor de *p*: diferenças entre os grupos usando o teste de Kuskall-Wallis, *valor de *p* < 0,01 da comparação do grupo marcante-severo com o grupo controle usando o teste de Mann-Whitney, † valor de *p* < 0,01 da comparação do grupo marcante-severo com o grupo leve-moderado usando o teste de Mann-Whitney, Inativo (0 passos / min), baixa cadência (1-15 passos / min), média cadência (16-40 passos / min) e alta cadência (> 40 passos / min),

Tabela S2. Correlações de Spearman das MMPs com biomarcadores inflamatórios no grupo controle (n = 7).

		TNFα	IL-6	IL-1β	IL-10
MMP-9	r_s	0.607	0.613	0.071	0.109
	p	0.148	0.144	0.879	0.816
MMP-2	r_s	0.464	0.468	-0.214	0.218
	p	0.294	0.289	0.645	0.638

Nota: Não houve relação estatisticamente significativa entre as variáveis analisadas ($p > 0,05$). MMP-2: Metaloproteinase de matriz -2. MMP-9: Metaloproteinase de matriz -9. TNF α : fator de necrose tumoral alfa. IL-6: Interleucina 6. IL-1B: Interleucina 1Beta. IL-10: Interleucina 10.

Tabela S3. Correlações de Spearman de biomarcadores com composição corporal e lipídios no grupo controle (n = 7).

		Massa de gordura corporal	Massa magra	Massa livre de gordura	Massa muscular esquelética	Colesterol	HDL	LDL	Triglicérides
MMP-9	r_s	-0.429	0.607	0.607	0.607	-0.571	-0.739	-0.571	0.071
	p	0.337	0.148	0.148	0.148	0.180	0.058	0.180	0.879
MMP-2	r_s	-0.286	0.321	0.321	0.321	-0.714	-0.450	-0.714	-0.357
	p	0.535	0.482	0.482	0.482	0.071	0.310	0.071	0.432
TNFα	r_s	-0.750	0.786	0.786	0.786	0.036	-0.919	0.036	0.429
	p	0.052	0.036	0.036	0.036	0.939	0.003	0.939	0.337
IL-6	r_s	-0.721	0.523	0.523	0.523	0.000	-0.736	0.000	0.342
	p	0.068	0.229	0.229	0.229	1.000	0.059	1.000	0.452
IL-10	r_s	-0.218	-0.273	-0.273	-0.273	-0.145	-0.339	-0.145	0.273
	p	0.638	0.554	0.554	0.554	0.756	0.456	0.756	0.554
IL-1β	r_s	0.429	0.357	0.357	0.357	-0.143	0.072	-0.143	0.179
	p	0.337	0.432	0.432	0.432	0.760	0.878	0.760	0.702

Os valores de p significativos estão em negrito. MMP-2: Metaloproteinase de matriz -2. MMP-9: Metaloproteinase de matriz -9. TNF α : fator de necrose tumoral alfa. IL-6: Interleucina 6. IL-1 β : Interleucina 1Beta. IL-10: Interleucina 10. HDL: Lipoproteínas de alta densidade. LDL: Lipoproteínas de baixa densidade.

Tabela S4. Correlações de Spearman das MMPs com testes funcionais e nível de atividade física no grupo controle (n = 7).

		Número de passos	Tempo de inatividade	Tempo em baixa cadência	Tempo em média cadência	Tempo em alta cadência	Passos em baixa cadência	Passos em média cadência	Passos em alta cadência	Pico do índice de atividade	TC6m	TC10Mc	TC10Mr
MMP-9	r_s	-0.536	0.571	0.214	-0.107	-0.071	0.321	-0.679	0.179	-0.393	0.321	0.3321	0.426
	p	0.215	0.180	0.645	0.819	0.879	0.482	0.094	0.702	0.383	0.482	0.482	0.337
MMP-2	r_s	-0.464	0.643	0.000	0.179	0.143	0.107	-0.321	0.250	-0.321	0.107	-0.036	0.289
	p	0.294	0.119	1.000	0.702	0.760	0.819	0.482	0.589	0.482	0.819	0.939	0.535
TNFα	r_s	-0.429	0.143	0.179	-0.429	-0.036	0.214	-0.786	0.393	-0.286	0.536	0.679	0.643
	p	0.337	0.760	0.702	0.337	0.939	0.645	0.036	0.383	0.535	0.215	0.094	0.119
IL-6	r_s	-0.414	0.487	0.054	-0.234	-0.054	0.090	-0.450	0.396	-0.306	0.685	0.396	0.270
	p	0.355	0.268	0.908	0.613	0.908	0.848	0.310	0.379	0.504	0.090	0.379	0.558
IL-10	r_s	0.309	-0.346	-0.073	0.018	0.018	0.127	0.018	-0.091	-0.018	0.673	0.273	0.673
	p	0.500	0.448	0.877	0.969	0.969	0.786	0.969	0.846	0.969	0.098	0.554	0.098
IL-1β	r_s	-0.393	0.071	0.571	-0.429	-0.500	0.464	-0.321	-0.429	-0.321	-0.289	0.214	-0.179
	p	0.383	0.879	0.180	0.337	0.253	0.294	0.482	0.337	0.482	0.535	0.645	0.702

Os valores de p significativos estão em negrito. MMP-2: Metaloproteinase de matriz -2. MMP-9: Metaloproteinase de matriz -9. TNF α : fator de necrose tumoral alfa. IL-6: Interleucina 6, IL-1B: Interleucina 1Beta. IL-10: Interleucina 10, TC10Mc: teste de caminhada de 10 metros a velocidade confortável. TC10Mf: teste de caminhada de 10 metros a velocidade rápida. TC6m: Teste de caminhada de 6 minutos. Inativo (0 passos/min), baixa cadência (1-15 passos/min), média cadência (16-40 passos/min) e alta cadência (> 40 passos/min).

4.2 DIRECIONAMENTO PARA PRÓXIMO ESTUDO

O resultado deste primeiro estudo, que foi chamado de exploratório, permitiu identificar que nos indivíduos pós-AVC em fase crônica apresentam uma atividade aumentada das MMPs em comparação com indivíduos saudáveis. Foram observadas correlações positivas com o tempo e número de passos em cadência baixa, e negativas com as estas mesmas variáveis em cadência média, e com o índice de atividade de pico. De acordo com o comprometimento motor, a atividade da MMP-2 está aumentada no grupo leve-moderado em relação ao grupo controle.

Nossos resultados sugerem que a forma como os indivíduos pós-AVC distribuem os passos ao longo do dia, é um determinante para o controle da MMP-9, portanto, em cenários de reabilitação clínica, a caracterização e o acompanhamento desta condição deve ser considerada (p.e. comparar quantidade de passos por minuto durante o dia – cadência, e não só considerar a a velocidade ou número total de passos por dia), pois pode ser considerado como um indicador de risco de outras alterações cardiovasculares, como um AVC recorrente. Além disso, aparentemente, a escolha da carga e a intensidade de treinamento é uma questão importante para modular a atividade dessas gelatinases, no entanto, estudos futuros seriam necessários para compreender os mecanismos fisiológicos relacionados a esta possível regulação, ou o efeito do exercício sobre esses marcadores em indivíduos crônicos pós-AVC.

Por este motivo, surgiu a necessidade de conhecer como o EA poderia modificar a atividade das MMPs nesta população, considerando que atualmente, a inclusão do EA nos programas de reabilitação tem sido postulada como uma estratégia essencial para favorecer a recuperação desta população. Portanto, aproveitamos a realização de um ensaio clínico, que tem como objetivo avaliar o efeito da associação do EA com a TCIm sobre as concentrações séricas de marcadores moleculares e sua relação com a destreza manual, para iniciar a exploração de estratégias que poderiam regular esta atividade aumentada das gelatinases, entender ainda mais essa condição, e assim, obter benefícios no controle das condições cardiovasculares dos indivíduos pós-AVC em fase crônica, além de favorecer a recuperação.

É importante esclarecer que este ensaio clínico foi diretamente impactado pela pandemia de COVID-19. As coletas tiveram que ser suspensas devido aos riscos envolvidos e às restrições de circulação no campus. Logo, este ensaio clínico foi recentemente retomado e no futuro poderemos ampliar o entendimento destes biomarcadores.

4.3 ARTIGO 2 – RESULTADOS PRELIMINARES DE UM ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO

Efeito do exercício aeróbio associado a Terapia de Contensão Induzida modificada em biomarcadores moleculares em indivíduos pós-Acidente Vascular Cerebral em fase crônica: resultados preliminares de um ensaio clínico randomizado

Autores: Luisa Fernanda García-Salazar^{1,2}, MSc; Natalia Duarte Pereira¹, PhD; Erika Shirley Moreira Silva¹, MSc; Jean Alex Matos Ribeiro¹, MSc; Gabriela Nagai Ocamoto¹, MSc; Rafaella Mendes Zambetta, PT; Simone Garcia de Oliveira¹, MSc; Aparecida Maria Catai¹, PhD; Alexandra Borstad³, PhD; Thiago Luiz Russo¹, PhD

¹ Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), Departamento de Fisioterapia, São Carlos, Brasil.

² Universidad del Rosario, Escuela de Medicina y Ciencias de la Salud, Grupo de investigación en ciencias de la rehabilitación, Bogotá, Colombia.

³ The College of St. Scholastica, Duluth, Minnesota, EUA.

Autor de correspondência: Prof. Dr. Thiago Luiz Russo. Departamento de Fisioterapia, Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), Rodovia Washington Luís km 235, C.P. 676, 13565-905, São Carlos, SP, Brazil. Phone: +55 16 33518345. Fax: +55 16 33612081.

E-mail: russo@ufscar.br or thiagoluizrusso@gmail.com

Artigo submetido na Topics in stroke rehabilitation

RESUMO

Introdução: Uma sessão de exercício aeróbico (EA) prévia ao treinamento motor atuaria como uma estratégia *priming* que facilitaria a recuperação motora em indivíduos com acidente vascular cerebral (AVC). A liberação do Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro (BDNF) após o EA tem sido postulada como a responsável por este efeito, e parece que a miocina Irisina poderia influenciar esta expressão de BDNF. No entanto, até o momento nenhum estudo investigou o efeito do EA como *priming*, nesses biomarcadores. Além disso, indivíduos pós-AVC em fase crônica apresentaram maior atividade da metaloproteinase de matriz -9 (MMP-9) e foi relacionada à capacidade limitada para caminhar em altas intensidades. O efeito do EA neste biomarcador é desconhecido. Assim, este estudo teve como objetivo mensurar as alterações no BDNF e na Irisina, e a atividade da MMP-2 e MMP-9 em indivíduos pós-AVC crônicos que receberam treinamento de EA de alta intensidade, antes da terapia de contensão induzida modificada (TCIm). **Materiais e Métodos:** Nove indivíduos pós-AVC crônicos receberam EA combinado com TCIm por duas semanas, e o grupo controle (n=7) recebeu apenas TCIm. Avaliação da destreza manual e da capacidade funcional foram feitas antes e após a intervenção. Além disso, a concentração de BDNF e Irisina, e a atividade de MMP-2 e -9 foram analisadas em amostras de soro. **Resultados:** o grupo TCIm aumentou a destreza manual grossa após a intervenção. A concentração de BDNF e Irisina, e a atividade de MMP-2 não mudaram significativamente após a intervenção em nenhum dos grupos, e não houve diferença entre eles em nenhuma das avaliações. No entanto, o grupo que recebeu EA, aumentou a atividade da MMP-9 após a intervenção. **Conclusões:** o EA prévio à TCIm induz aumento agudo da atividade da MMP-9, sem associação a mudanças na destreza manual ou funcionalidade, sugerindo possíveis benefícios nas condições cardiovasculares desta população.

Palavras chaves:

BDNF, irisina, metaloproteinases de matriz, gelatinases, recuperação, membros superiores, exercício aeróbico, doenças cerebrovasculares.

INTRODUÇÃO

O Acidente Vascular Cerebral (AVC) é a segunda causa de morte e a terceira de incapacidades na população adulta mundial (FEIGIN, 2021; GENEVA., 2020). Aproximadamente 40% dos indivíduos pós-AVC na fase crônica, apresentam redução no uso do membro superior contralateral ao hemisfério cerebral lesionado afetando a funcionalidade destes indivíduos (LANGHORNE; COUPAR; POLLOCK, 2009; NAKAYAMA et al., 1994). Ainda nesta fase, apresentam um comportamento sedentário sendo evidente pela redução de número de passos por dia e o aumento no tempo gasto em sedestação (FINI et al., 2017; MOORE et al., 2013), condição que agrava as alterações cardiovasculares que podem estar presentes nestes indivíduos; e inclusive, afetar a recuperação devido à baixa oportunidade de realizar tarefas diárias com o membros superior mais afetado.

Como uma estratégia para melhora das alterações motoras e condições cardiovasculares vem sendo considerado a inclusão do exercício aeróbio (EA) de alta intensidades nos programas de reabilitação para esta população. Tem sido observado que o EA modula o sistema nervoso central a través da liberação de moléculas como o Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro (BDNF) (ALCANTARA et al., 2018; LINDER et al., 2019). Nesse raciocínio, tem sido sugerido que um episódio de EA antes do treinamento motor melhora a função do membro superior em indivíduos pós-AVC (MANG et al., 2013). Deste modo, o EA servirá como *priming* do sistema nervoso central, para favorecer os processos de neuroplasticidade que subjazem à mudança de comportamento desejado. Esta teoria de “*priming*” descreve que o cérebro, ao passar por algum método prévio de ativação, tornar-se-á mais responsivo ao treinamento motor, criando uma espécie de janela terapêutica e facilitando assim, a aprendizagem motora (STOYKOV; MADHAVAN, 2015). Portanto, a liberação de BDNF após o EA favoreceria os processos de aprendizado relacionados ao treino específico, gerando efeitos mais significativos e duradouros sobre o déficit motor (MANG et al., 2013).

Recentemente tem sido colocado que o aumento da expressão do BDNF estaria relacionado com o aumento da miocina irisina após uma sessão aguda de exercícios (NICOLINI et al., 2020). A fibronectina tipo III contendo o domínio 5 (FNDC5) é uma proteína de membrana que é clivada e secretada na circulação como Irisina após o exercício. Normalmente, esta miocina converte o tecido adiposo branco em tecido adiposo marrom (*browning*), aumentando assim a termogênese e o consumo de energia (JIN et al., 2018). A relação com o BDNF tem sido colocada ao observar que a irisina poderia entrar no sistema nervoso central através da barreira hematoencefálica (BHE) e aumentar a expressão de BDNF (JIN et al., 2018; PEDERSEN, 2019). No entanto, em estudo com população idosa foi observado um aumento da

irisina e do BDNF também no soro após a realização de exercício físico (KIM; KIM, 2018). O comportamento desses dois biomarcadores após EA, como estratégia para melhorar a função do membro superior em indivíduos crônicos pós-AVC, não foi estudado até o momento.

Por outro lado, está bem estabelecido que o exercício aeróbico melhora a capacidade aeróbica e as condições cardiovasculares (BERNHARDT et al., 2014; PANG et al., 2006), através da regulação de biomarcadores cardiometabólicos como fatores inflamatórios, adipocinas e mudanças no perfil lipídico (D'ISABELLA et al., 2017; LIN et al., 2015). Além disso, tem sido observado após o EA um aumento nas células progenitoras endoteliais circulantes que podem contribuir a angiogênese e melhora na função endotelial, sendo um mediador deste processo a metaloproteinase de matriz -2 (MMP-2) e a metaloproteinase de matriz -9 (MMP-9) (GATTA et al., 2012; SUHR et al., 2007). No entanto, a liberação dessas gelatinases após o exercício depende da dose, do tipo de exercício e do nível de atividade física dos indivíduos (CARRICK-RANSON et al., 2019; GATTA et al., 2012; LO PRESTI; HOPPS; CAIMI, 2017).

Em indivíduos pós-AVC em fase crônica foi observado um aumento da MMP-9 e correlacionado com possíveis processos inflamatórios associados à limitação de caminhar em altas intensidades. Foi sugerido que uma mudança no nível de atividade física ou a promoção do aumento da cadência durante a caminhada, poderia gerar uma redução desta condição (GARCÍA-SALAZAR et al., 2021). No entanto, até o momento, não há estudos que tenham avaliado como a inclusão de EA em programas de reabilitação poderia afetar as metaloproteinases de matriz (MMPs) em indivíduos crônicos pós-AVC.

Assim, o objetivo deste estudo foi medir as mudanças das concentrações de BDNF e da Irisina, e a atividade das MMPs no soro de indivíduos pós-AVC crônicos que receberam EA de alta intensidade e intervalo, prévio à TCIm por duas semanas. Além disso, tentamos encontrar associações dentro desses biomarcadores moleculares, e com as mudanças na destreza manual e a capacidade funcional após o protocolo de intervenção. Nossa hipótese era que o EA prévio à TCIm aumentaria as concentrações do BDNF e da Irisina, e a atividade das MMPs, e que essas alterações estariam relacionadas à recuperação do membro superior.

MÉTODOS

Este estudo apresenta os resultados preliminares de um ensaio clínico randomizado (protocolo no REBEC UTN U1111-1227-7341) que foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da Universidade Federal de São Carlos (Relatório nº 3.316.052), conforme Resolução do Conselho Nacional de Saúde 466/2012. Todos os procedimentos foram

explicados aos participantes e a aceitação foi considerada após a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. O protocolo da avaliação clínica e da intervenção aplicada neste estudo já foi publicado em detalhes previamente (DA SILVA et al., 2019).

População de estudo

Indivíduos pós-AVC com hemiparesia crônica (tempo desde o AVC \geq 6 meses) de ambos os sexos com idade entre 25 e 80 anos foram recrutados na comunidade local desde abril de 2018 até agosto de 2020. Os critérios de inclusão e exclusão foram relatados detalhadamente em Da Silva et al., 2019. Resumidamente, os participantes incluídos apresentavam: 1) lesão por AVC em apenas um hemisfério cerebral; 2) capacidade de pegar uma toalha usando qualquer tipo de agarre; 3) uso assimétrico dos membros superiores, \leq 2,5 na Escala de Quantidade da Motor Activity Log (MAL); 4) capacidade de permanecer sentado sem apoio de tronco por 1 min. Os participantes excluídos foram: 1) tabagistas, etilistas ou usuários de drogas ilícitas no momento da avaliação; 2) indivíduos com alterações estruturais nos sistemas cardiovascular e respiratório que contraindicam a realização de EA ou com alteração no eletrocardiograma; 3) indivíduos com índice de massa corporal $>$ 28 kg/m²; 4) indivíduos com diabetes mellitus ou hipertensão não controlada, 5) afasia de compreensão ou apraxia.

Intervenção

Um investigador cego realizou a randomização por idade e sexo com uma geração de randomização de bloco de 1:1 usando uma ferramenta de randomização baseada na web (DA SILVA et al., 2019). Os participantes foram alocados no grupo experimental que recebeu EA combinado com a TCIm (grupo EA+ TCIm), ou no grupo controle que realizou exercícios de alongamento combinados com TCIm (grupo TCIm). O EA foi realizado em bicicleta ergométrica seguindo um protocolo intervalado. A frequência cardíaca e carga de trabalho para cada participante foi prescrita com base em dados de um teste incremental realizado em bicicleta ergométrica antes do início do programa de intervenção. O EA começou com um aquecimento de 10 minutos na faixa de 45% de frequência cardíaca de reserva (FCR), seguido de 24 minutos de treinamento intervalado e terminou com 6 minutos de desaquecimento entre 45% e 60% da FCR. O treinamento intervalado foi de quatro intervalos de 4 minutos em intensidades moderadas e altas com 75-90% de FCR, cada intervalo separado por 3 minutos de exercício em intensidade moderada (60% de FCR). Indivíduos que não atingiram a meta de intensidades moderadas e altas (75-90% FCR) foram encorajados a manter pelo menos 60% da FCR. O alongamento foi realizado bilateralmente em membros superiores e inferiores, com 3

repetições, cada um com uma duração de 30 segundos, e com um intervalo de 60 segundos entre cada exercício. Os participantes tiveram 10 minutos de descanso e, em seguida, iniciaram o protocolo da TCIm com duração de 3 horas por dia. O protocolo TCIm incluiu: 1) treinamento orientado a tarefa intensivo e gradual do membro superior parético, que consistia em treinamento de seis tarefas específicas planejadas antecipadamente, com alto número de repetições e um nível de dificuldade crescente entre cada sessão, de acordo com a progressão dos participantes e necessidades (modelagem); 2) restrição do membro superior não acometido por 90% do total de horas acordado com uso de luva e, 3) pacote de transferência, que consiste em uma lista com dez tarefas que devem ser realizadas em casa entre cada sessão e registradas em domicílio diário. Nos primeiros 30 minutos de cada sessão da TCIm, o pacote de transferência foi discutido, seguido do treinamento orientado a tarefas aplicado nas horas restantes. Todo o protocolo de intervenção foi aplicado diariamente durante 10 dias (duas semanas, excluindo finais de semana). Informações adicionais estão descritas em Da Silva et al., 2019.

Avaliação clínica

Como parte da avaliação inicial, foram coletados os dados pessoais, do AVC (tempo pós-AVC e lado da lesão) e o comprometimento motor usando a Escala de Fugl-Meyer (EFM) (MAKI et al., 2006). Como parte do protocolo da TCIm foram usadas a MAL, para avaliar o uso do membro superior mais afetado nas atividades de vida diária (SALIBA et al., 2011; USWATTE et al., 2006), e a Wolf Motor Function Test (WMFT) como medida da função motora do membro superior (MORRIS et al., 2001; PEREIRA et al., 2011). Para avaliar o efeito da intervenção na recuperação dos indivíduos, foram aplicados testes de destreza manual e capacidade funcional antes e ao terceiro dia após finalizada a intervenção.

Teste de destreza manual

O Box and Block Test (BBT) foi utilizado para avaliar a destreza manual grossa (MATHIOWETZ et al., 1985a). Consiste em uma caixa dividida com um pequeno obstáculo, em dois compartimentos de tamanhos iguais. Cem blocos quadrados de madeira de 2,5 cm são colocados em uma metade da caixa, próximo ao membro superior a ser testado. O participante foi posicionado em uma cadeira em frente a uma mesa com a mão sendo testada ao lado da caixa. O participante foi instruído a passar um bloco de cada vez pelo obstáculo até a outra metade da caixa durante 60 segundos. O teste foi realizado inicialmente com o membro superior menos comprometido e depois com o mais comprometido. A pontuação na escala corresponde

ao número de blocos que o participante passou de um lado para o outro. Quanto maior o número de blocos por minuto, melhor o desempenho da destreza manual grossa (MATHIOWETZ et al., 1985a). Três tentativas foram realizadas e a média foi utilizada para a análise.

O Nine Hole Peg Test (NHPT) foi usado para medir a destreza manual fina (MATHIOWETZ et al., 1985b). Consiste em uma tábua de madeira de com nove furos e um recipiente com nove pinos. O participante posicionado em frente a uma mesa foi instruído a pegar os pinos e colocá-los nos orifícios, um de cada vez, e em seguida retirá-los e recolocá-los no recipiente. O lado com o recipiente dos pinos foi colocado próximo ao membro superior testado. O teste foi realizado inicialmente com o membro superior menos comprometido e depois com o mais comprometido. O tempo para completar a tarefa foi registrado e a média de três tentativas foi utilizada para a análise. O tempo máximo de realização do teste foi de 180 segundos e esse tempo foi considerado caso o participante não tivesse habilidade suficiente para concluir o teste (EKSTRAND; LEXELL; BROGÅRDH, 2016).

Capacidade Funcional

O Teste de Caminhada de Seis Minutos (TC6m) foi utilizado para mensurar a capacidade funcional e foi realizado de acordo com os procedimentos e recomendações da American Thoracic Society (CRAPO et al., 2002). Os participantes caminharam em velocidade autocontrolada por 6 minutos em uma distância de 30 metros, demarcada por cones. A distância percorrida em metros foi registrada para análise.

Coleta e armazenamento de sangue

Os participantes foram convidados a comparecer a um laboratório de análises clínicas para exames de sangue antes e 3 dias (± 2 dias) após o término da intervenção. As coletas de amostras de sangue foram realizadas sempre no período da manhã entre as 7 e 9 horas da manhã, os participantes foram restritos a tomar café ou chás antes da coleta da amostra. O sangue foi coletado da veia antecubital do braço menos afetado usando um tubo estéril Vacutte® de 5ml com gel éster poliacrílico. As amostras permaneceram por 30 minutos em temperatura ambiente para permitir a coagulação. Nesse momento, as amostras de sangue foram centrifugadas a 3000 rpm por 10 minutos na centrífuga Thermo Scientific® modelo Sorvall ST8 e o soro armazenado a -80°C .

Análises das concentrações de BDNF e Irisina

A concentração sérica de BDNF e Irisina foi analisada usando um kit de ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA) altamente sensível para cada biomarcador (Human Free BDNF, R&D Systems, Minneapolis, MN, USA; Irisin, AdipoGen, Liestal, Switzerland). Para cada kit ELISA, todas as etapas foram concluídas de acordo com as instruções fornecidas pelos fabricantes. As amostras foram diluídas em uma proporção de 1:20 e 1:4 para o ensaio de BDNF e Irisina, respectivamente. Cada reação foi conduzida em duplicata e a média foi usada para análise. A densidade óptica de cada poço foi medida usando um leitor de microplacas automatizado (Thermo Scientific™ Multiskan™ FC, Life Technologies Holdings Pte. Ltd., Singapore).

Análises enzimático das MMPs

A atividade das MMPs foi medida usando a técnica de zimografia e seguindo todas as etapas e composição de reagentes do nosso estudo anterior (GARCÍA-SALAZAR et al., 2021).

Foram utilizados géis com concentração de 8% de Tris-Glicina, BisAcrilamida, SDS e 100mg/ml de gelatina. A eletroforese durou duas horas a 100v. Em seguida, foram realizadas duas lavagens de 15 minutos cada, com 2,5% de solução de Triton® X-100. Em seguida, os géis foram incubados em tampão substrato por 20 horas a uma temperatura de 37°C. Posteriormente, foi realizada coloração com Coomassie Brilliant Blue R-250 (0,25%) por 30 minutos e descoloração com metanol 10% e ácido acético por 2 horas. Posteriormente, uma imagem foi adquirida com o ChemiDoc™ MP Imager usando um tempo de exposição de 30 segundos e seguindo o protocolo de coloração Coomassie Blue. O volume das bandas com subtração de fundo foi quantificado por quantificação de densidade usando o programa Image Lab™ versão 5.1 da BioRad. A MMP-9 e a MMP-2 foram identificadas de acordo com o peso molecular de 92 kDa e 72 kDa, respectivamente. Cada atividade das gelatinases foi medida em duplicata e a média foi usada para análise. Durante esse procedimento, o pesquisador estava cego sobre o grupo ao qual os participantes pertenciam.

Análises estatística

Todos os testes estatísticos foram realizados usando o software SPSS versão 25.0 (SPSS Inc, Chicago, IL, USA). A normalidade e a homogeneidade da distribuição dos dados foram verificadas pelos testes de Shapiro-Wilk e Levene, respectivamente. Para comparar os dados clínicos e demográficos entre os grupos foi utilizado o teste U de Mann-Whitney e também o

teste do Qui-Quadrado para sexo, tipo de AVC, lado do AVC e medicação. O nível de significância foi estabelecido em $p < 0,05$.

Para identificar as mudanças na destreza manual e capacidade funcional dentro de cada grupo como resposta às intervenções, usamos um teste t pareado. Para comparação entre os grupos em cada avaliação foi utilizado um teste t independente. Da mesma forma, para avaliar a atividade das MMPs e a concentração de BDNF e Irisina comparando o grupo EA+TCIm com o grupo TCIm em cada avaliação, foi utilizado um teste t independente, e para comparar as alterações de cada biomarcador após a intervenção dentro de cada um dos grupos foi usado o teste t pareado. O nível de significância foi estabelecido em $p < 0,05$.

O coeficiente de correlação de Spearman foi utilizado para avaliar as associações entre os biomarcadores e com as escalas de destreza manual e o teste de capacidade funcional. Todas as análises foram bicaudais e realizadas com nível alfa de significância de 5%.

Posterior às análises, foi calculado o tamanho do efeito do resultado obtido ao comparar a atividade da MMP-9 antes e depois da intervenção no grupo EA+TCIm. O tamanho do efeito foi calculado utilizando o valor t do teste t pareado (FIELD, 2018). A magnitude foi baseada na classificação de Cohen (pequeno [$r = 0,10$], médio [$r = 0,30$] e grande [$r = 0,50$]).

RESULTADOS

Características dos participantes

Na Figura 6 o diagrama do CONSORT que apresenta a inscrição, alocação e análise dos participantes do estudo é apresentado. Inicialmente, 484 indivíduos foram identificados como possíveis participantes. Destes, 410 foram excluídos e 74 foram contatados para comparecer à avaliação inicial (triagem). Finalmente, 16 indivíduos pós-AVC em fase crônica foram incluídos neste estudo. Após a randomização, 9 participantes foram designados para o grupo EA+TCIm e sete para o grupo TCIm.

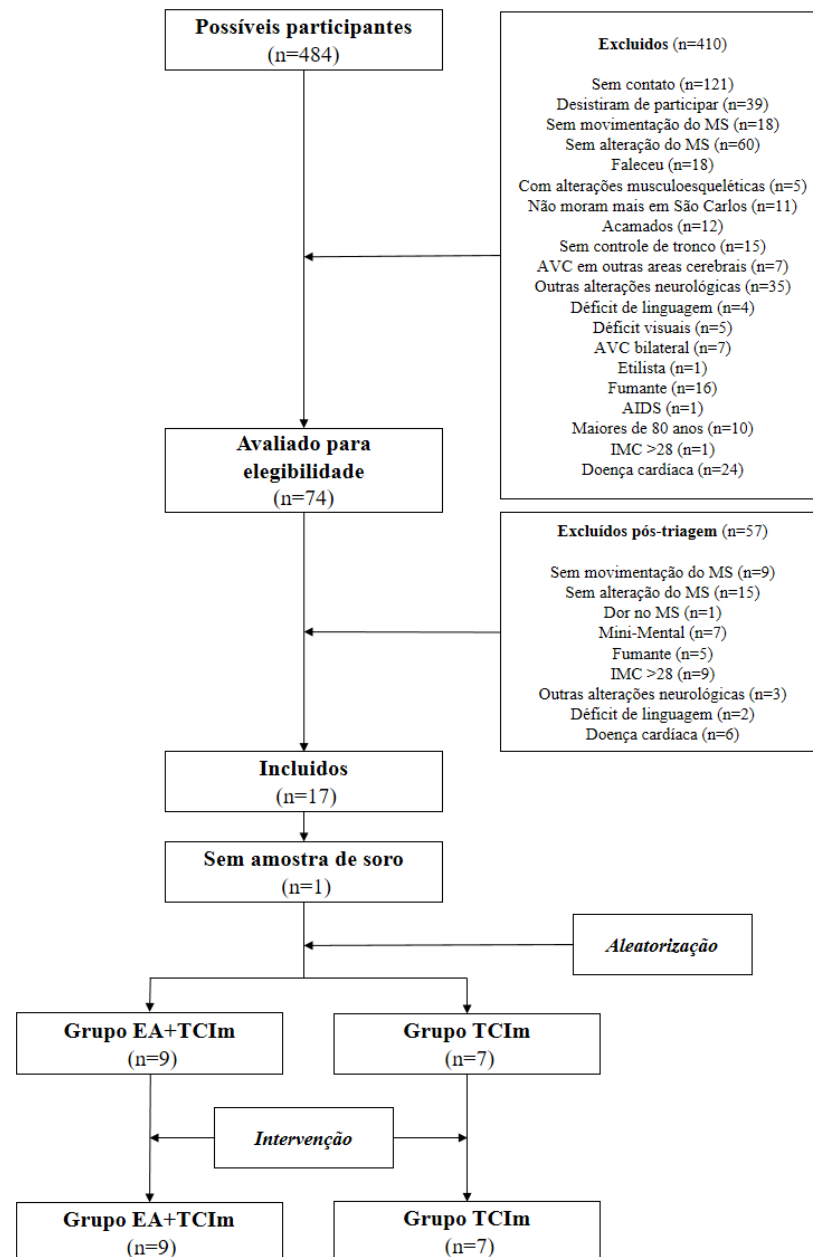


Figura 6. Fluxograma da população do estudo

Os dados clínicos e demográficos dos participantes estão descritos na tabela 5. A idade mediana foi de 62 (IQR 20,50) e 63 (IQR 14) anos no grupo EA+TCIm e no grupo TCIm, respectivamente. O tempo pós-AVC foi de 48 (IQR 107) e 30 (IQR 23) meses em cada grupo. De acordo com a avaliação de Fugl-Meyer, os indivíduos pós-AVC crônicos foram classificados como deficiência motora entre moderada e marcante. As informações dos dados clínicos e demográficos basais foram semelhantes em ambos os grupos ($p > 0,05$).

Tabela 5. Dados clínicos e demográficos dos participantes

	Grupo EA+TCIm (n=9)	Grupo TCIm (n=7)	<i>p</i> valor
Sexo (F/M)	4/5	2/5	0,513
Idade (anos)	62 (20,50)	63 (14,00)	0,244
IMC (kg/m ²)	25,51 (2,05)	23,45 (4,12)	0,064
Tipo de AVC (I/H)	8/1	7/0	0,273
Lado do AVC (esquerdo/direito)	4/5	6/1	0,080
Tempo pós-AVC (meses)	48 (107)	30 (23)	0,266
EFM	71 (15)	81 (10)	0,100
MAL			
<i>EQT</i>	0,56 (0,63)	1,16 (0,96)	0,186
<i>EQL</i>	0,73 (1,18)	1,37 (1,96)	0,064
WMFT tempo (s)	126 (462)	81 (95)	0,101
Medicação, n (%)			
BRA/ECA	4 (44)	4 (57)	0,614
β-bloqueador	2 (22)	3 (43)	0,377
BCC	1(11)	2 (28)	0,375
AAS	6 (67)	4 (57)	0,697
Estatinas	4 (44)	4 (57)	0,614
Anticoagulantes	1(11)	2 (28)	0,375
Diuréticos	2 (22)	2 (28)	0,772

F: feminino; M: masculino; IMC: índice de massa corporal; AVC: acidente vascular cerebral; I: isquêmico; H: hemorrágico; EFM: Escala Fugl-Meyer, função motora; MAL: motor activity log; EQT: escala de quantidade de movimento; EQL: escala de qualidade de movimento; WMFT: wolf motor function test; BRA: bloqueadores do receptor da angiotensina; ECA: inibidor da enzima conversora de angiotensina; BCC: bloqueadores dos canais de cálcio; AAS: ácido acetilsalicílico. *p* valor da comparação entre os grupos usando o teste Mann-Whitney e Qui Quadrado para as variáveis categóricas. Dados expressos como número de contagem para sexo, tipo de AVC, lado do AVC e medicação. Dados expressos em mediana e intervalo interquartil para o restante das variáveis.

Alterações na destreza manual e teste de capacidade funcional após a intervenção

No grupo TCIm, uma diferença foi observada antes e após a intervenção mostrando um melhor desempenho após a intervenção ($p < 0,001$). Para EA+TCIm, não foram observadas diferenças. As alterações observadas para o NHPT e para TC6m não foram significativas para nenhum dos grupos (Tabela 6).

Comparando ambos os grupos na avaliação pós-intervenção foi observada diferença no BBT, sendo evidenciado no grupo TCIm uma melhor destreza motora grossa (Tabela 6). Para as demais variáveis em ambas as avaliações, não houve diferença entre os grupos.

Tabela 6. Diferença entre os grupos e dentro dos grupos para os testes de destreza manual e capacidade funcional.

	Grupo EA+TCIm (n=9)			Grupo TCIm (n=7)		
	Pré-intervenção	Pós-intervenção	<i>p</i> valor	Pré-intervenção	Pós-intervenção	<i>p</i> valor
BBT	19,11 (13,10)	21,33 (13,02)*	0,051	28,40 (8,40)	34,93 (7,63)	< 0,001
NHPT	119,03 (69,39)	108,41 (59,58)	0,532	95,09 (60,03)	85,07 (59,43)	0,589
TC6m^a	227,51 (145,39)	223,55 (132,93)	0,565	276,68 (127,51)	292,80 (128,52)	0,378

BBT: Box and Block Test. NHPT: Nine Hole Peg Test; TC6m: teste de caminhada de 6 minutos; *p* valor das comparação entre as avaliações em cada grupo usando um teste t pareado. **p* < 0,05 ao comparar os grupos na avaliação pós-intervenção usando um teste t independente. Dados expressos em média e desvio padrão.

^aGrupo EA+TCIm (n=6) ; Grupo TCIm (n=5)

Efeito da intervenção na concentração de Irisina e BDNF

A concentração de Irisina não foi diferente quando comparado o grupo EA+TCIm (n=9) e o grupo TCIm (n=4) em ambas as avaliações, antes ($p=0,648$) e após a intervenção ($p=0,912$). Além disso, dentro de cada grupo, não foram observadas alterações significativas de Irisina após a intervenção nem no grupo TCIm ($p=0,909$) nem no grupo EA+TCIm ($p=0,453$) (Figura 4A).

Da mesma forma, para o BDNF não foram observadas diferenças entre os grupos EA+TCIm (n=8) e TCIm (n=7) na avaliação pré-intervenção ($p=0,571$) e pós-intervenção ($p=0,456$). Além disso, como efeito da intervenção, não foram observadas alterações na concentração de BDNF dentro de cada grupo nem no grupo EA+TCIm ($p=0,639$) e no grupo TCIm ($p=0,768$) (Figura 4B).

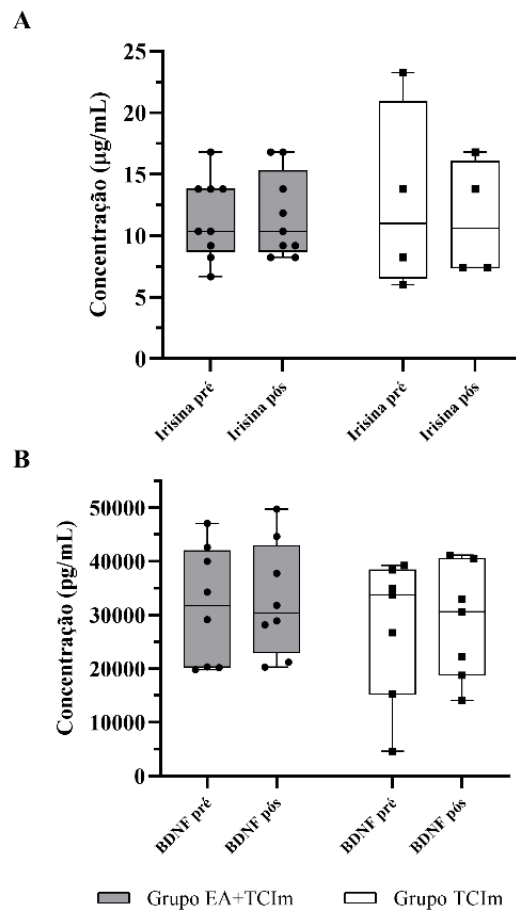


Figura 7. Comparação da concentração de Irisina e BDNF entre os grupos e dentro das avaliações. **A.** Concentração de Irisina. Grupo EA+TCIm (n=9) e grupo TCIm (n=4). **B.** Concentração de BDNF. Grupo EA+TCIm (n=8) e grupo TCIm (n=7). Cada amostra foi realizada em duplicata e a média foi utilizada para a análise em ambos os biomarcadores. Não foram observadas diferenças para a concentração de Irisina e BDNF.

Efeito da intervenção na atividade de MMP-2 e MMP-9

Conforme mostrado na figura 5, não houve diferença entre os dois grupos na atividade da MMP-2 na avaliação pré ($p=0,552$) e pós-intervenção ($p=0,789$). A MMP-2 manteve sua atividade semelhante na avaliação pré-intervenção e ao final da intervenção no grupo EA+ TCIm ($p=0,145$) e no grupo TCIm ($p=0,894$).

Além disso, a atividade da MMP-9 não diferiu entre os grupos antes ($p = 0,983$) e após a intervenção ($p = 0,122$). No entanto, após a intervenção, houve um aumento na atividade da MMP-9 no grupo EA+TCIm em comparação com sua avaliação pré-intervenção ($p=0,033$). Não foram observadas alterações na atividade da MMP-9 no grupo controle ($p=0,973$). Como resultado o tamanho de efeito foi classificado como grande ($r = 0,67$).

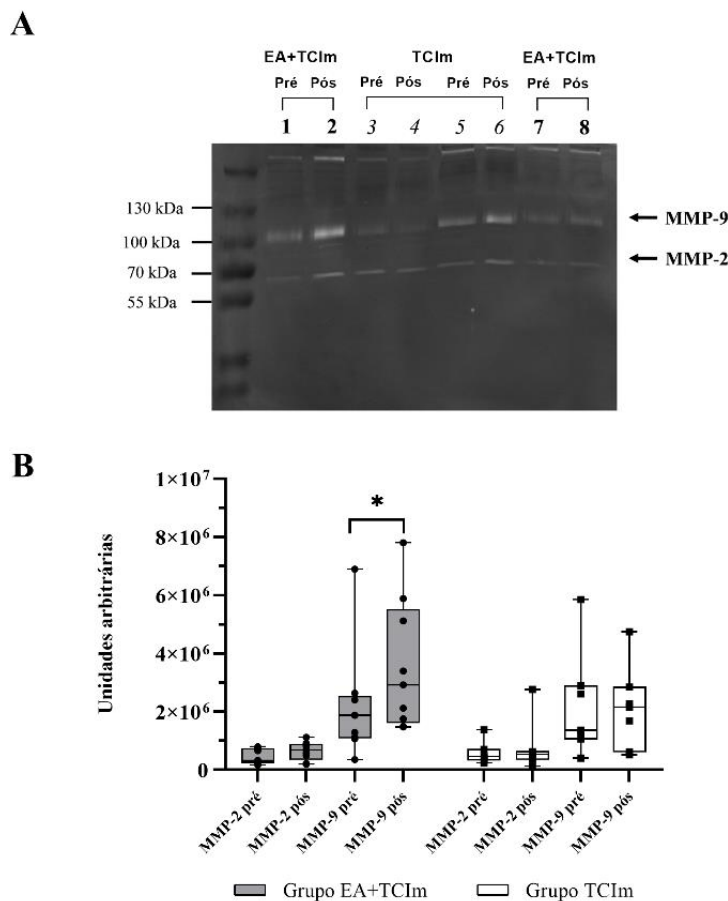


Figura 8. Atividade da MMP-2 e da MMP-9 no grupo EA-TCIm ($n=9$) e no grupo TCIm ($n=7$). **A.** Imagem representativa da zimografia de gelatina da atividade sérica da MMP-2 e da MMP-9. Padrão de peso molecular: Thermo Scientific™ PageRuler™ Plus Prestained Protein Ladder (Thermo Fischer Scientific Inc., Waltham, MA, EUA). Poços 1-4 e 7-8, indivíduos do grupo EA+TCIm. Poços 5-6, indivíduos do grupo TCIm. Poços ímpares, atividade das MMPs pré-intervenção e poços pares, atividade das MMPs pós-intervenção.

Observe a maior atividade da MMP-9 na pós-intervenção. **B.** Comparação da atividade da MMP-2 e da MMP-9 entre grupos e dentro das avaliações. Cada amostra de atividade das gelatinases foi conduzida em duplicata e a média foi usada para análise. * p valor = 0,033 da comparação entre as avaliações no grupo avaliação EA+TCIm usando o teste t pareado.

Associação entre biomarcadores e testes de destreza manual e capacidade funcional

Não foi observada relação estatisticamente significativa entre a MMP-2 e a MMP-9, o BDNF e a Irisina no grupo EA+TCIm após a intervenção (Tabela 7). Além disso, as variáveis relacionadas à destreza manual e a capacidade funcional não apresentaram associação com nenhum biomarcador (Tabela 7).

Tabela 7. Correlações de Spearman entre os biomarcadores e com os testes de destreza manual e capacidade funcional na avaliação pós-intervenção no grupo EA+TCIm (n=9).

		BDNF	MMP-2	MMP-9	BBT	NHPT	TC6m ^a
Irisin	r_s	0,133	0,034	-0,304	-0,008	0,055	0,647
	p	0,753	0,091	0,427	0,983	0,887	0,165
BDNF^b	r_s	-----	-0,405	0,357	-0,381	-0,165	0,543
	p	-----	0,320	0,385	0,352	0,696	0,266
MMP-2	r_s	-----	-----	0,033	-0,293	0,657	-0,771
	p	-----	-----	0,932	0,444	0,054	0,072
MMP-9	r_s	-----	-----	-----	0,360	-0,091	-0,086
	p	-----	-----	-----	0,342	0,815	0,872

BDNF: Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro; MMP-2: metaloproteinase de matriz - 2; MMP-9: metaloproteinase de matriz -9; BBT: Box and Block Test; NHPT: Nine Hole Peg Test; TC6m: teste de caminhada de 6 minutos.

^aEA+TCIm grupo (n=6)

^bEA+TCIm grupo (n=8)

DISCUSSÃO

Nos últimos tempos, tem sido descrito que a inclusão de EA nos programas de reabilitação dos indivíduos pós-AVC poderia aumentar a efetividade de outras terapias como a TCIm, nos processos de recuperação da função do membro superior (MANG et al., 2013). Embora alguns estudos tenham sido realizados para entender os mecanismos moleculares envolvidos nos efeitos da TCIm (ABDULLAHI; TRUIJEN; SAEYS, 2020), as respostas moleculares à combinação do EA e a TCIm ainda não são claras. Os resultados preliminares mostrados neste estudo indicam que uma sessão de EA prévio à TCIm não gera mudanças nas concentrações séricas de BDNF e Irisina

em indivíduos pós-AVC com hemiparesia crônica. No entanto, foi observado um aumento da atividade do MMP-9 circulante após duas semanas de intervenção no grupo de indivíduos que recebeu a combinação de terapias. Não foram observadas associações entre estes biomarcadores moleculares, e nem com variáveis de destreza manual e de capacidade funcional após a intervenção.

Em indivíduos pós-AVC tem sido observado um aumento de BDNF sérico após o EA realizado em altas intensidades (60-85% FCR) e de forma intervalada em comparação com exercícios de moderada intensidade (BOYNE et al., 2019; HSU et al., 2021). O aumento do BDNF como resposta ao EA estaria relacionado ao efeito *priming* potencializando os processos de recuperação dos indivíduos pós-AVC (MANG et al., 2013; STOYKOV; MADHAVAN, 2015). Apesar que, no presente estudo, os participantes do grupo EA+TCIm terem sido treinados em altas intensidades, não foram observadas diferenças significativas na concentração de BDNF entre os grupos, embora tenha sido observada uma tendência de aumento desse biomarcador no grupo EA+TCIm após o treino. Esses resultados podem estar relacionados com a duração da intervenção. Foi sugerido anteriormente que a quantidade de tempo gasto no exercício pode estar relacionada a mudanças na concentração de BDNF (MACKAY; KUYS; BRAUER, 2017). O aumento do BDNF sérico foi observado em estudos com indivíduos pós-AVC após treinamento aeróbico com duração entre 8 e 36 semanas (2 a 3 sessões/semana), porém sem associação de treinamento motor (38,40). No presente estudo, a duração da intervenção seguiu o protocolo estabelecido da TCIm (ou seja, duas semanas de treinamento), sugerindo que isso poderia ser uma restrição para se obter benefícios de EA como *priming* desse tipo de terapia. No entanto, deve-se considerar que, apesar de se tratar de um treinamento intensivo diário de 4 horas, a frequência nas sessões supervisionadas foi de 100%, sem desistências, sendo uma terapia de reabilitação clínica viável para essa população. Além disso, em um estudo piloto, usando um desenho de estudo semelhante, não foram observadas alterações neste biomarcador e as melhorias na função do membro superior foram semelhantes em ambos os grupos de intervenção (VALKENBORGHIS et al., 2019).

Além disso, também deve ser considerado que os estudos realizados com humanos, que observaram um aumento das concentrações de Irisina e BDNF após exercício, fizeram a coleta de sangue nos 30 minutos posteriores ao exercício (BOYNE et al., 2019; KIM; KIM, 2018). Neste estudo, as coletas foram realizadas três dias após o término completo do protocolo de intervenção, reduzindo o viés de efeito agudo da intervenção. Em estudos prévios com indivíduos pós-AVC, a resposta aguda do BDNF foi encontrada em torno do início do aumento de lactato sanguíneo durante um exercício de intensidade vigorosa de 20 minutos, com bouts repetidos de 30 segundos (BOYNE et al., 2019). Após 30 e 60 minutos quando o treinamento terminou, a concentração de

BDNF permaneceu inalterada em comparação com a medida inicial. Portanto, é possível que em nosso estudo o BDNF, e até mesmo a concentração de Irisina, possam ser alteradas durante o treinamento de EA. Entretanto, este fator não foi controlado no presente trabalho. Para estudos futuros, medidas adicionais durante o treinamento devem ser consideradas para confirmar o efeito de *priming* da EA na população pós-AVC.

Por outro lado, até onde sabemos, este é o primeiro estudo a avaliar o efeito do EA na concentração de Irisina em indivíduos pós-AVC em fase crônica. Nenhuma diferença observada entre os grupos ou alteração após a intervenção pode estar associada aos resultados na concentração de BDNF, considerando que o exercício induz a expressão de BDNF pela via PGC-1 α /FNDC5 e que a irisina é considerada a forma clivada do FNDC5 (GANDOLFI et al., 2017; HUBERMAN et al., 2021). No entanto, nossos resultados não mostraram associação entre esses biomarcadores, o que pode sugerir que o efeito do EA na concentração de irisina nessa população está relacionado não apenas aos processos de recuperação ou função cerebral, mas também ao efeito a nível muscular ou metabólico cerebral (HUBERMAN et al., 2021). Por esse motivo, seria importante considerar outras análises que incluam medidas antropométricas ou do perfil lipídico para uma maior compreensão desse biomarcador como resposta ao EA nessa população.

Em relação à atividade dos MMPs, diferente dos outros biomarcadores o grupo de EA+TCIm apresentou um aumento significativo na atividade sérica do MMP-9. No nosso estudo prévio foi demonstrado que os indivíduos pós-AVC apresentam um aumento na atividade desta gelatinase em comparação com sujeitos sem história de AVC (GARCÍA-SALAZAR et al., 2021). Esse aumento foi relacionado a processos inflamatórios em decorrência da limitação para caminhar longas distâncias e a altas intensidades. Portanto, foi sugerido que a mudança do nível de atividade física ou promover um aumento na cadência durante a caminhada poderia reduzir o aumento desta gelatinase.

Segundo os resultados do presente estudo, a combinação do EA e a TCIm gerou um aumento na atividade de MMP-9, apresentando uma resposta “oposta” conforme sugerido pelo estudo anterior (GARCIA-SALAZAR et al., 2021). No entanto, deve-se considerar que no presente estudo o aumento da atividade da MMP-9 demonstra uma resposta aguda ao estímulo fornecido durante duas semanas e não como consequência de um estímulo persistente ou por mudanças de longo prazo no comportamento sedentário, como sugerido previamente. O aumento da atividade do MMP-9 pós-exercício poderia estar relacionado ao estímulo gerado pelo exercício na produção de células progenitoras endoteliais circulantes as quais contribuem a angiogênese (CARMELIET, 2000; ROSS et al., 2014). Para este processo do remodelamento da MEC é essencial a ação das MMPs (CARMELIET, 2000; ROSS et al., 2014). A MMP-9 tem sido

considerada como o ativador principal para a geração dos novos capilares, enquanto a MMP-2 contribui a maturação dos mesmos (CARMELI et al., 2004), o que poderia explicar o não aumento desta gelatinase como consequência do estímulo agudo proporcionado no presente estudo.

No entanto, para reforçar esta hipótese seria necessário conhecer o efeito do EA nesta população em outros biomarcadores como o Fator de Crescimento do Endotélio Vascular (VEGF) e a Endostatina. É importante notar que os efeitos das mudanças das MMPs como resposta ao EA não tem sido observado só a nível muscular. Em pacientes com insuficiência cardíaca crônica foi observado um aumento das MMPs no soro (de forma indireta pela redução dos inibidores teciduais: TIMP-1) após 30 min de EA em bicicleta ergométrica e associado a possível redução da rigidez cardíaca e acumulação de colágeno (GATTA et al., 2012). Estes resultados sugerem que o aumento da atividade da MMP-9 nos indivíduos pós-AVC em fase crônica pode ser considerada como uma resposta sistêmica e não local, o que reforça a inclusão do EA nos programas de reabilitação como estratégia de controle das alterações cardiovasculares persistentes nesta população. O efeito a longo prazo da inclusão de EA nas condições vasculares e inflamatórias destes indivíduos, deve ser avaliado em futuros estudos.

Apesar de não terem sido encontradas associações entre os biomarcadores e a avaliação clínica, alterações estatisticamente significativas e melhora clínica (> 5,5 bloqueio após intervenção) (CHEN et al., 2009) foram observadas no BBT no grupo TCIm, sugerindo que os EA não interveio na recuperação motora, estando este resultado alinhados com a inalteração dos biomarcadores. Poderia ser especulado que a adição do EA atrapalha os efeitos ou benefícios da TCIm, no entanto, mudanças detectadas pelo BBT após esta terapia só foram observadas na fase subagudas pós-AVC (YOON et al., 2014), e em indivíduos mais novos e com menos comprometimentos motores em comparação com a nossos participantes (SIEBERS; ÖBERG; SKARGREN, 2010). Em uma análise adicional, foram observadas alterações após a intervenção na escala WMFT para ambos os grupos, apoiando a melhora após o protocolo TCIm, sem diferença entre eles (Tabela S5).

CONCLUSÃO

O exercício aeróbico prévio à TCIm não afetou a concentração de BDNF e Irisina, e a atividade de MMP-2 após duas semanas de intervenção nos indivíduos crônicos pós-AVC aqui estudado. No entanto, esses resultados preliminares sugerem que a adição de EA em programas de reabilitação induz um aumento agudo da atividade de MMP-9 como um possível mecanismo de resposta vascular que poderia beneficiar a condição cardiovascular nessa população. Os resultados

deste estudo piloto não excluem os possíveis efeitos positivos dos EA na recuperação da função do membro superior.

FINANCIAMIENTO

Este estudo teve o apoio do Hospital Universitário da Universidade Federal de São Carlos - Empresa Brasileira de Serviços Hospitalares (EBSERH), e financiado pelos Órgãos de Financiamento do Governo Brasileiro: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES sob o Código de Bolsa 001; Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo - FAPESP com sob o processo 2017/13655-6; Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq sob o processos 310798/2020-5 e 190413 / 2017-4 (Programa Convênio Alunos de Pós-Graduação - PEC-PG)

MATERIAL SUPLEMENTAR

Tabela S5. Diferença entre os grupos e dentro dos grupos para a escala Wolf Motor Function Test.

	Grupo EA+TCIm (n=9)			Grupo TCIm (n=7)		
	Pré-intervenção	Pós-intervenção	<i>p</i> valor	Pré-intervenção	Pós-intervenção	<i>p</i> valor
WMFT tempo (seg)	196,77 (208,72)	177,33 (205,66)	0,161	117 (87,38)	50 (6,65)	0,018
WMFT EAF	2,55 (0,76)	3,42 (0,65)	0,008	3,15 (0,54)	4,08 (0,68)	0,018

WMFT: Wolf Motor Function Test. EAF: Escala de Habilidade funcional; *p* valor das comparação entre as avaliações em cada grupo usando o Wilcoxon test., Nota: Não foram observadas diferenças entre os grupos em nenhuma avaliação.

5 CONCLUSÕES

Os indivíduos pós-AVC em fase crônica apresentam uma atividade aumentada da MMP-9 quando comparados com indivíduos saudáveis da mesma idade, contudo, a atividade da MMP-2 parece ser similar. Segundo a nossa população de estudo, a atividade das MMPs não está relacionada com a capacidade da deambulação, com a composição corporal e o perfil lipídico, nem com outras condições metabólicas ou inflamatórias presentes nestes indivíduos. No entanto, o aumento da MMP-9 está relacionado com a limitação destes indivíduos de andar em cadências média e alta por um período prolongado durante o seu dia a dia, indicando a presença de processos inflamatórios que poderiam prejudicar a condição cardiovascular destes indivíduos. Além disso, a atividade sérica da MMP-2 está aumentada nos indivíduos com comprometimento motor leve a moderado, segundo a escala Fugl-Meyer, quando comparado com indivíduos saudáveis.

Um protocolo de intervenção de duas semanas de duração, que inclui EA de altas intensidades e intervalado, associado a TCIm, gera um aumento na atividade da MMP-9 mas não modifica a MMP-2. A atividade destas MMPs após a intervenção, não está relacionada com a expressão de BDNF nem de Irisina, e também não foi observada relação com a destreza manual e a capacidade funcional destes indivíduos. O que pode sugerir, que o aumento agudo da MMP-9 poderia ser a consequência de alguns mecanismos de resposta vascular associados ao exercício.

Por fim, o EA associado da TCI não modificou as concentrações de BDNF e de Irisina nem modificou a destreza manual e a capacidades funcional destes indivíduos.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O aumento da atividade da MMP-9 nos indivíduos pós-AVC crônicos diante um protocolo de intervenção de curta duração, pode ser considerada como um mecanismo adaptativo prévio a modificações sistêmicas ou locais frente ao EA. No entanto, para uma regulação a longo prazo desta gelatinase e, portanto, para mudanças permanentes no sistema cardiovascular o muscular destes indivíduos, parece ser necessário aumentar o nível de atividade física destes indivíduos ou a executar programas de intervenção com uma duração de mais de duas semanas. Para confirmar estas hipóteses são necessários estudos futuros, que incluam também, um seguimento ao comportamento das gelatinases como resposta aos planos de intervenção e/ou comparações de indivíduos pós-AVC com diferentes níveis de atividade física.

Reforçamos também a necessidade de continuar na exploração dois mecanismos moleculares envolvidos no uso do EA como método *priming* para a recuperação da funcionalidade dos membros superiores destes indivíduos. Nossos resultados não descartam os benefícios desta

estratégia, e sim enfatiza, a inclusão de mais participantes no ensaio clínico que está sendo desenvolvido nesta área. Atualmente os estudos que incluem a área básica e sua aplicação clínica (estudos translacionais) são de interesse mundial, no entanto, é importante considerar que, segundo o vivenciado durante o desenvolvimento desta tese, este tipo de estudos são um grande desafio para a pesquisa na fisioterapia neurofuncional.

7 REFERENCIAS

ABDULLAHI, Auwal; TRUIJEN, Steven; SAEYS, Wim. **Neurobiology of Recovery of Motor Function after Stroke: The Central Nervous System Biomarker Effects of Constraint-Induced Movement Therapy** *Neural Plasticity*, 2020. DOI: 10.1155/2020/9484298.

ALAMEDDINE, Hala S. **Matrix metalloproteinases in skeletal muscles: Friends or foes?** *Neurobiology of Disease*, 2012. DOI: 10.1016/j.nbd.2012.07.023.

ALCANTARA, Carolina C.; GARCÍA-SALAZAR, Luisa F.; SILVA-COUTO, Marcela A.; SANTOS, Gabriela L.; REISMAN, Darcy S.; RUSSO, Thiago L. **Post-stroke BDNF concentration changes following physical exercise: A systematic review** *Frontiers in Neurology*, 2018. DOI: 10.3389/fneur.2018.00637.

ALEXANDROVA, Margarita L.; BOCHEV, Petyo G. **Oxidative stress during the chronic phase after stroke** *Free Radical Biology and Medicine*, 2005. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2005.04.017.

BERNHARDT, Julie et al. Physical Activity and Exercise Recommendations for Stroke Survivors Council on Cardiovascular and Stroke Nursing, Council on Lifestyle and Cardiometabolic Health, Council on Epidemiology and Prevention, and Council on Clinical Cardiology. *[S. l.]*, 2014. DOI: 10.1161/STR.0000000000000022. Disponível em: <http://my.americanheart.org/statements>.

BERNHARDT, Julie et al. Agreed definitions and a shared vision for new standards in stroke recovery research: The Stroke Recovery and Rehabilitation Roundtable taskforce. **International Journal of Stroke**, *[S. l.]*, v. 12, n. 5, 2017. DOI: 10.1177/1747493017711816.

BILLINGER, Sandra A. et al. Physical activity and exercise recommendations for stroke survivors: A statement for healthcare professionals from the American Heart Association/American Stroke Association. **Stroke**, *[S. l.]*, v. 45, n. 8, 2014. DOI: 10.1161/STR.0000000000000022.

BOYNE, Pierce et al. Exercise intensity affects acute neurotrophic and neurophysiological responses poststroke. **Journal of Applied Physiology**, *[S. l.]*, v. 126, n. 2, 2019. DOI: 10.1152/jappphysiol.00594.2018.

BROOKS, Dina; SOLWAY, Sherra. ATS statement on six-minute walk test. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, *[S. l.]*, v. 167, n. 9, 2003. DOI: 10.1164/ajrccm.167.9.950.

BRUCKI, Sonia M. D.; NITRIN, Ricardo; CARAMELLI, Paulo; BERTOLUCCI, Paulo H. F.; OKAMOTO, Ivan H. Suggestions for utilization of the mini-mental state examination in Brazil. **Arquivos de Neuro-Psiquiatria**, *[S. l.]*, v. 61, n. 3 B, 2003. DOI: 10.1590/s0004-

282x2003000500014.

BRUUNSGAARD, H.; SKINHØJ, P.; PEDERSEN, A. N.; SCHROLL, M.; PEDERSEN, B. K. Ageing, tumour necrosis factor-alpha (TNF- α) and atherosclerosis. **Clinical and Experimental Immunology**, [S. l.], v. 121, n. 2, 2000. DOI: 10.1046/j.1365-2249.2000.01281.x.

BULL, Fiona C. et al. **World Health Organization 2020 guidelines on physical activity and sedentary behaviour** **British Journal of Sports Medicine**, 2020. DOI: 10.1136/bjsports-2020-102955.

CABRAL-PACHECO, Griselda A.; GARZA-VELOZ, Idalia; ROSA, Claudia Castruita De La; RAMIREZ-ACUÑA, Jesus M.; PEREZ-ROMERO, Braulio A.; GUERRERO-RODRIGUEZ, Jesus F.; MARTINEZ-AVILA, Nadia; MARTINEZ-FIERRO, Margarita L. The roles of matrix metalloproteinases and their inhibitors in human diseases. **International Journal of Molecular Sciences**, [S. l.], v. 21, n. 24, 2020. DOI: 10.3390/ijms21249739.

CABRAL, Norberto Luiz; FREIRE, Aracélli Tavares; CONFORTO, Adriana Bastos; DOS SANTOS, Nayara; REIS, Felipe Ibiapina; NAGEL, Vivian; GUESSER, Vanessa V.; SAFANELLI, Juliana; LONGO, Alexandre L. Increase of stroke incidence in young adults in a middle-income country a 10-year population-based study. **Stroke**, [S. l.], v. 48, n. 11, 2017. DOI: 10.1161/STROKEAHA.117.018531.

CARMELI, Eli; MOAS, Miri; REZNICK, Abraham Z.; COLEMAN, Raymond. **Matrix metalloproteinases and skeletal muscle: A brief review** **Muscle and Nerve**, 2004. DOI: 10.1002/mus.10529.

CARMELIET, Peter. **Mechanisms of angiogenesis and arteriogenesis** **Nature Medicine**, 2000. DOI: 10.1038/74651.

CARRICK-RANSON, Graeme; SPINALE, Francis G.; BHELLA, Paul S.; SARMA, Satyam; SHIBATA, Shigeki; FUJIMOTO, Naoki; HASTINGS, Jeffrey L.; LEVINE, Benjamin D. Plasma matrix metalloproteinases (MMPs) and tissue inhibitors of MMPs and aging and lifelong exercise adaptations in ventricular and arterial stiffness. **Experimental Gerontology**, [S. l.], v. 123, 2019. DOI: 10.1016/j.exger.2019.05.004.

CHANG, Jason J.; STANFILL, Ansley; POURMOTABBED, Tayebbeh. **The role of matrix metalloproteinase polymorphisms in ischemic stroke** **International Journal of Molecular Sciences**, 2016. DOI: 10.3390/ijms17081323.

CHEN, Hui Mei; CHEN, Christine C.; HSUEH, I. Ping; HUANG, Sheau Ling; HSIEH, Ching Lin. Test-retest reproducibility and smallest real difference of 5 hand function tests in patients with stroke. **Neurorehabilitation and Neural Repair**, [S. l.], v. 23, n. 5, 2009. DOI: 10.1177/1545968308331146.

CHEN, Lilin; YANG, Qihua; DING, R. U. I.; LIU, D. A. N.; CHEN, Zhijun. Carotid thickness and atherosclerotic plaque stability, serum inflammation, serum mmp-2 and mmp-9 were associated with acute cerebral infarction. **Experimental and Therapeutic Medicine**, [S. l.], v. 16, n. 6, 2018. DOI: 10.3892/etm.2018.6868.

CORBETTA, Davide; SIRTORI, Valeria; CASTELLINI, Greta; MOJA, Lorenzo; GATTI, Roberto. **Constraint-induced movement therapy for upper extremities in people with stroke** **Cochrane Database of Systematic Reviews**, 2015. DOI: 10.1002/14651858.CD004433.pub3.

CRAPO, Robert O. et al. **ATS statement: Guidelines for the six-minute walk test** **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, 2002. DOI: 10.1164/ajrccm.166.1.at1102.

CROZIER, Jennifer et al. High-intensity interval training after stroke: An opportunity to promote functional recovery, cardiovascular health, and neuroplasticity. **Neurorehabilitation and Neural Repair**, [S. l.], v. 32, n. 6–7, 2018. DOI: 10.1177/1545968318766663.

CUI, Ning; HU, Min; KHALIL, Raouf A. Biochemical and Biological Attributes of Matrix Metalloproteinases. *In: Progress in Molecular Biology and Translational Science*. [s.l.: s.n.]. v. 147. DOI: 10.1016/bs.pmbts.2017.02.005.

D'ISABELLA, Natalie Teresa; SHKREDOVA, Daria Alex; RICHARDSON, Julie Anne; TANG, Ada. Effects of exercise on cardiovascular risk factors following stroke or transient ischemic attack: a systematic review and meta-analysis. **Clinical Rehabilitation**, [S. l.], v. 31, n. 12, 2017. DOI: 10.1177/0269215517709051.

DA SILVA, Erika Shirley Moreira; SANTOS, Gabriela Lopes; CATAI, Aparecida Maria; BORSTAD, Alexandra; FURTADO, Natália Pereira Duarte; ANICETO, Isabela Arruda Verzola; RUSSO, Thiago Luiz. Effect of aerobic exercise prior to modified constraint-induced movement therapy outcomes in individuals with chronic hemiparesis: A study protocol for a randomized clinical trial. **BMC Neurology**, [S. l.], v. 19, n. 1, 2019. DOI: 10.1186/s12883-019-1421-4.

DE SOUSA NETO, Ivo V.; DURIGAN, João L. Q.; GUZZONI, Vinicius; TIBANA, Ramires A.; PRESTES, Jonato; SELISTRE DE ARAUJO, Heloisa S.; MARQUETI, Rita de Cássia. Effects of resistance training on matrix metalloproteinase activity in skeletal muscles and blood circulation during aging. **Frontiers in Physiology**, [S. l.], v. 9, n. MAR, 2018. DOI: 10.3389/fphys.2018.00190.

DRUMMOND, Micah J.; TIMMERMAN, Kyle L.; MARKOFSKI, Melissa M.; WALKER, Dillon K.; DICKINSON, Jared M.; JAMALUDDIN, Mohammad; BRASIER, Allan R.; RASMUSSEN, Blake B.; VOLPI, Elena. Short-term bed rest increases TLR4 and IL-6 expression in skeletal muscle of older adults. **American Journal of Physiology - Regulatory Integrative**

- and Comparative Physiology**, [*S. l.*], v. 305, n. 3, 2013. DOI: 10.1152/ajpregu.00072.2013.
- EKSTRAND, Elisabeth; LEXELL, Jan; BROGÅRDH, Christina. Test–Retest Reliability and Convergent Validity of Three Manual Dexterity Measures in Persons With Chronic Stroke. **PM and R**, [*S. l.*], v. 8, n. 10, 2016. DOI: 10.1016/j.pmrj.2016.02.014.
- EL-TAMAWY, Mohamed S.; ABD-ALLAH, Foad; AHMED, Sandra M.; DARWISH, Moshera H.; KHALIFA, Heba A. Aerobic exercises enhance cognitive functions and brain derived neurotrophic factor in ischemic stroke patients. **NeuroRehabilitation**, [*S. l.*], v. 34, n. 1, 2014. DOI: 10.3233/NRE-131020.
- FEIGIN, Valery L. Global, regional, and national burden of stroke and its risk factors, 1990–2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. **The Lancet Neurology**, [*S. l.*], v. 20, n. 10, 2021. DOI: 10.1016/S1474-4422(21)00252-0.
- FIELD, Andy P. **Discovering statistics using IBM SPSS statistics: 5th edition**. [s.l.: s.n.].
- FINI, Natalie A.; HOLLAND, Anne E.; KEATING, Jenny; SIMEK, Jacinta; BERNHARDT, Julie. **How physically active are people following stroke? Systematic review and quantitative synthesis** **Physical Therapy**, 2017. DOI: 10.1093/ptj/pzx038.
- FOLSTEIN, Marshal F.; FOLSTEIN, Susan E.; MCHUGH, Paul R. “Mini-mental state”. A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. **Journal of Psychiatric Research**, [*S. l.*], v. 12, n. 3, 1975. DOI: 10.1016/0022-3956(75)90026-6.
- GANDOLFI, Marialuisa; SMANIA, Nicola; VELLA, Antonio; PICELLI, Alessandro; CHIRUMBOLO, Salvatore. Assessed and Emerging Biomarkers in Stroke and Training-Mediated Stroke Recovery: State of the Art. **Neural Plasticity**, [*S. l.*], v. 2017, 2017. DOI: 10.1155/2017/1389475.
- GARCÍA-SALAZAR, Luisa Fernanda; RIBEIRO, Jean Alex Matos; CUNHA, Jonathan Emanuel; MATTIELLO, Stela Marcia; LUIZ RUSSO, Thiago. Serum activity of matrix metalloproteinase-2 and -9 is increased in chronic post-stroke individuals: a cross-sectional exploratory study. **Topics in Stroke Rehabilitation**, [*S. l.*], 2021. DOI: 10.1080/10749357.2021.1956048.
- GATTA, Lucia; ARMANI, Andrea; IELLAMO, Ferdinando; CONSOLI, Claudia; MOLINARI, Francesca; CAMINITI, Giuseppe; VOLTERRANI, Maurizio; ROSANO, Giuseppe M. C. Effects of a short-term exercise training on serum factors involved in ventricular remodelling in chronic heart failure patients. **International Journal of Cardiology**, [*S. l.*], v. 155, n. 3, 2012. DOI: 10.1016/j.ijcard.2010.10.045.
- GENEVA., WHO. Global Health Estimates 2020: Deaths by Cause, Age, Sex, by Country and by Region, 2000-2019. Geneva, World Health Organisation. **World Health Organization**, [*S. l.*], 2020.

GILL, Sean E.; PARKS, William C. Matrix Metalloproteinases and Their Inhibitors in Turnover and Degradation of Extracellular Matrix. *In: Extracellular Matrix Degradation*. Berlin: Springer, 2011. p. 1–21. DOI: 10.1007/978-3-642-16861-1.

GLADSTONE, David J.; DANELLS, Cynthia J.; BLACK, Sandra E. **The Fugl-Meyer Assessment of Motor Recovery after Stroke: A Critical Review of Its Measurement Properties***Neurorehabilitation and Neural Repair*, 2002. DOI: 10.1177/154596802401105171.

HOLDEN, M. K.; GILL, K. M.; MAGLIOZZI, M. R.; NATHAN, J.; PIEHL-BAKER, L. Clinical gait assessment in the neurologically impaired. Reliability and meaningfulness. **Physical Therapy**, [*S. l.*], v. 64, n. 1, 1984. DOI: 10.1093/ptj/64.1.35.

HSU, Chih Chin; FU, Tieh Cheng; HUANG, Shu Chun; CHEN, Carl Pai Chu; WANG, Jong Shyan. Increased serum brain-derived neurotrophic factor with high-intensity interval training in stroke patients: A randomized controlled trial. **Annals of Physical and Rehabilitation Medicine**, [*S. l.*], v. 64, n. 4, 2021. DOI: 10.1016/j.rehab.2020.03.010.

HUBERMAN, Melissa Ann; D'ADESKY, Nathan D.; NIAZI, Qismat Bahar; PEREZ-PINZON, Miguel A.; BRAMLETT, Helen M.; RAVAL, Ami P. **Irisin-Associated Neuroprotective and Rehabilitative Strategies for Stroke***NeuroMolecular Medicine*, 2021. DOI: 10.1007/s12017-021-08666-y.

JIN, Yunho; SUMSUZZMAN, Dewan Md; CHOI, Jeonghyun; KANG, Hyunbon; LEE, Sang Rae; HONG, Yonggeun. **Molecular and functional interaction of the myokine irisin with physical exercise and Alzheimer's disease***Molecules*, 2018. DOI: 10.3390/molecules23123229.

KIM, Ji Hyeon; KIM, Do Yeon. Aquarobic exercises improve the serum blood irisin and brain-derived neurotrophic factor levels in elderly women. **Experimental Gerontology**, [*S. l.*], v. 104, 2018. DOI: 10.1016/j.exger.2018.01.024.

KNOX, Allan. Arterial Aging, Metalloproteinase Regulation, and the Potential of Resistance Exercise. **Current Cardiology Reviews**, [*S. l.*], v. 14, n. 4, 2018. DOI: 10.2174/1573403x14666180801153801.

KOLLEN, Boudewijn; KWAKKEL, Gert; LINDEMAN, Eline. Time dependency of walking classification in stroke. **Physical Therapy**, [*S. l.*], v. 86, n. 5, 2006. DOI: 10.1093/ptj/86.5.618.

KREISEL, Stefan H.; STROICK, Mark; GRIEBE, Martin; ALONSO, Angelika; REUTER, Björn; HENNERICI, Michael G.; FATAR, Marc. True Effects or Bias? MMP-2 and MMP-9 Serum Concentrations after Acute Stroke. **Cerebrovascular Diseases**, [*S. l.*], v. 42, n. 5–6, 2016. DOI: 10.1159/000446405.

KUPAI, K.; SZUCS, G.; CSEH, S.; HAJDU, I.; CSONKA, C.; CSONT, T.; FERDINANDY, P. Matrix metalloproteinase activity assays: Importance of zymography. **Journal of**

- Pharmacological and Toxicological Methods**, [*S. l.*], v. 61, n. 2, 2010. DOI: 10.1016/j.vascn.2010.02.011.
- LANGHORNE, Peter; COUPAR, Fiona; POLLOCK, Alex. **Motor recovery after stroke: a systematic review***The Lancet Neurology*, 2009. DOI: 10.1016/S1474-4422(09)70150-4.
- LARONHA, Helena; CALDEIRA, Jorge. **Structure and Function of Human Matrix Metalloproteinases***Cells*, 2020. DOI: 10.3390/cells9051076.
- LAVIE, Carl J.; OZEMEK, Cemal; CARBONE, Salvatore; KATZMARZYK, Peter T.; BLAIR, Steven N. **Sedentary Behavior, Exercise, and Cardiovascular Health***Circulation Research*, 2019. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.118.312669.
- LEE, Ji Young; KWON, Su Yeon; KIM, Won Seok; HAHN, Soo Jung; PARK, Jihong; PAIK, Nam Jong. Feasibility, reliability, and validity of using accelerometers to measure physical activities of patients with stroke during inpatient rehabilitation. **PLoS ONE**, [*S. l.*], v. 13, n. 12, 2018. DOI: 10.1371/journal.pone.0209607.
- LI, Na et al. Association of molecular markers with perihematomal edema and clinical outcome in intracerebral hemorrhage. **Stroke**, [*S. l.*], v. 44, n. 3, 2013. DOI: 10.1161/STROKEAHA.112.673590.
- LIMAYE, Neeraj S.; CARVALHO, Lilian Braighi; KRAMER, Sharon. **Effects of Aerobic Exercise on Serum Biomarkers of Neuroplasticity and Brain Repair in Stroke: A Systematic Review***Archives of Physical Medicine and Rehabilitation*, 2021. DOI: 10.1016/j.apmr.2021.04.010.
- LIN, Xiaochen; ZHANG, Xi; GUO, Jianjun; ROBERTS, Christian K.; MCKENZIE, Steve; WU, Wen Chih; LIU, Simin; SONG, Yiqing. Effects of exercise training on cardiorespiratory fitness and biomarkers of cardiometabolic health: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. **Journal of the American Heart Association**, [*S. l.*], v. 4, n. 7, 2015. DOI: 10.1161/JAHA.115.002014.
- LINDER, Susan M.; ROSENFELDT, Anson B.; DAVIDSON, Sara; ZIMMERMAN, Nicole; PENKO, Amanda; LEE, John; CLARK, Cynthia; ALBERTS, Jay L. Forced, Not Voluntary, Aerobic Exercise Enhances Motor Recovery in Persons With Chronic Stroke. **Neurorehabilitation and Neural Repair**, [*S. l.*], v. 33, n. 8, 2019. DOI: 10.1177/1545968319862557.
- LINDER, Susan M.; ROSENFELDT, Anson B.; DEY, Tanujit; ALBERTS, Jay L. Forced aerobic exercise preceding task practice improves motor recovery poststroke. **American Journal of Occupational Therapy**, [*S. l.*], v. 71, n. 2, 2017. DOI: 10.5014/ajot.2017.020297.
- LING, Carolina H. Y.; DE CRAEN, Anton J. M.; SLAGBOOM, Pieternella E.; GUNN, Dave A.;

STOKKEL, Marcel P. M.; WESTENDORP, Rudi G. J.; MAIER, Andrea B. Accuracy of direct segmental multi-frequency bioimpedance analysis in the assessment of total body and segmental body composition in middle-aged adult population. **Clinical Nutrition**, [S. l.], v. 30, n. 5, 2011. DOI: 10.1016/j.clnu.2011.04.001.

LIU, Xuhui; LEE, David J.; SKITONE, Laura K.; NATSUHARA, Kyle; KIM, Hubert T. Role of gelatinases in disuse-induced skeletal muscle atrophy. **Muscle and Nerve**, [S. l.], v. 41, n. 2, 2010. DOI: 10.1002/mus.21463.

LO PRESTI, Rosalia; HOPPS, Eugenia; CAIMI, Gregorio. **Gelatinases and physical exercise: A systematic review of evidence from human studies** *Medicine (United States)*, 2017. DOI: 10.1097/MD.00000000000008072.

LOBO, Pedro Giovanni Garonce Alves; ZANON, Victor de Barcellos; LARA, Danilo De; FREIRE, Vinícius Benatti; NOZAWA, Christian Akira; ANDRADE, João Victor Bueno De; BARROS, Wesley Costa; LOBO, Isabella Garonce Alves. Epidemiologia do acidente vascular cerebral isquêmico no Brasil no ano de 2019, uma análise sob a perspectiva da faixa etária / Epidemiology of the ischemic cerebrovascular accident in Brazil in the year of 2019, an analysis from an age group perspective. **Brazilian Journal of Health Review**, [S. l.], v. 4, n. 1, 2021. DOI: 10.34119/bjhrv4n1-272.

LUCIVERO, V.; PRONTERA, M.; MEZZAPESA, D. M.; PETRUZZELLIS, M.; SANCILIO, M.; TINELLI, A.; DI NOIA, D.; RUGGIERI, M.; FEDERICO, Francesco. Different roles of matrix metalloproteinases-2 and -9 after human ischaemic stroke. **Neurological Sciences**, [S. l.], v. 28, n. 4, 2007. DOI: 10.1007/s10072-007-0814-0.

MA, Feifei et al. Plasma Matrix Metalloproteinases in Patients With Stroke During Intensive Rehabilitation Therapy. **Archives of Physical Medicine and Rehabilitation**, [S. l.], v. 97, n. 11, 2016. DOI: 10.1016/j.apmr.2016.06.007.

MAAK, Steffen; NORHEIM, Frode; DREVON, Christian A.; ERICKSON, Harold P. **Progress and Challenges in the Biology of FNDC5 and Irisin** *Endocrine Reviews*, 2021. DOI: 10.1210/endrev/bnab003.

MACKAY, Christopher P.; KUYS, Suzanne S.; BRAUER, Sandra G. **The Effect of Aerobic Exercise on Brain-Derived Neurotrophic Factor in People with Neurological Disorders: A Systematic Review and Meta-Analysis** *Neural Plasticity*, 2017. DOI: 10.1155/2017/4716197.

MACKO, Richard F.; HAEUBER, Elaina; SHAUGHNESSY, Marianne; COLEMAN, Kim L.; BOONE, David A.; SMITH, Gerald V.; SILVER, Kenneth H. Microprocessor-based ambulatory activity monitoring in stroke patients. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, [S. l.], v. 34, n. 3, 2002. DOI: 10.1097/00005768-200203000-00002.

MAKI, T.; QUAGLIATO, EMAB; CACHO, EWA; PAZ, LPS; NASCIMENTO, NH; INOUE, MMEA; VIANA, MA. Estudo de confiabilidade da aplicação da escala de Fugl-Meyer no Brasil. **Revista Brasileira de Fisioterapia**, [S. l.], v. 10, n. 2, 2006. DOI: 10.1590/s1413-35552006000200007.

MANG, Cameron S.; CAMPBELL, Kristin L.; ROSS, Colin J. D.; BOYD, Lara A. Promoting neuroplasticity for motor rehabilitation after stroke: Considering the effects of aerobic exercise and genetic variation on brain-derived neurotrophic factor. **Physical Therapy**, [S. l.], v. 93, n. 12, 2013. DOI: 10.2522/ptj.20130053.

MATHIOWETZ, V.; VOLLAND, G.; KASHMAN, N.; WEBER, K. Adult norms for the Box and Block Test of manual dexterity. **The American journal of occupational therapy. : official publication of the American Occupational Therapy Association**, [S. l.], v. 39, n. 6, 1985. a. DOI: 10.5014/ajot.39.6.386.

MATHIOWETZ, V.; WEBER, K.; KASHMAN, N.; VOLLAND, G. Adult norms for the nine hole peg test of finger dexterity. **Occupational Therapy Journal of Research**, [S. l.], v. 5, n. 1, 1985. b. DOI: 10.1177/153944928500500102.

MÉNDEZ-BARBERO, Nerea; GUTIÉRREZ-MUÑOZ, Carmen; BLÁZQUEZ-SERRA, Rafael; MARTÍN-VENTURA, Jose L.; BLANCO-COLIO, Luis M. **Tumor Necrosis Factor-Like Weak Inducer of Apoptosis (TWEAK)/Fibroblast Growth Factor-Inducible 14 (Fn14) Axis in Cardiovascular Diseases: Progress and Challenges** *Cells*, 2020. DOI: 10.3390/cells9020405.

MEZZANI, Alessandro; HAMM, Larry F.; JONES, Andrew M.; MCBRIDE, Patrick E.; MOHOLDT, Trine; STONE, James A.; URHAUSEN, Axel; WILLIAMS, Mark A. Aerobic exercise intensity assessment and prescription in cardiac rehabilitation: A joint position statement of the European Association for Cardiovascular Prevention and Rehabilitation, the American Association of Cardiovascular and Pulmonary Rehabilitation and the Canadian Association of Cardiac Rehabilitation. **European Journal of Preventive Cardiology**, [S. l.], v. 20, n. 3, 2013. DOI: 10.1177/2047487312460484.

MOORE, Sarah A.; HALLSWORTH, Kate; PLÖTZ, Thomas; FORD, Gary A.; ROCHESTER, Lynn; TRENELL, Michael I. Physical Activity, Sedentary Behaviour and Metabolic Control following Stroke: A Cross-Sectional and Longitudinal Study. **PLoS ONE**, [S. l.], v. 8, n. 1, 2013. DOI: 10.1371/journal.pone.0055263.

MORRIS, D. M.; TAUB, E. Constraint-induced therapy approach to restoring function after neurological injury. **Topics in Stroke Rehabilitation**, [S. l.], 2001. DOI: 10.1310/BLJX-M89N-PTPY-JDKW.

MORRIS, David M.; USWATTE, Gitendra; CRAGO, Jean E.; COOK, Edwin W.; TAUB,

Edward. The reliability of the wolf motor function test for assessing upper extremity function after stroke. **Archives of Physical Medicine and Rehabilitation**, [S. l.], v. 82, n. 6, 2001. DOI: 10.1053/apmr.2001.23183.

MUDGE, Suzie; STOTT, N. Susan; WALT, Sharon E. Criterion Validity of the StepWatch Activity Monitor as a Measure of Walking Activity in Patients After Stroke. **Archives of Physical Medicine and Rehabilitation**, [S. l.], v. 88, n. 12, 2007. DOI: 10.1016/j.apmr.2007.07.039.

MUNRO, B. H. Correlation . *In: Statistical methods for health care research* . 4th. ed. Philadelphia: Lippincott., 2001.

MURPHY, Timothy H.; CORBETT, Dale. **Plasticity during stroke recovery: From synapse to behaviour** **Nature Reviews Neuroscience**, 2009. DOI: 10.1038/nrn2735.

NAKAYAMA, Hirofumi; STIG JØRGENSEN, Henrik; OTTO RAASCHOU, Hans; SKYHØJ OLSEN, Tom. Recovery of upper extremity function in stroke patients: The Copenhagen stroke study. **Archives of Physical Medicine and Rehabilitation**, [S. l.], v. 75, n. 4, 1994. DOI: 10.1016/0003-9993(94)90161-9.

NASCIMENTO, Lucas R.; CAETANO, Lívia C. G.; FREITAS, Daniele C. M. A.; MORAIS, Tatiane M.; POLESE, Janaine C.; TEIXEIRA-SALMELA, Luci F. Different instructions during the ten-meter walking test determined significant increases in maximum gait speed in individuals with chronic hemiparesis. **Brazilian Journal of Physical Therapy**, [S. l.], v. 16, n. 2, 2012. DOI: 10.1590/s1413-35552012005000008.

NASCIMENTO, Lucas R.; DE OLIVEIRA, Camila Quel; ADA, Louise; MICHAELSEN, Stella M.; TEIXEIRA-SALMELA, Luci F. Walking training with cueing of cadence improves walking speed and stride length after stroke more than walking training alone: A systematic review. **Journal of Physiotherapy**, [S. l.], v. 61, n. 1, 2015. DOI: 10.1016/j.jphys.2014.11.015.

NICOLINI, Chiara; MICHALSKI, Bernadeta; TOEPP, Stephen L.; TURCO, Claudia V.; D'HOINE, Tarra; HARASYM, Diana; GIBALA, Martin J.; FAHNESTOCK, Margaret; NELSON, Aimee J. A Single Bout of High-intensity Interval Exercise Increases Corticospinal Excitability, Brain-derived Neurotrophic Factor, and Uncarboxylated Osteocalcin in Sedentary, Healthy Males. **Neuroscience**, [S. l.], v. 437, 2020. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2020.03.042.

NOGUCHI, Kenneth S.; MONCION, Kevin; WILEY, Elise; MACDONALD, Maureen J.; RICHARDSON, Julie; ROIG, Marc; TANG, Ada. Prolonged Elevation of Arterial Stiffness Following Peak Aerobic Exercise in Individuals With Chronic Stroke. **Frontiers in Physiology**, [S. l.], v. 12, 2021. DOI: 10.3389/fphys.2021.666171.

NOSOVA, Emily V. et al. Short-term physical inactivity impairs vascular function. **Journal of Surgical Research**, [S. l.], v. 190, n. 2, 2014. DOI: 10.1016/j.jss.2014.02.001.

- PANG, Marco Y. C.; ENG, Janice J.; DAWSON, Andrew S.; GYLFADÓTTIR, Sif. **The use of aerobic exercise training in improving aerobic capacity in individuals with stroke: A meta-analysis***Clinical Rehabilitation*, 2006. DOI: 10.1191/0269215506cr926oa.
- PEDERSEN, Bente Klarlund. **Physical activity and muscle–brain crosstalk***Nature Reviews Endocrinology*, 2019. DOI: 10.1038/s41574-019-0174-x.
- PEREIRA, Natalia D.; MICHAELSEN, Stella M.; MENEZES, Isabella S.; OVANDO, Angélica C.; LIMA, Renata C. M.; TEIXEIRA-SALMELA, Luci F. Confiabilidade da versão brasileira do wolf motor function test em adultos com hemiparesia. **Revista Brasileira de Fisioterapia**, [S. l.], v. 15, n. 3, 2011. DOI: 10.1590/S1413-35552011000300013.
- PÉREZ FERNÁNDEZ, Ruth; KASKI, Juan Carlos. **Interleukin-10 and coronary disease***Revista Espanola de Cardiologia*, 2002. DOI: 10.1016/S0300-8932(02)76693-1.
- PETERSEN, Anne Marie W.; PEDERSEN, Bente Klarlund. **The anti-inflammatory effect of exercise***Journal of Applied Physiology*, 2005. DOI: 10.1152/jappphysiol.00164.2004.
- PINHEIRO-DARDIS, Clara Maria; RUSSO, Thiago Luiz. Electrical Stimulation Based on Chronaxie Increases Fibrosis and Modulates TWEAK/Fn14, TGF- β /Myostatin, and MMP Pathways in Denervated Muscles. **American Journal of Physical Medicine and Rehabilitation**, [S. l.], v. 96, n. 4, 2017. DOI: 10.1097/PHM.0000000000000601.
- PURVES, Dale; AUGUSTINE, George J.; FITZPATRIK, David; HALL, William C.; LAMANTIA, Anthony-Samuel; MCNAMARA, James O.; WILLIAMS, S. Mark. **Purves Neuroscience**. [s.l: s.n.].
- RAMIRO, Laura; SIMATS, Alba; GARCÍA-BERROCOSO, Teresa; MONTANER, Joan. **Inflammatory molecules might become both biomarkers and therapeutic targets for stroke management***Therapeutic Advances in Neurological Disorders*, 2018. DOI: 10.1177/1756286418789340.
- REGEHR, Wade G.; CAREY, Megan R.; BEST, Aaron R. **Activity-Dependent Regulation of Synapses by Retrograde Messengers***Neuron*, 2009. DOI: 10.1016/j.neuron.2009.06.021.
- REMPE, Ralf G.; HARTZ, Anika M. S.; BAUER, Björn. **Matrix metalloproteinases in the brain and blood-brain barrier: Versatile breakers and makers***Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 2016. DOI: 10.1177/0271678X16655551.
- RIBEIRO, Jean A. M.; OLIVEIRA, Simone G.; DI THOMMAZO-LUPORINI, Luciana; MONTEIRO, Clara I.; PHILLIPS, Shane A.; CATAI, Aparecida M.; BORGHI-SILVA, Audrey; RUSSO, Thiago L. Energy cost during the 6-minute walk test and its relationship to real-world walking after stroke: A correlational, cross-sectional pilot study. **Physical Therapy**, [S. l.], v. 99, n. 12, 2019. DOI: 10.1093/ptj/pzz122.

ROMI, Fredrik; HELGELAND, Geir; GILHUS, Nils Erik. **Serum levels of matrix metalloproteinases: Implications in clinical neurology** *European Neurology*, 2012. DOI: 10.1159/000334862.

ROSS, Mark D.; WEKESA, Antony L.; PHELAN, John P.; HARRISON, Michael. Resistance exercise increases endothelial progenitor cells and angiogenic factors. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, [S. l.], v. 46, n. 1, 2014. DOI: 10.1249/MSS.0b013e3182a142da.

SADASHIV; TIWARI, Sunita; GUPTA, Vani; PAUL, Bhola Nath; KUMAR, Sandeep; CHANDRA, Abhijit; DHANANJAI, S.; NEGI, Mahendra Pal Singh; GHATAK, Ashim. IL-6 gene expression in adipose tissue of postmenopausal women and its association with metabolic risk factors. **Molecular and Cellular Endocrinology**, [S. l.], v. 399, 2015. DOI: 10.1016/j.mce.2014.08.008.

SALBACH, Nancy M.; MAYO, Nancy E.; HIGGINS, Johanne; AHMED, Sara; FINCH, Lois E.; RICHARDS, Carol L. Responsiveness and predictability of gait speed and other disability measures in acute stroke. **Archives of Physical Medicine and Rehabilitation**, [S. l.], v. 82, n. 9, 2001. DOI: 10.1053/apmr.2001.24907.

SALIBA, Viviane Amaral; DE CASTRO MAGALHÃES, Livia; DE MORAIS FARIA, Christina Danielli Coelho; LAURENTINO, Glória Elizabeth Carneiro; CASSIANO, Janine Gomes; TEIXEIRA-SALMELA, Luci Fuscaldi. Cross-cultural adaptation and analysis of the psychometric properties of the Brazilian version of the motor activity log. **Revista Panamericana de Salud Pública**, [S. l.], v. 30, n. 3, 2011. DOI: 10.1590/S1020-49892011000900011.

SIEBERS, A.; ÖBERG, U.; SKARGREN, E. The effect of modified constraint-induced movement therapy on spasticity and motor function of the affected arm in patients with chronic stroke. **Physiotherapy Canada**, [S. l.], v. 62, n. 4, 2010. DOI: 10.3138/physio.62.4.388.

STOYKOV, Mary Ellen; MADHAVAN, Sangeetha. Motor priming in neurorehabilitation. **Journal of Neurologic Physical Therapy**, [S. l.], v. 39, n. 1, 2015. DOI: 10.1097/NPT.0000000000000065.

SUHR, Frank; BRIXIUS, Klara; DE MARÉES, Markus; BÖLCK, Birgit; KLEINÖDER, Heinz; ACHTZEHN, Silvia; BLOCH, Wilhelm; MESTER, Joachim. Effects of short-term vibration and hypoxia during high-intensity cycling exercise on circulating levels of angiogenic regulators in humans. **Journal of Applied Physiology**, [S. l.], v. 103, n. 2, 2007. DOI: 10.1152/jappphysiol.01160.2006.

TAUB, E.; MILLER, N. E.; NOVACK, T. A.; COOK, E. W.; FLEMING, W. C.; NEPOMUCENO, C. S.; CONNELL, J. S.; CRAGO, J. E. Technique to improve chronic motor deficit after stroke. **Archives of Physical Medicine and Rehabilitation**, [S. l.], 1993.

THILARAJAH, Shamala; MENTIPLAY, Benjamin F.; BOWER, Kelly J.; TAN, Dawn; PUA, Yong Hao; WILLIAMS, Gavin; KOH, Gerald; CLARK, Ross A. **Factors Associated With Post-Stroke Physical Activity: A Systematic Review and Meta-Analysis** *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation*, 2018. DOI: 10.1016/j.apmr.2017.09.117.

TIEGES, Zoë; MEAD, Gillian; ALLERHAND, Mike; DUNCAN, Fiona; VAN WIJCK, Frederike; FITZSIMONS, Claire; GREIG, Carolyn; CHASTIN, Sebastien. Sedentary behavior in the first year after stroke: A longitudinal cohort study with objective measures. *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation*, [S. l.], v. 96, n. 1, 2015. DOI: 10.1016/j.apmr.2014.08.015.

URSO, Maria L.; PIERCE, Joseph R.; ALEMANY, Joseph A.; HARMAN, Everett A.; NINDL, Bradley C. Effects of exercise training on the matrix metalloprotease response to acute exercise. *European Journal of Applied Physiology*, [S. l.], v. 106, n. 5, 2009. DOI: 10.1007/s00421-009-1063-0.

USWATTE, G.; TAUB, E.; MORRIS, D.; LIGHT, K.; THOMPSON, P. A. The Motor Activity Log-28: Assessing daily use of the hemiparetic arm after stroke. *Neurology*, [S. l.], v. 67, n. 7, 2006. DOI: 10.1212/01.wnl.0000238164.90657.c2.

VALKENBORGHES, Sarah R.; VAN VLIET, Paulette; NILSSON, Michael; ZALEWSKA, Katarzyna; VISSER, Milanka M.; ERICKSON, Kirk I.; CALLISTER, Robin. Aerobic exercise and consecutive task-specific training (AExaCTT) for upper limb recovery after stroke: A randomized controlled pilot study. *Physiotherapy Research International*, [S. l.], v. 24, n. 3, 2019. DOI: 10.1002/pri.1775.

WALIA, Vijay; SAMUELS, Yarden. Analysis of enzymatic activity of matrix metalloproteinase (MMP) by collagen zymography in Melanoma. *In: Methods in Molecular Biology*. [s.l.: s.n.]. v. 1731. DOI: 10.1007/978-1-4939-7595-2_10.

WINSTEIN, Carolee J. et al. Guidelines for Adult Stroke Rehabilitation and Recovery. *Stroke*, [S. l.], 2016. DOI: 10.1161/str.0000000000000098.

YANG, Yi; ROSENBERG, Gary A. **Matrix metalloproteinases as therapeutic targets for stroke** *Brain Research*, 2015. DOI: 10.1016/j.brainres.2015.04.024.

YASMIN; WALLACE, Sharon; MCENIERY, Carmel M.; DAKHAM, Zahid; PUSALKAR, Pawan; MAKI-PETAJA, Kaisa; ASHBY, Mike J.; COCKCROFT, John R.; WILKINSON, Ian B. Matrix metalloproteinase-9 (MMP-9), MMP-2, and serum elastase activity are associated with systolic hypertension and arterial stiffness. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, [S. l.], v. 25, n. 2, 2005. DOI: 10.1161/01.ATV.0000151373.33830.41.

YOON, Jin A.; KOO, Bon Il; SHIN, Myung Jun; SHIN, Yong Beom; KO, Hyun Yoon; SHIN,


Yong II. Effect of constraint-induced movement therapy and mirror therapy for patients with subacute stroke. **Annals of Rehabilitation Medicine**, [S. l.], v. 38, n. 4, 2014. DOI: 10.5535/arm.2014.38.4.458.


ZHANG, Xuefeng et al. Enhancement Characteristics of Middle Cerebral Arterial Atherosclerotic Plaques Over Time and Their Correlation With Stroke Recurrence. **Journal of Magnetic Resonance Imaging**, [S. l.], v. 53, n. 3, 2021. DOI: 10.1002/jmri.27351.

ZHONG, Chongke et al. Serum matrix metalloproteinase-9 levels and prognosis of acute ischemic stroke. **Neurology**, [S. l.], v. 89, n. 8, 2017. DOI: 10.1212/WNL.0000000000004257.

ZHOU, L.; KOU, D. Q. Correlation between acute myocardial infarction complicated with cerebral infarction and expression levels of MMP-2 and MMP-9. **European Review for Medical and Pharmacological Sciences**, [S. l.], v. 23, n. 1, 2019. DOI: 10.26355/eurrev_201901_16776.

ANEXOS – Artigos científicos publicados





Topics in Stroke Rehabilitation


ISSN: (Print) (Online) Journal homepage: <https://www.tandfonline.com/ol/ytsr20>



Serum activity of matrix metalloproteinase-2 and -9 is increased in chronic post-stroke individuals: a cross-sectional exploratory study


Luisa Fernanda García-Salazar, Jean Alex Matos Ribeiro, Jonathan Emanuel Cunha, Stela Marcia Mattiello & Thiago Luiz Russo



To cite this article: Luisa Fernanda García-Salazar, Jean Alex Matos Ribeiro, Jonathan Emanuel Cunha, Stela Marcia Mattiello & Thiago Luiz Russo (2021): Serum activity of matrix metalloproteinase-2 and -9 is increased in chronic post-stroke individuals: a cross-sectional exploratory study, *Topics in Stroke Rehabilitation*, DOI: [10.1080/10749357.2021.1956048](https://doi.org/10.1080/10749357.2021.1956048)



To link to this article: <https://doi.org/10.1080/10749357.2021.1956048>

 Published online: 02 Aug 2021.

 [Submit your article to this journal](#) 

 Article views: 4

 [View related articles](#) 

 [View Crossmark data](#) 

Full Terms & Conditions of access and use can be found at
<https://www.tandfonline.com/action/journalInformation?journalCode=ytsr20>

Adiponectin Concentration and Chronic Stroke Individuals, Associations with Body Composition, Physical Activity Levels and Lipid Profile: A Cross-Sectional Explorative Study

Luisa Fernanda García-Salazar, MSc,^{ab} Jean Alex Matos Ribeiro, MSc,^a
 Cássia Regina Saade-Pacheco, PhD,^{ac} Stela Márcia Mattiello, PhD,^a
 Aparecida Maria Catai, PhD,^a Adriana Sanches Garcia-Araújo, PhD,^a and
 Thiago Luiz Russo, PhD^a

Objective: Higher adiponectin concentration has been associated with the presence of sarcopenia in individuals with cardiovascular diseases. Post-stroke individuals presented higher adiponectin concentrations than non-stroke ones. However, no previous study has investigated the association between the adiponectin concentration and skeletal muscle mass in post-stroke individuals. On the other hand, higher adiponectin concentration has been associated with a more favorable lipid profile and the physical activity level might regulate adiponectin concentration. These associations have not been studied in this population. Thus, the main objective of this study was to determine whether the adiponectin concentration is associated with: (1) body composition; (2) lipid profile; and (3) physical activity level in chronic post-stroke individuals. **Materials and Methods:** This study was a correlational, cross-sectional exploratory study. 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 (r_s). **Results:** Twenty-one post-stroke participants took part in the study. The adiponectin concentration was associated with the following: skeletal muscle mass ($r_s = -0.78$), skeletal muscle mass index ($r_s = -0.75$) and high-density lipoprotein ($r_s = 0.43$). **Conclusions:** A greater adiponectin concentration is associated with a lower skeletal muscle mass and a higher high-density lipoprotein level in chronic post-stroke individuals, but not with physical activity levels.

Key Words: Adiponectin—Body composition—Skeletal muscle—High-density lipoproteins lipids—Physical activity—Stroke
 © 2021 Elsevier Inc. All rights reserved.

From the ^aDepartment of Physical Therapy, Federal University of São Carlos, São Carlos, Brazil; ^bPhysical Therapy Program, Rehabilitation Sciences Research Group, School of Medicine and Health Sciences, Universidad del Rosario, Bogotá, Colombia; and ^cEducational Foundation of the Municipality of Axta, Municipal Institute of Higher Education of Axta, Axta, Brazil.

Received February 2, 2021; revision received June 28, 2021; accepted July 1, 2021.

Corresponding author's contact information: Laboratório de Pesquisa em Fisioterapia Neurológica, Departamento de Fisioterapia, Universidade Federal de São Carlos, Rodovia Washington Luís, km 235 – SP-310, Morjoinho, CEP: 13565-905, São Carlos, São Paulo, Brazil. Telephone: +55 16 3351-9578. Email: maria@ufscar.br; Email: marcel@ufscar.br.

1052-3057/\$ - see front matter

© 2021 Elsevier Inc. All rights reserved.

<https://doi.org/10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2021.105993>



Contents lists available at ScienceDirect

Clinica Chimica Acta

journal homepage: www.elsevier.com/locate/acta

Review

Prognostic molecular markers for motor recovery in acute hemorrhagic stroke: A systematic review

Jean Alex Mateo Ribeiro^a, Luiza Fernanda Garcia-Salazar^{a,b}, Cássia Regina Saade-Pacheco^{a,c},
Érika Shirley Moreira Silva^a, Simone Garcia Oliveira^a, Ana Flávia Silveira^a,
Adriana Sanches Garcia-Araújo^a, Thiago Luis Russo^{a,*}

^a Federal University of São Carlos, Department of Physical Therapy, São Carlos, Brazil

^b Universidad del Rosario, School of Medicine and Health Sciences, Rehabilitation Science Research Group, Bogotá, Colombia

^c Educational Foundation of the Municipality of Asa, Municipal Institute of Higher Education of Asa, Asa, Brazil

ARTICLE INFO

Keywords:

Stroke
Hemorrhagic stroke
Biomarkers
Prognosis
Recovery of function

ABSTRACT

Background and aims: Molecular biomarkers are associated with poor prognosis in ischemic stroke individuals. However, it might not be generalizable to post-acute hemorrhagic stroke since the underlying mechanisms of this brain damage differ from those found in ischemic stroke. The main purpose of this review was to synthesize the potential predictive molecular biomarkers for motor recovery following acute hemorrhagic stroke.

Materials and methods: An electronic search was conducted by 2 independent reviewers in the following databases: PubMed (Medline), EMBASE, Web of Science, and CINAHL. We included studies that addressed the following: collected blood, urine, or cerebrospinal fluid samples within 72 h after hemorrhagic stroke and that reported the prognostic association with functional motor recovery for each molecular biomarker. Screening of titles, abstracts, and full texts and data extraction were undertaken independently by pairs of reviewers.

Results: Twelve thousand, five hundred and sixty-four studies were identified and 210 were considered eligible. Finally, we included 70 studies, with 96 biomarkers analyzed, of which 61 were considered as independent prognostic biomarkers, and 10 presented controversial results.

Conclusion: This systematic review shows that motor functional recovery can be predicted by 61 independent prognostic molecular biomarkers assessed in the acute phase after a hemorrhagic stroke.

1. Introduction

Over the last decades, molecular biomarkers in stroke 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 [1]. Furthermore, neuroimaging biomarkers (e.g., magnetic resonance imaging and computed tomography) commonly used after brain injury

are limited to clarifying systemic physiological mechanisms underlying brain recovery [1]. The combination of molecular biomarkers and clinical severity or neuroimaging findings have been leading to increased prognostic accuracy for motor functional recovery after stroke [2–6], which may help clinicians to identify the most vulnerable individuals to the worst short- and long-term functional prognosis after injury and ensure that they receive the amount of rehabilitation needed to maximize outcome after stroke since from an intensive care unit.

Abbreviations: Ang-1, Angiotensin 1; AUC, Area under the curve; eGFR, Estimated glomerular filtration rate; FN, False negative; FP, False positive; GCS, Glasgow Coma Scale; NIHSS, National Institute of Health Stroke Scale; NLR, Neutrophil to lymphocyte ratio; PRISMA, Preferred Reporting Items for Systematic reviews and Meta-Analyses; PROSPERO, International Prospective Register of Systematic Reviews; QUADAS-2, Quality Assessment of Diagnostic Accuracy Studies 2; ROC, Receiver operating characteristic; StAct, State of the Art through Systematic Review; TN, True negative; TP, True positive; VEGF, Vascular endothelial growth factor; WBC, White blood cell.

* Corresponding author at: Laboratório de Pesquisa em Fisioterapia Neurológica, Departamento de Fisioterapia, Universidade Federal de São Carlos, Rodovia Washington Luis, km 235 - SP-310, Morjalinho, CEP: 13565-905 São Carlos, São Paulo, Brazil.

E-mail addresses: ribeiro-mateo@hotmail.com (J. Alex Mateo Ribeiro), luzafg.garcia@ufscar.br (L. Fernanda Garcia-Salazar), cassia.pacheco@fema.edu.br (C. Regina Saade-Pacheco), erikashirley.fstoped@gmail.com (E. Shirley Moreira Silva), garciaadclbwtwaimone@gmail.com (S. Garcia Oliveira), anab@sonadante.ufscar.br (A. Flávia Silveira), adrianagarcia@ufscar.br (A. Sanches Garcia-Araújo), russot@ufscar.br (T. Luis Russo).

<https://doi.org/10.1016/j.cca.2021.06.006>

Received 11 May 2021; Received in revised form 6 August 2021; Accepted 7 August 2021

Available online 10 August 2021

0009-8961/© 2021 Elsevier B.V. All rights reserved.