



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS

CAMILA VIEIRA LIGO TEIXEIRA

**TREINAMENTO MULTIFUNCIONAL EM SUJEITOS IDOSOS
COM COMPROMETIMENTO COGNITIVO LEVE AMNÉSICO
COM EVIDÊNCIA FISIOPATOLÓGICA DA DOENÇA DE
ALZHEIMER: EFEITOS EM PARÂMETROS CLÍNICOS E DE
NEUROIMAGEM FUNCIONAL E ESTRUTURAL**

*MULTIFUNCTIONAL TRAINING ON ELDERLY WITH AMNESTIC MILD
COGNITIVE IMPAIRMENT DUE TO AD: EFFECTS ON CLINICAL
PARAMETERS AND FUNCTIONAL AND STRUCTURAL
NEUROIMAGING.*

Campinas, 2018

CAMILA VIEIRA LIGO TEIXEIRA

**TREINAMENTO MULTIFUNCIONAL EM SUJEITOS IDOSOS
COM COMPROMETIMENTO COGNITIVO LEVE AMNÉSICO
COM EVIDÊNCIA FISIOPATOLÓGICA DA DOENÇA DE
ALZHEIMER: EFEITOS EM PARÂMETROS CLÍNICOS E DE
NEUROIMAGEM FUNCIONAL E ESTRUTURAL**

*MULTIFUNCTIONAL TRAINING ON ELDERS WITH AMNESTIC MILD
COGNITIVE IMPAIRMENT DUE TO AD: EFFECTS ON CLINICAL
PARAMETERS AND FUNCTIONAL AND STRUCTURAL
NEUROIMAGING.*

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Médicas da
Universidade Estadual de Campinas como parte dos
requisitos exigidos para a obtenção do título de Doutora em
Ciências Médicas, Área de Concentração Ciências
Biomédicas.

*Ph.D thesis presented to School of Medical Sciences of the
University of Campinas, as part of the demand requirements
to obtain the title of Doctor of Medical Sciences, in the
subarea of Biomedicine.*

ORIENTADOR: PROF. DR. MARCIO LUIZ FIGUEREDO BALTHAZAR

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DA TESE DEFENDIDA PELA ALUNA
CAMILA VIEIRA LIGO TEIXEIRA E ORIENTADO PELO PROF. DR. MARCIO LUIZ FIGUEREDO
BALTHAZAR.

Campinas, 2018

Agência(s) de fomento e nº(s) de processo(s): FAPESP, 2014/02359-9; CAPES, 01-P-3484/2014

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9440-0907>

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca da Faculdade de Ciências Médicas
Ana Paula de Moraes e Oliveira - CRB 8/8985

T235t Teixeira, Camila Vieira Ligo, 1981-
Treinamento multifuncional em sujeitos com comprometimento cognitivo leve amnésico com evidência fisiopatológica da doença de Alzheimer : efeitos em parâmetros clínicos e de neuroimagem funcional e estrutural / Camila Vieira Ligo Teixeira. – Campinas, SP : [s.n.], 2018.

Orientador: Marcio Luiz Figueredo Balthazar.
Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Ciências Médicas.

1. Comprometimento cognitivo leve. 2. Exercício físico. 3. Cognição. 4. Cérebro. I. Balthazar, Marcio Luiz Figueredo, 1975-. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em outro idioma: Multifunctional training on subjects with amnesic mild cognitive impairment due to AD : effects on clinical parameters and functional and structural neuroimaging

Palavras-chave em inglês:

Mild cognitive impairment

Physical exercise

Cognition

Brain

Área de concentração: Ciências Biomédicas

Titulação: Doutora em Ciências Médicas

Banca examinadora:

Marcio Luiz Figueredo Balthazar [Orientador]

Francisco de Assis Carvalho do Vale

Eduardo Bodnariuc Fontes

Marco Carlos Uchida

André Fattori

Data de defesa: 25-01-2018

Programa de Pós-Graduação: Ciências Médicas

BANCA EXAMINADORA DA DEFESA DE DOUTORADO

CAMILA VIEIRA LIGO TEIXEIRA

ORIENTADOR: PROF. DR. MARCIO LUIZ FIGUEREDO BALHAZAR

MEMBROS:

- 1. PROF. DR. MARCIO LUIZ FIGUEREDO BALHAZAR**
 - 2. PROF. DR. FRANCISCO DE ASSIS CARVALHO DO VALE**
 - 3. PROF. DR. EDUARDO BODNARIUC FONTES**
 - 4. PROF. DR. MARCO CARLOS UCHIDA**
 - 5. PROF. DR. ANDRÉ FATTORI**
-

Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.

A ata de defesa com as respectivas assinaturas dos membros da banca examinadora encontra-se no processo de vida acadêmica do aluno.

Data: 25/01/2018

“O conhecimento nos faz responsáveis”

(Che Guevara)

Aos meus pais Mario e Regina Teixeira,
por todo apoio e por serem sempre meu exemplo.

Agradecimentos

Nossa, tenho tanta gente para agradecer.

Sempre à minha família, por ter me dado suporte e me suportado em mais essa etapa longa, com alterações de humor... Amo vocês!!!

Aos meus amigos, não acadêmicos, que antes não sabiam o que era mestrado, mas agora acham o máximo eu terminar o doutorado... Ainda acham que eu estudo demais... (mal sabem eles...)

Aos amigos que a vida acadêmica me deu. Começando pela graduação na FEF, o mestrado na UNESP em Rio Claro – foi no mestrado que comecei a entender o que era pesquisa, e fiz uma ponte para o doutorado; meus quase 2 anos de “estágio” no INCOR, me fizeram aprender muito e fiz amigos eternos.

E aqui, voltando para UNICAMP, entrando no HC... Quantos amigos e colegas eu fiz. Pessoas diretamente ligadas à minha pesquisa, e outros não ligados à pesquisa... Poderia falar de cada um de vocês, mas vocês sabem o quão importante foram para mim, o quanto me ajudaram... Aliás, isso foi o que mais aprendi: PEDIR AJUDA! Ok, ainda sinto muito em pedir ajuda, mas descobri que nenhum trabalho bem feito é desenvolvido sozinho!

Falando em ajuda, esse trabalho tão grande só poderia ter ajuda de vários centros e pessoas com formação diferentes: físicos, físicos médicos, educadores físicos, biólogos, médicos, psicólogos, LNI, Física Médica, genética, cardiologia, psiquiatria, neurologia, UNICAMP, USP.... Sem vocês o trabalho não sairia!

O pessoal da coleta do HC e Dr Sussumo por sempre me receberem, e aos idosos, com um sorriso.

LIM-27 da USP – Leda Talib e Helena Joaquim suas lindas, muito obrigada por me aguentarem vários dias aí.

Os meninos da física, não só por ajudarem e ensinarem as análises, mas pelas risadas e puxões de orelha!!

Às meninas da ressonância: não tenho palavras para descrever o quanto vocês me ajudaram, sempre com um sorriso e muito trabalho. E mais a amizade!

Ao grupo *Neuro Cognitiva* UNICAMP: Marina Weiler, Ana Flavia Cassani (mãe de gêmeos) e Thamires Magalhães: muito obrigada! Sem vocês a pesquisa não andaria, e talvez nem minha vida!

Um agradecimento especial ao meu orientador Marcio Balthazar, que, apesar de me achar louca, acreditou no meu trabalho e deixou eu seguir meu sonho que era trabalhar com esse grupo de pacientes e com treinamento físico.

Pedro Nechio e Mariana Pires, por terem acompanhado o treino dos idosos, mesmo quando eu estava na Alemanha durante o BEPE. Obrigada mais ainda pela amizade.

E claro, meu coração fica para os idosos que participaram desse estudo! Como eu sempre disse a vocês: “vocês estão muito mais me ajudando, do que eu à vocês.

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo apoio financeiro cedido diretamente e por toda infraestrutura que patrocinou sob os processos números 2014/02359-9 e 20015/19244-4.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro cedido via bolsa de estudos.

Muito obrigada!

RESUMO

Comprometimento Cognitivo Leve amnésico (CCLa) é um termo clínico que se aplica a pacientes com declínio objetivo da memória episódica, mas com desempenho sócio-funcional normal. Esses pacientes apresentam maior chance de desenvolverem demência da doença de Alzheimer (DA), a qual surge dependência para atividades de vida diária. Existem marcadores moleculares no líquido cefalorraquidiano (LCR), como o peptídeo beta-amiloide de 42 unidades $A\beta_{1-42}$ e as proteínas tau total e tau fosforilada (p-tau) que, quando alterados, evidenciam que o sujeito apresenta fisiopatologia da DA e maior chance de evoluir para demência.

A prática de exercícios aeróbios e resistidos mostraram-se efetivos na melhora cognitiva e sócio-funcional de idosos. Outro tipo de exercício que tem ganhado destaque é o multifuncional (MEP), pois envolve várias capacidades físicas em um programa só. Existe uma relação positiva entre a prática de exercício físico e a estrutura e conectividade cerebral em idosos, mas até o momento não foram feitos estudos que comprovassem a eficácia dos exercícios físicos em idosos CCL com a fisiopatologia da DA. Assim o objetivo da presente tese foi verificar o efeito de 12 meses de um programa de exercício multifuncional aeróbio na memória episódica, atividades de vida diária e estrutura e conectividade cerebral de idosos com CCL amnésico com evidência fisiopatológica da DA, esperando obter dados que subsidiem hipóteses sobre o real efeito da prática de exercícios aeróbios nesse grupo com risco aumentado. Além disso, procuramos relações entre integridade da estrutura cerebral e nível de condicionamento aeróbio desses sujeitos. Para tal foram realizados 3 estudos. Em todos, os sujeitos estudados eram idosos diagnosticados com CCLa com a fisiopatologia da DA, ou seja, apresentavam alteração pelo menos na concentração do peptídeo beta-amiloide e/ou na relação $A\beta_{1-42}/p\tau$ no LCR. No primeiro estudo verificamos a relação entre o condicionamento aeróbio e substância cinzenta de áreas frontais de idosos com CCLa e observamos também essa relação positiva com vários tratos da substância branca que ligam regiões frontais, temporais e parietais. Já nos estudos 2 e 3, analisamos o efeito da intervenção MEP. O estudo 2 mostrou que além de melhora em condicionamento aeróbio e memória, houve também um aumento do volume de hipocampo esquerdo e direito dos idosos que praticaram por 6 meses o MEP, enquanto os que não praticaram apresentaram uma piora significativa em funcionalidade e memória. O estudo 3 mostrou que 12 meses de prática

do MEP beneficiou significativamente o condicionamento aeróbio, memória e funcionalidade de seus praticantes, mas sem alteração na conectividade da *Default Mode Network*.

Nossos resultados sugerem que o condicionamento aeróbio tem relação positiva com o córtex frontal e tratos da substância branca que conectam áreas frontais, parietais e temporais. Além disso, o treinamento MEP não apenas contribuiu para a melhora do condicionamento aeróbio, performance na memória e funcionalidade, mas também teve influência positiva no volume de hipocampo desses idosos com CCLa e evidência fisiopatológica da DA.

Palavras-chave: Comprometimento cognitivo leve amnésico, exercício físico, cognição, cérebro.

ABSTRACT

Amnesic Mild Cognitive Impairment (aMCI) is a clinical term applied to patients with memory decline but with normal social functional performance. These patients are more likely to develop the dementia in Alzheimer's disease (AD), in which there is a dependency on daily living activities. There are molecular markers found in cerebrospinal fluid (CSF), such as amyloid- beta peptide ($A\beta_{1-42}$) and total tau and phosphorylated tau proteins that, when altered, show that the subject has pathophysiology of AD and a higher chance of developing dementia.

The practice of aerobic and resistance exercises demonstrated to be effective improving the cognitive and socio-functional performance in elders. Another type of exercise is multicomponent (MEP), which involves several physical capabilities in one program. There is a positive relationship between physical exercise and brain in elders, but the literature showing physical exercise efficacy in elderly CCL patients with a pathophysiology of AD is scarce. Thus, the main objective of the present thesis was to evaluate the effects of 12 months of a multicomponent exercise program in episodic memory, daily life activities and brain structure and connectivity of elderly with aMCI due to AD. Besides that, we analyzed possible relation between brain structure integrity and aerobic fitness in those subjects.

Three studies were carried out. In all, the subjects studied were old adults diagnosed with aMCI due to AD, that is, they presented alterations, at least, in the concentration of peptide beta-amyloid and/or in the ratio $A\beta_{1-42}/p\tau$ analyzed in the CSF. In the first study, we observed relationship between aerobic fitness and gray matter of frontal areas and also positive relationship with various white matter tracts that connect the frontal, temporal and parietal regions. In studies 2 and 3, we analyzed the effect of the MEP intervention. Study 2 showed that in addition to an improvement in aerobic fitness and memory, the left and right hippocampus volume of the elderly who practiced MEP for 6 months also increased, while the group that did not practice showed worsening in functional activities and memory. Study 3 showed that 12 months of MEP practice significantly increased aerobic fitness, memory and performance in social-functional activity of its practitioners, but without changes in Default mode network connectivity.

Our results suggest that aerobic fitness is positively related to the frontal cortex and white matter tracts that connect frontal, parietal and temporal areas. In addition, MEP

training not only contributed to an improvement in aerobic fitness, memory performance and functionality, but also had a positive influence on the hippocampi volume of elders with aMCI due to AD.

Key-words: amnesic mild cognitive impairment, physical exercise, cognition, brain.

Lista de abreviaturas

A β ₁₋₄₂ – peptídeo beta-amiloide de 42 unidades

BOLD – *blood oxygenation level dependent*, dependente do nível de oxigenação do sangue

CCL – comprometimento cognitivo leve

CCLa – comprometimento cognitivo leve amnésico

DA – doença de Alzheimer

DDA – Demência da doença de Alzheimer

DMN – *default mode network*, rede de modo padrão

DTI – *diffusion tensor imaging*, imagem por tensor de difusão

FC – frequência cardíaca

FC_{máx} – frequência cardíaca máxima

LCR – líquido cefalorraquidiano

LV – limiar ventilatório

MEP – *multicomponente exercise program*, programa de exercícios aeróbios multifuncional

PCC – córtex cingulado posterior

PCR – ponto de compensação respiratório

PET-FDG – ¹⁸F-fluor-deoxi-2-glicose *positron emission tomography*, tomografia por emissão de pósitrons.

p-tau – proteína tau fosforilada

RM – ressonância magnética

RMf – ressonância magnética funcional

SB – substância branca

SC – substância cinzenta

t-tau – proteína tau total

VO_2 – consumo de oxigênio

$\text{VO}_2 \text{ max}$ – consumo máximo de oxigênio

$\text{VO}_2 \text{ pico}$ - consumo máximo de oxigênio pico

Sumário

01	Introdução	16
	1.1 Demência por Doença de Alzheimer	17
	1.2 Comprometimento Cognitivo Leve	18
	1.3 Marcadores biológicos para DA utilizados neste estudo	18
	1.4 Exercício Físico e CCL	22
	1.5 A necessidade de intervenções	23
02	Objetivos	26
03	Materiais e métodos	27
	3.1 Sujeitos	27
	3.2 Protocolo de Avaliação	29
	3.3 Protocolo de treinamento	32
	3.4 Estatística	34
04	Resultados	36
	"Relation between Aerobic fitness and Brain Structures in amnesic Mild Cognitive Impairment elderly"	36
	"Cognitive and structural cerebral changes in aMCI due to AD after multicomponent training"	66
	"Functional connectivity and cognition changes in aMCI due to AD: effects of multicomponent exercise."	52
05	Discussão geral e conclusão	90
06	Referências bibliograficas	96
07	Apêndice	112
	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) - para pacientes com sintomas clínicos de Comprometimento Cognitivo Leve	
08	Anexo	117
	Parecer consubstanciado do CEP	

1. INTRODUÇÃO

Comprometimento Cognitivo Leve amnésico (CCLa) é um termo clínico que se aplica a pacientes com declínio objetivo da memória episódica, mas com desempenho sócio-funcional normal. Esses pacientes apresentam maior chance de desenvolverem demência da doença de Alzheimer (DA), na qual surge dependência para atividades de vida diária. Existem marcadores moleculares no líquido cefalorraquidiano (LCR), como o peptídeo beta-amiloide de 42 unidades e as proteínas tau-total total e tau fosforilada que, quando alterados, evidenciam que o sujeito apresenta fisiopatologia da DA e maior chance de evoluir para demência. Assim diagnosticar precocemente e buscar esses biomarcadores da DA pode aumentar a chance de intervir e postergar o aparecimento da demência da DA.

A prática de exercícios físicos mostra-se efetiva na melhora cognitiva e sócio-funcional de idosos. Um tipo de exercício que tem ganhado destaque é o treinamento aeróbio multifuncional (MEP), que envolve estímulos de diferentes exercícios físicos em um programa, mas com a predominância aeróbia. Existe uma relação positiva entre a prática de exercício físico e a estrutura e conectividade cerebral em idosos cognitivamente saudáveis e até com CCL, no entanto não está claro na literatura se esses sujeitos estudados apresentavam a fisiopatologia da DA, o que não nos deixa confirmar o efeito no exercício na doença de Alzheimer.

Assim os objetivos dos estudos que compõem esta tese foram: 1) verificar se há relação entre o condicionamento aeróbio e substância cinzenta e branca em idosos CCLa; 2) verificar o efeito de 6 meses de um programa de exercício aeróbio multifuncional na memória episódica, atividades de vida diária e volume cortical e hipocampal em idosos CCLa; e 3) verificar o efeito de 12 meses de MEP na conectividade da rede Default mode e aspectos clínicos de CCLa com com evidência fisiopatológica da DA, esperando obter dados que subsidiem hipóteses sobre o real efeito da prática de exercícios aeróbios nesse grupo com risco aumentado.

A apresentação deste trabalho será dada da seguinte forma: o primeiro capítulo trata de uma revisão da literatura sobre os aspectos clínicos da DA e CCL, biomarcadores e neuroimagem da doença, além do efeito do exercício físico na população com CCL. Em seguida serão apresentados os objetivos deste trabalho, bem como os materiais e métodos escolhidos para o desenvolvimento da pesquisa. Os resultados serão apresentados em forma de artigos. Uma discussão geral e conclusão serão apresentadas após a exposição dos artigos.

1.1 A Demência por Doença de Alzheimer

A doença de Alzheimer (DA) é uma doença degenerativa progressiva caracterizada pelo comprometimento cognitivo (perda progressiva da memória e outras funções cognitivas) e limitação da independência nas atividades da vida diária e, em nível neuropatológico, é caracterizada pela presença de emaranhado neurofibrilares e placas neuríticas, entre outras alterações (Jl., 2003). É a principal causa de demência na população idosa (Ferri *et al.*, 2005), representando mais da metade dos casos de demência (Qiu *et al.*, 2009), e sua prevalência está aumentando cada vez mais com o envelhecimento populacional. Estima-se que, em todo o mundo, mais de 35,6 milhões de pessoas sofram de DA, e que em 2050 esse número atinja 113 milhões (Prince *et al.*, 2013). Aqui no Brasil, especificamente, um estudo realizado na cidade de Catanduva/SP, foi encontrada uma prevalência de 7,1% na população acima de 65 anos (Herrera *et al.*, 2002), já na cidade de São Paulo, outro estudo, apontou que a prevalência é de 4,1% da população acima de 60 anos (Bottino *et al.*, 2008).

Do ponto de vista fisiopatológico, a DA caracteriza-se pela maciça perda sináptica e pela morte neuronal observada principalmente nos córtices cerebrais associativos, que medeiam funções cognitivas e também o hipocampo, o córtex entorrinal e o estriado ventral (Selkoe, 2001). Todo esse processo de neurodegeneração da DA está ligado à presença de placas senis cujo núcleo é composto principalmente por amiloide (acúmulo da proteína beta amiloide) e emaranhados neurofibrilares (filamentos anormais da proteína tau) (Hardy and Selkoe, 2002). Atualmente, o diagnóstico de demência da DA (DDA) é feito primariamente com base nas definições clínicas da demência e exclusão de outros fatores que podem ser causa da mesma. Biomarcadores que refletem a fisiopatologia da DA, como a presença de atrofia hipocampal mostrada pelo exame de Ressonância Magnética ou marcadores moleculares no líquido cefalorraquidiano (LCR) ou em exames de medicina nuclear (peptídeo beta amiloide e proteínas t-tau e p-tau) aumentam o grau de confiabilidade do diagnóstico clínico. Assim, uma das questões mais relevantes no estudo da DA é identificar meios de se estabelecer um diagnóstico precoce, preferencialmente antes do surgimento da demência.

1.2 Comprometimento Cognitivo Leve

O termo CCL tem sido usado para contextualizar uma possível fase intermediária entre o envelhecimento normal e a demência. Ela caracteriza idosos que apresentam declínio em um ou mais domínios cognitivos, mas possuem desempenho sócio-funcional normal (Winblad *et al.*, 2004; Petersen *et al.*, 2006). A taxa de prevalência de sujeitos com CCL na população idosa brasileira, por sua vez, diverge de acordo com a região estudada, e o critério definidor escolhido, variando desde 6,1% em Porto Alegre (RS) (Godinho *et al.*, 2012) até 19,5% em Tremembé (SP) (Cesar *et al.*, 2016).

Existem dois subtipos de CCL identificados de acordo com o comprometimento da memória episódica: amnésico e não amnésico. O CCL amnésico apresenta maior chance de evoluir para a DA do que o não amnésico (Petersen *et al.*, 2009). A taxa de conversão para demência entre os sujeitos com CCL gira em torno de 10-40% - comparados com 1-2% em idosos saudáveis (Schmidtke and Hermeneit, 2008; Farias *et al.*, 2009), o que torna essa população um alvo em potencial para programas de intervenção. Essa amplitude no valor de conversão de CCL para DA se dá pelo fato de que nem todo paciente diagnosticado CCL converterá para DA, podendo, em alguns casos, até reverter esse quadro para função cognitiva normal (Larrieu *et al.*, 2002; De Rotrou *et al.*, 2005). Entretanto, para uma intervenção mais eficaz, é necessário um diagnóstico preciso, visto que atualmente o diagnóstico de DDA é feito primariamente com base nas definições clínicas da demência e exclusão de outros fatores.

Como descrito anteriormente, o diagnóstico de DA é feito através de exames clínicos, mas a busca de biomarcadores da doença é importante para facilitar o diagnóstico final, não apenas nas fases iniciais da DA, mas também antes que haja o aparecimento de demência. Exames de ressonância magnética e análise molecular do LCR e de medicina nuclear podem servir como apoio para o diagnóstico e busca desses marcadores da doença.

1.3 Marcadores biológicos para DA utilizados neste estudo

1.3.1 Marcadores liquóricos

Diferentes biomarcadores vêm sendo usados em pesquisa e na prática clínica para o diagnóstico da DA, como os níveis das proteínas A β ₁₋₄₂ e t-tau em sua

forma fosforilada (p-tau) no LCR. O peptídeo $A\beta_{1-42}$ no LCR é considerado um marcador de deposição amiloide na forma de placas neuríticas, considerado, teoricamente, o primeiro evento relacionado à DA (Jack *et al.*, 2013). Um nível reduzido de $A\beta_{1-42}$ no LCR, pode ser, em parte, resultado da formação de placas amiloide no cérebro (Blennow and Zetterberg, 2009). Já a t-tau e p-tau assinalam o processo neuropatológico relacionado a agregação intracelular da proteína t-tau, indicando lesão neuronal, formando os chamados “emaranhados neurofibrilares” (Jack, Vemuri, *et al.*, 2011; Mckhann *et al.*, 2011). Estudos prospectivos mostram que baixa quantidade de $A\beta_{1-42}$, e altos valores de t-tau e p-tau no LCR, podem indicar maior risco de conversão para demência em sujeitos com CCL (Hansson *et al.*, 2006; Mattsson *et al.*, 2009; Forlenza *et al.*, 2015).

1.3.2 Marcadores de imagem por Ressonância Magnética

Medidas estruturais de RM, sobretudo do lobo temporal medial, mais especificamente de volume de hipocampo, também são importantes na diferenciação de pacientes com DDA de controles (Convit *et al.*, 1993; Killiany *et al.*, 1993; Ikeda *et al.*, 1994; Killiany *et al.*, 2000). Alguns estudos relacionam o grau de atrofia hipocampal com as proteínas t-tau e p-tau, as quais assinalam a morte neuronal em regiões cerebrais, típicas da DA (Thomann *et al.*, 2009). Atrofia de áreas corticais das regiões temporal, parietal e frontal também apresentam degeneração e tem se mostrado um marcador importante na busca de diagnosticar a demência (Devanand *et al.*, 2007; Jack, Vemuri, *et al.*, 2011; Apostolova *et al.*, 2012).

Além dessa atrofia cortical durante o processo degenerativo na DA, ocorrem também alterações na conectividade estrutural e funcional, ou seja, a ligação entre as áreas cerebrais é prejudicada (Burggren and Brown, 2014). Existe diferença entre a conectividade estrutural e funcional: a primeira refere-se à estrutura física que liga as áreas do cérebro, ou seja, aos tratos de substância branca. Técnicas de ressonância magnética, como o DTI (diffusion tensor imaging – imagem por tensor de difusão) conseguem analisar integridade dos tratos, isto é, dos axônios dos neurônios, e com isso a conectividade anatômica das áreas cerebrais. Este método analisa difusão das moléculas de água de maneira não invasiva e baseia-se na teoria de que as moléculas de água encontrada nos tecidos não se difundem aleatoriamente em todas as direções, ou seja, tem propriedades anisotrópicas (Teipel *et al.*, 2007), se difundem preferencialmente ao longo do feixe de tratos. Então, quando o feixe apresenta alteração para algumas das métricas extraídas pelos métodos de DTI (entre

elas: anisotropia fracionada, difusividade média, difusividade radial e difusividade axial), assume-se que existe alguma desintegração no trato analisado. Já a conectividade funcional refere-se a áreas cerebrais, espacialmente distintas, que estão em sincronia para o desempenho de uma função, tarefa, ou estado mental (Reid and Evans, 2013).

A ressonância magnética funcional analisa o sincronismo de áreas cerebrais distintas através da variação de sinal BOLD (Blood Oxygenation Level Dependent contrast – contraste dependente do nível de oxigenação sanguínea). Esse sinal é medido através das moléculas de hemoglobina: oxiemoglobina, que tem característica diamagnética, desoxiemoglobina, com característica paramagnética (Seiyama *et al.*, 2004). Em teoria, conforme aumenta o fluxo sanguíneo em determinada área cerebral, acontece uma variação na razão oxi e deoxiemoglobina, alterando a resposta magnética na região, conseqüentemente, o sinal da ressonância magnética (Toronov *et al.*, 2003). Assim, admite-se que as regiões cerebrais que estão sincronizadas temporalmente estão funcionalmente conectadas. Uma região funcionalmente conectada e relacionada com a DA é Default Mode Network (DMN), constituídas por áreas-chaves como o giro do cíngulo posterior, precúneo, córtex pré-frontal medial anterior e formação hipocampal. Essa rede parece estar ativada quando o indivíduo não está engajado em nenhuma tarefa, e é “desativada” quando há uma tarefa em questão (Esposito *et al.*, 2006). Além disso a DMN tem sido considerada importante para a investigação da doença, pois parece ser nessas regiões-chave da DMN que ocorre maior acúmulo de $A\beta_{1-42}$ (Hampel *et al.*, 2011; Jack, Albert, *et al.*, 2011; Sperling *et al.*, 2011). Imagens de PET mostram que o giro do cíngulo posterior (PCC) parece estar entre as primeiras áreas cerebrais a apresentar o acúmulo de $A\beta_{1-42}$ (Buckner *et al.*, 2005). Além desse acúmulo de $A\beta_{1-42}$ no PCC, análises *post mortem* mostram acúmulo de emaranhados neurofibrilares em áreas temporais, que também fazem parte da DMN (Thal *et al.*, 2013).

Apesar de ainda não ser considerado um biomarcador para DA, a análise da conectividade funcional da DMN, uma medida não invasiva da integridade cerebral, está se tornando cada vez mais importante para a caracterização da doença (Balthazar *et al.*, 2014). Pensando na cognição, estruturas anatômicas presentes na DMN processam memória episódica, memória prospectiva, referência do “*self*” e cognição social (Buckner *et al.*, 2005; Miller *et al.*, 2011). Alterações nesta rede estão relacionadas com declínio cognitivo em DA, pois parece haver uma menor

“desativação” da DMN quando o paciente com DA se engaja numa tarefa que exige atenção, por exemplo (Pihlajamaki and Sperling, 2009), além de uma menor conectividade da rede quando o paciente com DA está em “repouso” ou “*resting-state*”, ou seja, não engajado em tarefa nenhuma (Sorg *et al.*, 2007). No entanto, esse padrão ainda não está claro para pacientes com CCL (Qi *et al.*, 2010; Gili *et al.*, 2011).

A presença desses biomarcadores em pacientes com CCL amnésico, em especial as alterações liquóricas e atrofia de hipocampo, aumenta o risco de desenvolvimento de demência para esses pacientes. Um estudo recente, por exemplo, acompanhou 573 idosos cognitivamente saudáveis por 8 anos (Burnham *et al.*, 2016). Aqueles idosos que apresentavam alteração de deposição amiloide no cérebro (avaliada por PET-FDG), com ou sem a presença da atrofia hipocampal, progrediram para o diagnóstico de CCL ou DA (Burnham *et al.*, 2016). Assim, o diagnóstico da fase clínica de CCL pode ser considerado uma oportunidade de estudar sujeitos com doença degenerativa, em fase precoce. Por conseguinte, vários estudos de intervenção podem ser empregados com o objetivo de reduzir a progressão do declínio cognitivo de sujeitos com CCL.

1.4 Exercício físico e CCL

A prática do exercício físico é de extrema importância para a população em geral e principalmente para os idosos. Pode ser considerada uma ferramenta para promoção de saúde, manutenção da capacidade funcional, e independência nas atividades da vida diárias (Mazo *et al.*, 2005), além de prevenir doenças cardiovasculares com melhor controle de hipertensão, diabetes, dislipidemia, obesidade e também depressão (Gobbi *et al.*, 2005). O exercício físico é uma estratégia não farmacológica que pode fazer parte do tratamento do declínio cognitivo. Evidências sugerem que o exercício tem influência benéfica nas funções cognitivas, principalmente em funções executivas de idosos cognitivamente preservados (Colcombe *et al.*, 2004; Cassilhas *et al.*, 2007; Liu-Ambrose *et al.*, 2010; Liu-Ambrose *et al.*, 2012; Teixeira *et al.*, 2013). Estudos recentes têm mostrado esse benefício, também, na cognição de idosos com CCL. Não apenas exercícios aeróbios ou resistidos beneficiam a cognição, mas também Pilates e treinamento de equilíbrio. Um estudo aleatorizado mostrou os benefícios do exercício aeróbio e resistido em idosos com diagnóstico de CCL. Após 6 meses de intervenção, ambos os grupos,

aeróbico e resistido, apresentaram melhora significativa no teste de memória espacial, quando comparados com o grupo que não participou da intervenção, que o grupo aeróbico também apresentou melhora na memória episódica medida pelo RAVLT (Teste de Aprendizado auditivo-verbal de Rey), quando comparado ao grupo que não participou de nenhum (Nagamatsu *et al.*, 2013). Pesquisadores com o objetivo de mostrar o efeito de exercícios sem característica aeróbia, realizaram um estudo com 28 mulheres diagnosticadas com CCL, que foram subdivididas em 2 grupos, um que participou de um treinamento de equilíbrio e exercícios para postura, e o outro participou de Pilates por 8 semanas. O resultado observado, através do teste de MoCA (Montreal Cognitive Assessment) foi melhora na cognição, linguagem e abstração em ambos os grupos. Individualmente, o grupo “postura” obteve melhora também em funções executivas e memória episódica, enquanto o grupo Pilates teve melhora em memória de curto prazo. Apesar das limitações dos estudos (número pequenos de participantes, testes utilizados, diagnóstico dos participantes), os resultados nos motivam a pensar em outros tipos de intervenções, que não apenas atue no sistema cardiovascular, mas também outras capacidades físicas dos idosos, com o mesmo resultado cognitivo que os exercícios aeróbicos (Greblo Jurakic *et al.*, 2017).

Sendo assim, outro tipo de exercício que tem ganhado destaque, é o exercício multifuncional (MEP). Por definição, o MEP é um programa de treinamento que contém exercícios aeróbicos e resistidos, de equilíbrio, coordenação motora e de flexibilidade. Como ocorre com programas de exercício aeróbico e resistido, o MEP também está associado a melhora no estado cognitivo global de sujeitos com CCL. Estudos prévios sugerem que programas de exercícios combinados tem efeito mais abrangente do que somente um tipo de exercício (Kirk-Sanchez and Mcgough, 2014), possivelmente atuando com um maior efeito na cognição quando comparados com programas de exercício com somente aeróbico ou estímulo de força. Com um programa de treinamento multifuncional, pesquisadores mostraram efeitos benéficos de idosos com CCL (Suzuki *et al.*, 2013). No protocolo de treinamento MEP, além de exercícios aeróbicos, resistidos e de equilíbrio, havia também exercício de dupla-tarefa, ou seja, enquanto os idosos praticavam algum exercício físico, havia também uma tarefa cognitiva, como por exemplo, caminhar e falar um poema. A intensidade utilizada no exercício aeróbico foi de 60% na frequência cardíaca máxima. Após 12 meses de MEP, houve melhora na cognição global, memória imediata e linguagem, quando comparado a um grupo que teve um treinamento educativo sobre questões de saúde (Suzuki *et al.*, 2012). Mas vale a pena destacar que os participantes do MEP,

além de praticarem caminhada a 60% da frequência cardíaca máxima, praticavam exercícios de dupla tarefa. Exercícios de dupla tarefa são aqueles que além do estímulo físico apresentam também, durante sua execução, um estímulo cognitivo (Pichierri *et al.*, 2011), o que diretamente aumenta a chance de mudança na cognição do seu praticante (Gregory *et al.*, 2013)

Crescente evidência sustenta a ideia de que o exercício físico também afeta o cérebro tanto estrutural quanto funcionalmente. Alguns desses efeitos induzidos pela prática de exercício físico inclui modificação na citoarquitetura cerebral (Erickson *et al.*, 2009; Ten Brinke *et al.*, 2015) e padrão diferente de atividade neural (Smith *et al.*, 2014). Estudos recentes têm mostrado essa modificação em idosos com diagnóstico de CCL. Os mesmos pesquisadores que verificaram o efeito do MEP em idosos com CCL, também observaram, em outro estudo, menor atrofia em áreas do lobo temporal após 6 meses de treinamento, quando comparados ao grupo de idosos que participou de 2 sessões educativas sobre saúde (Suzuki *et al.*, 2013). Estudo recente comparou o efeito de caminhada em intensidade moderada em um grupo de indivíduos diagnosticados como CCL e idosos controles cognitivamente saudáveis. Após 12 semanas de treinamento apenas o grupo CCL apresentou aumento de conectividade em áreas frontais, parietais e temporais com o córtex cingulado posterior (região que faz parte da DMN) (Chirles *et al.*, 2017). Assim os efeitos do exercício físico no cérebro parecem ser benéficos, mas necessitam de mais estudos.

Apesar do aumento no interesse em estudar, até mesmo procurar intervenções não farmacológicas para idosos com CCL, ainda as pesquisas são escassas, e ao nosso entender, nenhuma pesquisa publicada até o momento com intervenção não farmacológica teve como população alvo idosos com CCL amnésico com a presença da fisiopatologia da doença, uma população que tem risco aumentado para desenvolver a demência da DA, e que apresentará, no futuro, um impacto grande no custo social.

1.5 A necessidade de intervenções

O maior fator de risco para o desenvolvimento da DDA é a idade. Um indivíduo de 65 anos, por exemplo, possui cerca de 10,5% de chance de desenvolver a doença (2013 Alzheimer's disease facts and figures, 2013). Com o envelhecimento

da população, o número de pessoas diagnosticadas com DDA tende a aumentar, fato que apresentará consequências econômicas notáveis para a sociedade. Um relatório recente sobre as implicações econômicas da epidemia da DDA sugere que mais de 13,5 milhões de indivíduos nos Estados Unidos manifestarão a doença até o ano de 2050 (http://www.alz.org/alzheimers_disease_trajectory.asp (Association, 2014)). No Brasil, as projeções indicam que, haverá 55mil novos casos por ano na população com mais de 65 anos (Burla *et al.*, 2013). Por um outro lado, uma intervenção que retardasse o aparecimento da DDA por 5 anos resultaria em uma diminuição de 57% no número de pacientes com demência, o que reduziria o custo com a saúde em 18%(Cummings *et al.*, 2011).

A baixa escolaridade, tabagismo, diabetes, depressão, obesidade e hipertensão são fatores que também estão relacionado à conversão de CCL para DDA (Middleton and Yaffe, 2010). O sedentarismo é descrito como um fator de risco adicional, visto que indivíduos que não praticam atividades físicas têm maior risco de desenvolver DDA no futuro (Middleton and Yaffe, 2010; Sindi *et al.*, 2015). Deste modo, intervenções que possam retardar a progressão da DDA podem ter grande impacto econômico e social. O ideal é que essas intervenções tenham baixo custo, amplo acesso para a população e boa eficácia. Intervenções que visam à prevenção de doenças e promoção da saúde são alternativas de baixo custo e de grande benefício para a população, principalmente, a idosa (Martinson *et al.*, 2003). A prática regular de atividade física tem se mostrado uma importante intervenção e tem sido evidenciado que a inatividade representa um alto custo para a sociedade (Weiss *et al.*, 2004; Kruk, 2009). A relação entre atividade física e saúde merece destaque na DA, pois alguns estudos têm mostrado possíveis relações entre pessoas mais ativas e menores risco de desenvolvimento de DA (Buchman *et al.*, 2008). Dentre os aspectos neurobiológicos, a prática de exercícios físicos parece estar associada a uma maior plasticidade sináptica e retardo na idade de aparecimento de demência em idosos que o praticam (Laurin *et al.*, 2001; Larson *et al.*, 2006).

Adotar um estilo de vida ativo possui um papel importante no processo de envelhecimento, assim, é essencial identificar o nível de atividade física para elaboração e planejamento de intervenções que focalizem tanto a promoção da prática de atividades físicas quanto à redução da exposição a comportamentos sedentários e ainda realizar uma reformulação de políticas públicas para que se promova um estilo de vida mais ativo (World Alzheimer Report 2016 | Alzheimer's Disease

International, 2017; World Alzheimer Report 2014: Dementia and Risk Reduction | Alzheimer's Disease International, 2017).

Ante o exposto de que há diferença entre CCL e CCL com evidência fisiopatológica da DA e da importância de desenvolver intervenções farmacológicas para postergar o aparecimento de demência na DA, o presente estudo analisou e comparou o efeito de 1 ano da prática de um programa de exercício multifuncional na memória, atividades diárias, conectividade funcional e estrutural no cérebro de pacientes CCLa com evidência fisiopatológica da DA.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivos Gerais:

Verificar a influência de um treinamento multifuncional na memória episódica, atividades de vida diária, estrutura e conectividade cerebral de idosos com CCLa com evidência fisiopatológica da DA.

2.2. Objetivos Específicos

Artigo 01) verificar se há relação entre o condicionamento aeróbio, medido pelo VO_2 pico, e substância cinzenta e branca em idosos com com evidência fisiopatológica da DA

Artigo 02) verificar o efeito de 6 meses de treinamento MEP na espessura cortical, volume de hipocampo e cognição em idosos com com evidência fisiopatológica da DA.

Artigo 03) analisar o efeito de 12 meses de treinamento MEP na conectividade funcional da DMN e cognição de idosos com CCLa com evidência fisiopatológica da DA

3. MATERIAIS E MÉTODOS

Trata-se de um estudo longitudinal, não aleatorizado, simples cego e controlado, no qual os sujeitos selecionados foram avaliados no momento inicial da pesquisa, 6 meses e 12 meses depois do início do treinamento (Figura 01). O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética do Hospital das Clínicas em 09/2013, com o número de parecer 398.964 (anexo 01). Todos assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (Anexo 2)

3.1. Sujeitos

Participaram desse estudo sujeitos com idade mínima de 55 anos, com diagnóstico clínico de CCLa, acompanhados no ambulatório de Neuropsicologia e Demência do Hospital de Clínicas da Unicamp. Os pacientes foram selecionados de acordo com os critérios de inclusão e exclusão abaixo:

3.1.1. Critérios de Inclusão

- Critérios do NIA e Alzheimer's Association para CCL; (Albert *et al.*, 2011)
- Comprometimento objetivo, obrigatório, mas não necessariamente exclusivo de memória episódica (CCLa domínio único ou multidomínios);
- Escala Clínica de Demência (Clinical Dementia Rating - CDR) (Morris, 1993) = 0,5.

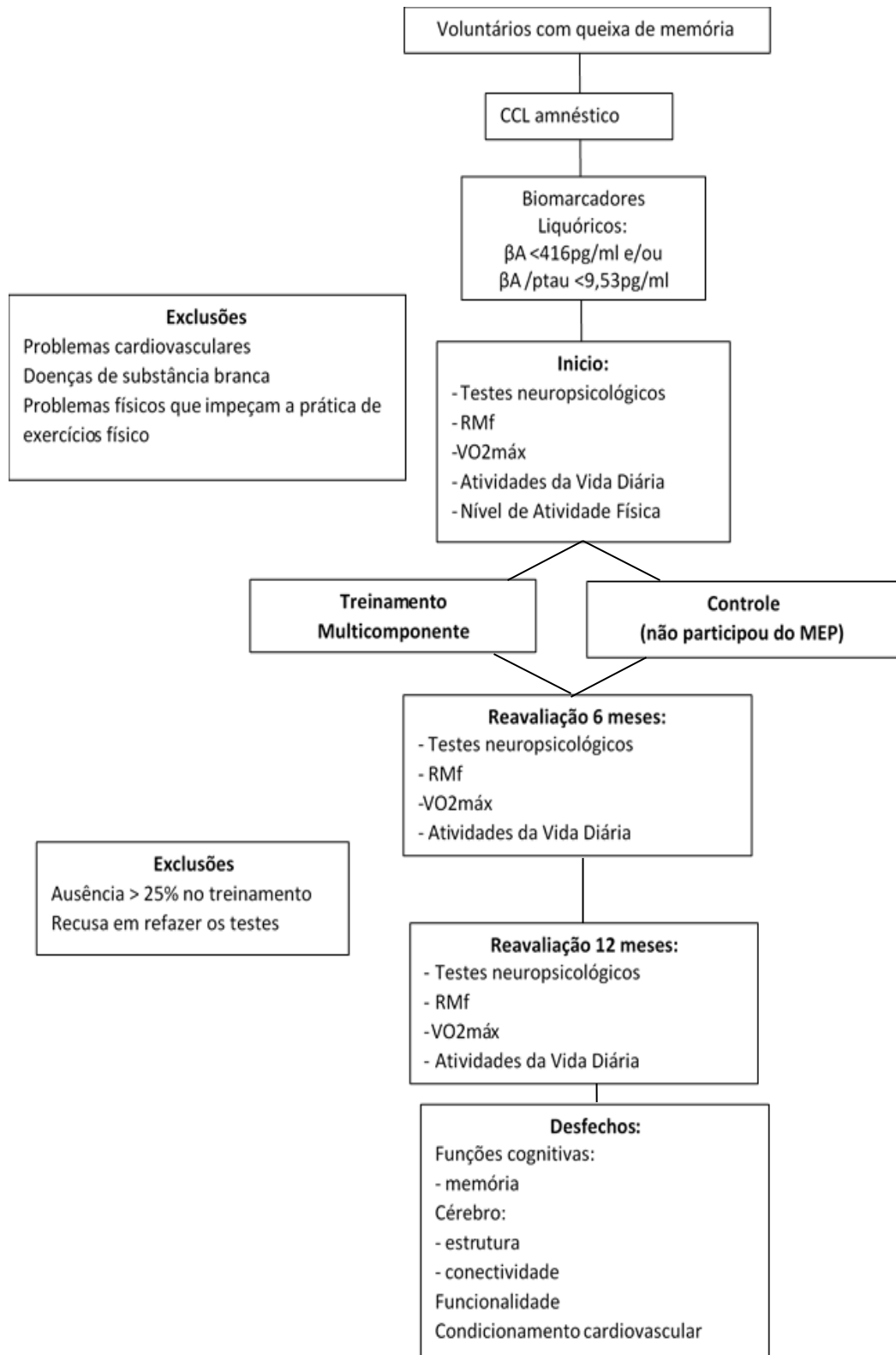


Figura 01. Organização cronológica da pesquisa

3.1.2. Critérios de Exclusão

- História de outra doença neurológica ou psiquiátrica prévia;
- História de traumatismo crânio-encefálico com perda de consciência por mais de 30 minutos;
- História de exposição crônica a substâncias neurotóxicas ou alcoolismo;
- Doença sistêmica descompensada;
- Doença coronariana, arritmias cardíacas, hipertensão não controlada e sintomas de angina, ou que tenha qualquer restrição à prática de atividade física, avaliados por médico cardiologista;
- Comprometimento motor (deambulação dependente), visual e auditivo (não corrigidos) ou outras limitações que dificultem a locomoção;
- Ausência no treinamento maior que 25% das sessões totais
- Escore isquêmico de Hachinski (Hachinski *et al.*, 2006) < 4
- Escala de Fazekas > 1 (ref)
- Ausência de fisiopatologia da DA: $\beta A > 416$ pg/ml e/ou relação de $\beta A/ptau > 9,53$

3.2. Protocolo de Avaliação

Os pacientes foram incluídos após passarem por anamnese cuidadosa, inclusive com algum familiar ou responsável. As avaliações estão descritas abaixo.

3.2.1 Avaliação Neuropsicológica

Todos os sujeitos foram submetidos a uma avaliação neuropsicológica abrangente com testes cognitivos, funcionais e escalas neuropsiquiátricas. Os avaliadores eram cegos quanto ao grupo que cada sujeito estava.

Os testes utilizados foram: Mini exame do Estado Mental (MEEM) (Folstein *et al.*, 1975); Escala de Demência Clínica (CDR) (Morris, 1993); Teste de Aprendizado auditivo-verbal de Rey (Rey, 1964); Teste de Nomeação de Boston (Kaplan *et al.*, 1983); Fluência verbal categórica e fonêmica (Christensen and Guilford 1959); Cópia da Figura Complexa de Rey (Osterrieth, 1944); Extensão de dígitos direto e indireto do *Wechsler Adult Intelligence Scale Revised* (WAIS-R) (Wechsler, 1987); Teste de Trilhas A e B (Reitan, 1958); Teste de Stroop (Stroop, 1935); Teste do Relógio (Sunderland *et al.*,

1989); Questionário de Atividades Funcionais de Vida diária de Pfeffer (Pfeffer *et al.*, 1982); Inventário de Depressão de Beck (Beck *et al.*, 1961)

3.2.2. Avaliação por Ressonância Magnética

Os exames de RM foram realizados em um aparelho de 3T Achieva-Intera PHILIPS® adquirido dentro do âmbito do projeto CInAPCe-FAPESP. Os participantes fizeram RM a cada seis meses. Foram realizadas as seguintes análises:

1) RM estrutural para análise volumétrica e de espessura de estruturas cerebrais: Imagem volumétrica ponderadas em T1: imagem ponderada em T1 e gradiente eco com voxels isotrópicos de 1mm, adquiridos no plano sagital (1mm de espessura; flip angle, 8°; TR, 7.1; TE, 3,2; matriz, 240x240; e FOV, 240x240x180;

2) T2 - FLAIR (fluid attenuation inversion recovery) com supressão de gordura, para avaliação de lesões de substância branca: Imagens axiais paralelas ao eixo longo do hipocampo, 4 mm de espessura; TR, 12000; TE, 140; matriz, 224x160; e FOV, 200x186x149;

3) sequência de eco DTI: voxel adquiridos com tamanho de 2x2x2mm³ interpolados para 1x1x2 mm³, matriz de reconstrução 256x256, 70 fatias, TE/TR 61/8500 ms, ângulo de flip 90°, 32 direções de gradiente e sem médias, b-factor máximo = 1000 s/mm²;

4) RM funcional em repouso ("*resting-state*"), com o sujeito de olhos abertos, para avaliação da integridade de redes de conectividade funcional, em especial da rede de modo padrão (*default mode network - DMN*): FOV 240x240x105; voxel size 3x3x3/TE= 30 ms; TR =2000 ms; field of view =AP; espessura 3 mm;

3.2.3. Exames de LCR

As coletas foram realizadas pelo laboratório de coleta de exame do Hospital de Clínicas da UNICAMP. Os pacientes foram submetidos, após 8 horas em jejum, à punção lombar ao nível das vértebras L4-L5, realizada por um neurologista experiente. O LCR retirado (10 ml) foi centrifugado e depois armazenado a -80° C até a realização dos ensaios propostos.

A β -42, t-tau total e p-tau foram quantificadas pelo método de imunoenensaio Luminex xMAP®, o qual permite a quantificação simultânea de até 100 proteínas. As análises foram realizadas pelo Laboratório de Neurociências (LIM-27) do Instituto de Psiquiatria do HC-FMUSP, utilizando o kit Inno-Bia Alzbio3 (Innogenetics, Gent,

Belgium). Os valores referência que utilizamos foi o previamente publicado pelo grupo: $A\beta < 416\text{pg/ml}$ e $A\beta/p\text{Tau} < 9,53$; (Forlenza *et al.*, 2016).

3.2.4. Avaliação da Aptidão Aeróbia

A avaliação da aptidão aeróbia foi realizada através da medida do consumo de oxigênio de pico (VO_2 pico). Simultaneamente ao teste de esforço, o paciente foi conectado a um analisador metabólico computadorizado (Medical Graphics Corporation-MGC, modelo CAD/Net 2001) através de um sistema de válvula e traqueia onde a ventilação pulmonar foi medida por um pneumotacógrafo a cada expiração do indivíduo. Através de sensores de oxigênio (O_2 , célula de zircônio) e de dióxido de carbono (CO_2 , infravermelho) foram analisadas as concentrações de O_2 e CO_2 , respectivamente, a cada ciclo respiratório.

Durante o teste de esforço, o comportamento cardiovascular foi continuamente avaliado através de eletrocardiógrafo, com as 12 derivações simultâneas. A frequência cardíaca e pressão arterial foram registradas em repouso com o paciente posicionado na esteira rolante, ao final de cada minuto do teste de esforço e no 1º, 2º, 4º e 6º minuto de recuperação. À partir das análises da ventilação e das concentrações dos gases expirados, foram calculados o consumo de oxigênio (VO_2) e a produção de dióxido de carbono (VCO_2). Os testes foram considerados máximos quando um ou mais critérios a seguir foram atingidos: a) evidência subjetiva de exaustão (ex. hiperventilação acentuada seguida por desistência do paciente); b) frequência cardíaca de pico $> 95\%$ da máxima predita; c) razão da troca respiratória $> 1,10$; *plateau* no consumo de oxigênio por dois estágios consecutivos. Em todos os casos acima, o valor de consumo de oxigênio imediatamente antes da interrupção do teste foi considerado como o $\text{VO}_{2\text{máx}}$.

Os limiares (LV1 – limiar ventilatório 1 e PCR- ponto de compensação respiratória) foram determinados por um único avaliador experiente. Todos os testes foram conduzidos sob a supervisão de um médico. Todos os pacientes repetiram a avaliação da capacidade cardiorrespiratória, seguindo o mesmo protocolo após 6 meses e 12 meses do início da intervenção.

3.3 Protocolo de Treinamento

3.3.1 Programa de exercícios multifuncional com predominância aeróbia - MEP

Os participantes do estudo não foram aleatorizados, participaram do grupo MEP apenas os interessados em praticar exercício físico. Para o grupo MEP as sessões foram supervisionadas por um professor de Educação Física e aconteceram na Faculdade de Educação Física, UNICAMP.

Após a realização das avaliações clínicas e funcionais, os voluntários iniciaram o programa de treinamento multifuncional, com frequência de 3 sessões semanais (terças, quintas e sextas-feiras), com duração que variou entre 20 a 50 minutos, por um período de 48 semanas (12 meses). O protocolo de treinamento físico foi orientado e acompanhado por profissionais de educação física, e todos os idosos do MEP foram monitorados durante as sessões de treino por um frequencímetro da marca Polar modelo F11.

Nosso protocolo foi dividido em 4 etapas:

- 1) As primeiras 4 semanas de caminhada, para que houvesse uma adaptação dos pacientes ao exercício, horário de treinamento, uso do frequencímetro. As sessões duraram 30 minutos, sendo 5 minutos com exercícios de alongamento no início da sessão e 5 minutos de volta à calma no final. Os pacientes eram estimulados a atingirem a FC do LV1, aproximadamente 70% da FCmax atingida no teste ergoespirométrico.
- 2) Nas 12 semanas seguintes continuamos com exercícios de caminhada, e uma corrida leve, estimulando os pacientes a se manterem acima do LV o maior tempo possível da sessão, sempre abaixo do PCR (American College of Sports Medicine Position Stand. Exercise and physical activity for older adults, 1998). As sessões duraram em média 40 minutos, sendo 5 minutos com exercícios de alongamento no início da sessão e 5 minutos de volta à calma no final.

Após os primeiros 4 meses de treinamento, houve a necessidade de mudar os exercícios, pois os pacientes estavam se sentindo desmotivados por terem apenas caminhada e corrida como exercícios na sessão de treinamento. Por esse motivo resolvemos mudar os exercícios. Assim, montamos um treinamento multifuncional com metabolismo predominante aeróbio, ou seja, os exercícios, apesar de variados,

deveriam ser executados de forma a elevar a FC nos limiares estabelecidos previamente no exame ergoespiométrico.

Seguimos a recomendação da *American College of Sports Medicine*, que aconselha um programa de exercício multifuncional, que é definido como um programa completo, que inclui resistência, força, coordenação, equilíbrio e exercícios de flexibilidade para manter a forma física (American College of Sports Medicine Position Stand. Exercise and physical activity for older adults, 1998). A combinação de atividade aeróbica, treino de força e exercícios de flexibilidade são importantes para manter a função física em adultos mais velhos (Manini and Pahor, 2009; Locks *et al.*, 2012).

- 3) Com a mudança de exercícios nas sessões de treinamento, foram 12 semanas de em que 2x/semana a caminhada/corrída se manteve, e 1x/semana foi introduzida uma atividade lúdica, como dança, brincadeiras ou esportes adaptados. As sessões duraram em média 40 minutos, sendo 5 minutos com exercícios de alongamento no início da sessão e 5 minutos de volta à calma no final, para a intensidade, os idosos foram estimulados a manterem sua FC acima do LV1 o maior tempo possível da sessão, sempre abaixo do PCR.
- 4) Nas últimas 20 semanas, mudamos a composição das sessões: 1x/semana de caminhada/corrída, 1x esportes adaptados, e 1x/semana de uma sessão circuito (com exercícios utilizando elásticos tipo *rubber-band*, e corrida entre as estações). As sessões duraram em média 50 minutos, sendo 5 minutos com exercícios de alongamento no início da sessão e 5 minutos de volta à calma no final, a intensidade foi a mesma da etapa anterior.

	Etapa 01	Etapa 02	Etapa 03	Etapa 04
Duração (semanas)	04	12	12	20
Exercícios	Caminhada	Caminhada/corrida leve	2x/ caminhada/corrida leve 1x/ atividade lúdica	1x/ caminhada/corrida leve 1x/ esportes adaptados 1x/ circuito
Duração sessão (minutos)	30	40	40	50
Intensidade/ FC média por sessão	Tentar atingir a FC do LV1 / 70%FCmáx	Mínimo LV1, abaixo do PCR/ 70=80% FCMáxx	Mínimo LV1, abaixo do PCR / 70-80% FCMáx	Mínimo LV1, abaixo do PCR / 75-85% FCMáx

Tabela 01. Cronograma de treinamento do MEP

Nota: FC – frequência cardíaca; LV1 – limiar ventilatório1, PCR – ponto de compensação respiratória.

3.3.2. Grupo que não participou do MEP (“controle”)

Nosso objetivo no começo da pesquisa foi estimular os idosos que decidiram por não participar do grupo MEP, a praticarem exercícios físicos, como caminhada, frequentarem centros de treinamento de idosos, academias, por conta própria, ou seja, sem supervisão de nossos profissionais de educação física. A monitoração seria feita por ligações telefônicas mensais, no entanto, o que percebemos nos 2 primeiros meses, foi que os idosos não estavam praticando exercício físico com uma frequência mínima de 2x/semana, alguns praticavam caminhada 1x no mês. Assim decidimos mudar o que o grupo controle faria, e começamos a estimulá-los a continuar com as atividades diárias deles.

3.4. Estatística

Em cada estudo foram utilizadas diferentes análises estatísticas, tanto para os dados cognitivos, de condicionamento aeróbio, quanto para análise de imagem.

No estudo 01, os dados demográficos e cognitivos foram apresentados em média e desvio padrão. Utilizamos o *Statistical Parametric Mapping* (SPM) e o *Tract-based Spatial Statistics* (TBSS) para analisar a relação dos dados cognitivos e condicionamento aeróbio com a intensidade de cinza das imagens VBM e os parâmetros de DTI, respectivamente.

No estudo 02, após extrairmos os dados de espessura cortical e volume de hipocampo, fizemos uma ANOVA medidas repetidas para verificar o efeito do exercício multifuncional após 6 meses de intervenção. Essa análise foi realizada com o software *Statistical Package for the Social Sciences* (IMB SPSS). A correção para múltiplas comparações foi feita pelo *FDR – false discovery rate*, o qual evita falsos positivos.

No estudo 03, analisamos o comportamento dos grupos durante os 12 meses de intervenção através de Deltas. Para o delta 01 subtraímos a avaliação 01 da avaliação 02; no delta 02 subtraímos a avaliação 02 da avaliação 03; e no delta 03 subtraímos a avaliação 01 da avaliação 03. O teste T student para medidas independentes foi realizado para verificar diferença entre os grupos nos deltas. Corrigimos as múltiplas comparações pelo teste de *Bonferroni*.

Nos estudos 02 e 03 os grupos eram iguais nos momentos iniciais. E em todos os estudos o nível de significância para diferença estatística adotado foi de $p < 0,05$.

A estatística está descrita com mais detalhe em cada resultado.

4. RESULTADOS

4.1 Relação entre condicionamento aeróbio e estruturas cerebrais de idosos com comprometimento cognitivo leve amnésico.

Nesse trabalho, tivemos como principal objetivo verificar se aqueles sujeitos com CCLa com evidência fisiopatológica para DA com maior condicionamento aeróbio possuem mais integridade nos tratos de substância branca e preservação da substância cinzenta. Calculamos o condicionamento aeróbio através do VO_2 pico, a SC pelo método de VBM – morfometria baseada em voxel e, DTI para extrair as métricas relacionadas à SB. Com o SPM – mapeamento estatístico paramétrico e TBSS – estatística espacial baseada em tratos, verificamos a correlação entre o condicionamento aeróbio com a densidade da SC e integridade dos tratos da SB. Foi possível observar uma relação positiva com o condicionamento aeróbio e densidade de SC no córtex frontal. Com relação a SB, o condicionamento aeróbio apresentou relação positiva com anisotropia fracionada e negativa com difusividade média e radial nos tratos que interconectam as áreas frontal, temporal, parietal e occipital. Nossos resultados sugerem que o condicionamento aeróbio parece ter um efeito protetor no cérebro de idosos com CCLa, mesmo naqueles com evidencia fisiopatológica para DA.

"reprinted with kind permission of the American Aging Association"



Relation between aerobic fitness and brain structures in amnesic mild cognitive impairment elderly

Camila Vieira Ligo Teixeira · Thiago JR Rezende · Marina Weiler · Mateus H Nogueira · Brunno M Campos · Luiz FL Pegoraro · Jessica E Vicentini · Gabriela Scriptoro · Fernando Cendes · Marcio LF Balthazar

Received: 4 November 2015 / Accepted: 5 April 2016 / Published online: 23 April 2016
 © American Aging Association 2016

Abstract Mild cognitive impairment (aMCI) is a clinical condition, with high risk to develop Alzheimer's disease. Physical exercise may have positive effect on cognition and brain structure in older adults. However, it is still under research whether these influences are true on aMCI subjects with low Ab₄₂ and high total tau in cerebrospinal fluid (CSF), which is considered a biomarker for AD. Therefore, we aimed to investigate a possible relation between aerobic fitness (AF) and gray matter (GM) volume and AF and white matter (WM) integrity in aMCI with a CSF biomarker. Twenty-two participants with aMCI acquired the images on a 3.0-T MRI. AF was assessed by a graded exercise test on a treadmill. Voxel-based morphometry and tract-based spatial statistic methods were used to analyze the GM volume and WM microstructural integrity, respectively. We correlated AF

and GM volume and WM integrity in aMCI ($p < 0.05$, FWE corrected, cluster with at least five voxels). There was a positive relation between AF and GM volume mostly in frontal superior cortex. In WM integrity, AF was positively correlated with fractional anisotropy and negatively correlated with mean diffusivity and radial diffusivity, all in the same tracts that interconnect frontal, temporal, parietal, and occipital areas (longitudinal fasciculus, fronto-occipital fasciculus, and corpus callosum). These results suggest that aerobic fitness may have a positive influence on protection of brain even in aMCI CSF biomarker, a high-risk population to convert to AD.

Keywords Elderly · Mild cognitive impairment · Aerobic fitness · Brain structure · Gray matter · White matter

C. V. L. Teixeira (✉) · M. Weiler · M. H. Nogueira · B. M. Campos · J. E. Vicentini · F. Cendes · M. L. Balthazar
 NeuroImage Laboratory, Department of Neurology, Medical Sciences Faculty, UNICAMP, Rua Vital Brasil, 251 Cidade Universitária Zeferino Vaz, Campinas, SP CEP-13083-888, Brazil
 e-mail: cateixeira98@yahoo.com.br

T. J. Rezende
 Medical Physics Laboratory, Department of Neurology, Medical Sciences Faculty, UNICAMP, Campinas, São Paulo, Brazil

G. Scriptoro
 Cardiovascular Department, Medical Sciences Faculty, UNICAMP, Campinas, São Paulo, Brazil

L. F. Pegoraro
 Department of Psychiatry, Medical Sciences Faculty, UNICAMP, Campinas, São Paulo, Brazil

Introduction

Amnesic mild cognitive impairment (aMCI) is considered a risk population for developing Alzheimer's disease (AD) and is characterized by a cognitive decline in memory or more domains, but without significant impairment in the social and functional performance (Winblad et al. 2004; Petersen et al. 2006). Unfortunately, the evidence for current pharmacological treatments for older adults with aMCI is not strong (Ballard and O'Brien 1999), and the development of potential disease-modifying strategies has become essential worldwide. In this context, the development of nonpharmacological strategies that may influence

disease progression has become increasingly important, and the concomitant application of both pharmacological and nonpharmacological treatments could lead to a differential outcome for the patients. Increasing evidence demonstrates that physical activity is an important modifiable risk factor not only for cardiovascular fitness but also for brain health (Hillman et al. 2008).

Some findings in the neuroimaging field have provided evidence that age-related effects in the brain of nondemented older adults are largely influenced by their aerobic fitness (AF) levels. For example, it has been shown that AF is positively correlated with blood flow in the gray matter (GM) which, in turn, is related to regional measures of brain volume (Zimmerman et al. 2014). Other studies have demonstrated that aerobic training also reduces cerebral volume loss of cognitively normal older adults and attenuate white matter (WM) volume reduction in the corpus callosum (Colcombe et al. 2003, 2006; Erickson et al. 2011; Voss et al. 2013). Furthermore, AF has been related to WM integrity previously (Marks et al. 2007; Johnson et al. 2012), specifically in the left superior and inferior longitudinal fasciculi in the physically fit older adults (Tseng et al. 2013). Studies involving patients, in turn, are scarce. In adults over 80 years old with a range of chronic disease conditions and low physical activity participation, higher AF was associated with WM integrity in the cingulum, hippocampus, and entorhinal cortex (Tian et al. 2014). The only study involving AD patients, in turn, found that higher VO_{2peak} (maximum capacity of an individual's body to transport and metabolize oxygen during incremental exercise) was associated with increased FA in the right inferior fronto-occipital fasciculus (Perea et al. 2015).

The physiological aspects that underlie the benefits of AF in the human brain are, however, little known. Previous research with rats has shown that chronic aerobic exercise can lead to the growth of new capillaries in the brain (Black et al. 1990), increase the length and number of the dendritic interconnections between neurons (Cotman and Berchtold 2002), and even increase cell production in the hippocampus (Van Praag et al. 1999). These effects likely result from increases in growth factors such as brain-derived neurotrophic factor (Neeper et al. 1995; Cotman and Berchtold 2002) and insulin-like growth factor (Carro et al. 2001). That said, the macrostructural changes that have been reported to occur in the brain—such as volume loss and cortical thinning—are likely a result from subtler microscopic

changes in the cerebral tissue (Douaud et al. 2011). In this context, some neuroimaging techniques like voxel-based morphology (VBM) and diffusion tensor imaging (DTI) can detect microstructural alterations in the GM and WM, respectively. By using DTI, specifically, it is possible to measure the behavior of diffusing water molecules as indicators of tissue microarchitectural properties, detecting alterations before gross anatomical changes become apparent on conventional MRI.

Given that physical exercise may be considered a preventive tool that attenuates age-related decline and influence the development of neurodegenerative diseases such as AD (Rovio et al. 2005), and also a nonpharmacological intervention for patients with aMCI (Cyarto et al. 2012; Teixeira et al. 2012; Suzuki et al. 2013; Nascimento et al. 2014), studying the relation between cerebral GM volume and WM integrity changes with AF could bring potential insights into future prevention/intervention strategies. However, to our knowledge, there are no studies showing the relationship between these subtler brain alterations with AF in the population with aMCI, despite the great importance of physical exercise on brain structures seen in nondemented older adults. Therefore, in the present cross-sectional study, we aimed to investigate the possible relationship between brain GM morphology and WM integrity and measures of aerobic fitness in older adults with aMCI.

Methods

Subjects

The study was approved by our local ethics committee, and all patients signed an informed consent form prior to any procedure. We studied 22 individuals with aMCI single and multiple domains. The participants were diagnosed aMCI using the core criteria of the NIA/AA for MCI (Albert et al. 2011). All participants with aMCI had a CDR (Morris 1993) score of 0.5 (with an obligatory memory score of 0.5), performed using a semistructured interview. All the participants had physiopathological evidence of AD (which consisted in low $A\beta_{42}$ and high tau protein in CSF), memory cognitive complaint confirmed by poor performance on episodic memory test (Rey auditory-verbal learning test (RAVLT)), and absence of dementia. Patients underwent a full range of neuropsychological testing, as described below.

We excluded individuals with other neurological or psychiatric diseases, Hachinski ischemic score >4 (Hachinski et al. 2006), Fazekas scale ≥ 1 (Fazekas et al. 1987), head injury with loss of consciousness, use of sedative drugs 24 h prior to neuropsychological testing, history of drug or alcohol addiction, and prior chronic exposure to neurotoxic substances.

Neuropsychological evaluation

Global cognitive status were measured using the Mini Mental Status Examination (MMSE) (Folstein et al. 1975), and episodic memory was evaluated by the RAVLT (subitems encoding, delayed recall and recognition) (Malloy-Diniz et al. 2007). Visuospatial perception was assessed with the following tests: subtests of Luria's Neuropsychological Investigation (Christensen 1975), mental rotation of figures (Ratcliff 1979), and clock drawing (Sunderland et al. 1989). Constructive praxis was evaluated by the copy of the Rey-Osterrieth complex figure test (Osterrieth 1944). Executive function was assessed by Trail Making Test A and B (Reitan 1958) and Stroop test, with time and number of errors in congruent and incongruent conditions (Stroop 1935). Language tests included the Boston Naming Test (Kaplan et al. 1983), verbal fluency for category (animals), and phonological fluency for letters (Christensen and Guilford 1959). Working memory and attention were assessed by the forward and backward digit span subtest of the WAIS-R (Wechsler 1987).

CSF sample

For the CSF biomarkers, the samples were centrifuged at $800\times g$ for 5 min to remove cells and were stored frozen for protein analysis. $A\beta_{42}$ and total tau were measured using Inno-Bia AlzBio3 kit (Innogenetics, Gent, Belgium) and the cutoff values as previously described (Olsson et al. 2005).

Aerobic fitness assessment

Measures of oxygen utilization during a graded treadmill test provide a direct index of cardiorespiratory fitness (VO_{2max}) and are considered the gold standard. After obtaining their individual physician's approval to engage in cardiorespiratory fitness testing, the participants performed a graded maximal exercise test, which protocols consisted of starting walking at speed of 3 mph without

slope, then both increased 2 % every 2-min intervals. Measures of oxygen uptake, heart rate, and blood pressure were continuously monitored by a cardiologist. Relevant measures include VO_{2peak} (highest volume of oxygen value attained on a graded exercise test) and VO_{2max} (value at which VO_2 plateaus or increases minimally despite increased workload on graded exercise test). The aerobic test was finished when the subject reached volitional exhaustion and/or symptom limitation. VO_{2max} was defined as the highest recorded VO_2 value after two of the three criteria were met: (1) a plateau in the peak VO_2 between two or more workloads, (2) a respiratory exchange ratio >1.00 , and (3) a heart rate equivalent to their age-predicted maximum.

MRI acquisition

All patients underwent high-resolution MRI on a 3-T Achieva-Intera PHILLIPS[®] scanner. Routine T1- and T2-weighted sequences were performed for all subjects to exclude unrelated abnormalities. For VBM analyses, we used volumetric T1 images of the brain acquired using a standard eight-channel head coil: sagittal orientation, voxel matrix $240 \times 240 \times 180$, voxel size $1 \times 1 \times 1 \text{ mm}^3$, TR/TE 7/3.201 ms, and flip angle 8° . For the DTI analyses, we used a spin echo DTI sequence: $2 \times 2 \times 2 \text{ mm}^3$ acquiring voxel size, interpolated to $1 \times 1 \times 2 \text{ mm}^3$, reconstructed matrix 256×256 , 70 slices, TE/TR 61/8500 ms, flip angle 90° , 32 gradient directions, no averages, and max b-factor = 1000 s/mm^2 .

MRI analysis

GM morphology

We used VBM8 plus DARTEL toolbox for the GM morphology analysis. All T1-weighted images were preprocessed using SPM12/VBM8 routines. The images were normalized into the same stereotaxic space (DARTEL algorithm, MNI 152), segmented into WM, GM, and CSF, modulated (a step that preserves tissue volumes after being spatially normalized), and smoothed with isotropic Gaussian kernel of 10 mm.

WM integrity

Maps of fractional anisotropy (FA), mean diffusivity (MD), radial diffusivity (RD), and axial diffusivity (AxD) were created using FMRIB toolbox on FSL

v.4.1.4 [51]. The following tract-based spatial statistic (TBSS) steps preceded the statistical analyses: a FA skeleton was generated from the FA images that were aligned to each other using nonlinear registration. Then, the preprocessed FA image of each patient was projected onto the mean FA skeleton. To visualize the statistical maps of MD, AxD, and RD, we applied these parameters over the mean FA skeleton. We did not put ROIs in any brain region, because we wanted to check what brain areas would relate to AF in the participants.

Statistical analysis

Demographic, clinical, and neuropsychological data We performed a nonimaging statistical data analysis using the Statistical Package for the Social Sciences (SPSS, version 22; SPSS Inc., Chicago, IL, USA). A χ^2 test was used to compare frequency distribution of sex and *t* tests to compare other demographic and neuropsychological data. The significant *p* level was <0.05.

GM morphology In order to verify the relationship between AF and GM from our participants with aMCI, we performed correlation tests between both variables ($p < 0.001$, uncorrected, cluster with at least 30 continuous voxels).

WM integrity For the WM statistical analysis, the general linear model was performed in order to investigate for possible correlations between the TBSS results and AF. Johns Hopkins white matter DTI-based atlas, available in the FSL software (<http://fsl.fmrib.ox.ac.uk/fsl/fslwiki/>), was used to identify WM tracts with abnormal findings. The results were corrected for multiple comparisons (cluster-based correction, $p < 0.05$).

Results

Demographic and neuropsychological data

Characteristics and neuropsychological data are shown in Table 1.

AF assessment

The mean maximal oxygen consumption (VO₂max) was 21.4 (3.26) ml/kg/min, being the minimum and maximum values of 16 and 29 ml/kg/min, respectively.

Table 1 Demographic and neuropsychological information for patients with aMCI ($n = 22$)

	Mean (SD)	Range
Sex (female)	12 (54 %)	
Age (years)	68.5 (5.3)	57–80
Education (in years)	7.6 (4.8)	0–16
CDR	0	0–0.5
CSF sample (pg/μl)		
Aβ ₄₂	310.6 (96.6)	178.1–446.7
Total tau	88.4 (55.3)	2187–17.6
MMSE	26.2 (3.2)	24–30
Episodic memory tests		
RAVLT encoding	31.4 (10.9)	9–53
RAVLT A7	4.2 (3.5)	0–11
RAVLT RC-FP	6.2 (6.5)	–8–13
Working memory/attention tests		
FDS	4.3 (0.9)	3–6
BDS	3.1 (1.1)	2–5
Language tests		
SVF	14.4 (3.9)	7–28
FAZ	27.6 (8.4)	15–39
BNT	51.6 (8.1)	34–59
Executive function tests		
Stroop C (s)	50.7 (23.6)	29–148
Stroop C (errors)	0.2 (0.6)	0–2
Stroop I (s)	129.9 (48.3)	84–237
Stroop I (errors)	7.7 (8.4)	0–36
TMT-A (s)	103.4 (61.6)	39–300
TMT-B (s)	135 (90.9)	0–300
Visuospatial skill tests		
Rey figure copy	29 (7.8)	9.5–36
Clock drawing	8.9 (4.3)	5–29
LNI	16 (2.2)	13–18

Data presented as average (standard deviation)

CSF cerebral spinal fluid, Aβ₄₂ amyloid beta, CDR clinical dementia rating, MMSE Mini Mental Status Examination, RAVLT encoding encoding of Rey auditory-verbal learning test, RAVLT A7 delayed recall of Rey auditory-verbal learning test, RAVLT RC-FP Rey auditory-verbal learning test true recognition (i.e., recognition minus false positives), FDS forward digit span, BDS backward digit span, SVF semantic verbal fluency, FAS phonological fluency for letters, BNT Boston Naming Test, Stroop C Stroop test congruent, Stroop I Stroop test incongruent, TMT-A Trail Making Test A, TMT-B Trail Making Test B, Rey figure copy copy of the Rey-Osterrieth complex figure test, LNI visuospatial perception item of Luria's Neuropsychological Investigation

Relationship between GM morphology and aerobic fitness

Voxelwise multiple regression analysis revealed a significant and positive relationship between AF and GM morphology in the left inferior parietal cortex, left frontal superior cortex, left frontal middle cortex, medial frontal superior cortex, right frontal superior cortex, and right frontal superior orbital cortex (Table 2, Fig. 1).

Relationship between WM microstructural integrity and aerobic fitness

TBSS showed a positive correlation between the participants with aMCI FA values and AF in the following regions: major and minor right forceps, right inferior and superior longitudinal fasciculus, right inferior fronto-occipital fasciculus, and genu of corpus callosum. Also, a negative correlation between MD and RD values and AF could be seen in the same regions described for FA. A negative correlation could be seen in genu of corpus callosum and right superior longitudinal fasciculus between AxD and AF (Fig. 2).

Discussion

The present study presents a comprehensive approach of the relationship between AF and GM morphology and WM integrity in older adults with aMCI with physiopathological evidence of AD. According to our findings, we can conclude that in older adults with aMCI, (1) AF positively correlated with GM morphology, especially in frontal areas, and (2) AF levels had a positive

correlation with FA and negative correlation with MD, RD, and AxD in multiple tracts.

Voxelwise GM analysis across the participants' brains showed correlation between AF and frontal areas mainly (such as left and right frontal superior cortex, left frontal middle cortex, medial frontal superior cortex and right frontal superior orbital cortex), which are known to be related to executive functions, attention tasks, decision making, working memory, mental flexibility, problem solving, planning, and task execution (Alvarez and Emory 2006; Chan et al. 2008). Memory and executive functions, indeed, are the first affected cognitive domains in the aging process, in which prefrontal cortex and hippocampus have a shrinking rate of 1–2 % per year after the age of 55 (Olsson et al. 2005). The benefits of AF in the frontal-mediated functions, however, have been demonstrated previously in the healthy population. For example, healthy controls with higher fitness level had a better performance on executive function tests and greater GM volume in several frontal areas including the dorsal lateral prefrontal cortex, even after controlling for several potentially confounding variables including age (Weinstein et al. 2012). In fact, the largest fitness-induced benefits occur selectively in executive control processes (Colcombe and Kramer 2003).

Analyzing the correlation between cardiorespiratory fitness and WM integrity, there was a positive correlation between AF and FA measures in right major and minor forceps, right inferior and superior longitudinal fasciculus, right inferior fronto-occipital fasciculus, and genu of corpus callosum. A positive correlation between anisotropy levels and cardiorespiratory fitness in the right inferior fronto-occipital fasciculus has been reported to occur in AD patients in a study using a tract-of-

Table 2 VBM results for correlations between GM morphology and AF ($p < 0.001$, familywise error corrected)

Region	Stereotaxic coordinates (mm)			T value	Z value	<i>p</i>	Cluster size Voxels
	X	Y	Z				
L parietal inferior	-33	-45	52	4.46	3.50	<0.00022	75
L frontal superior	-17	56	21	4.34	3.44	<0.00006	135
L frontal middle	-27	54	25	4.08	3.30	<0.00017	782
Medial frontal superior	-12	63	12	2.77	3.11	<0.00022	174
R frontal superior	23	59	03	4.35	3.45	<0.00006	135
R frontal superior orbital	20	69	-3	4.57	3.56	<0.00017	782

Cluster size >30 voxels

L left, R right

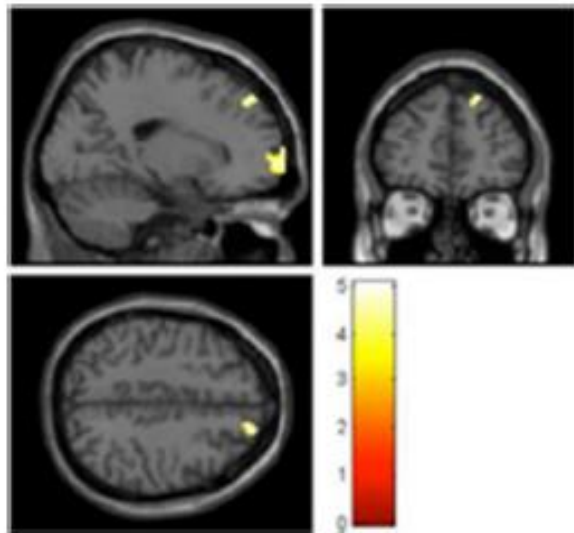


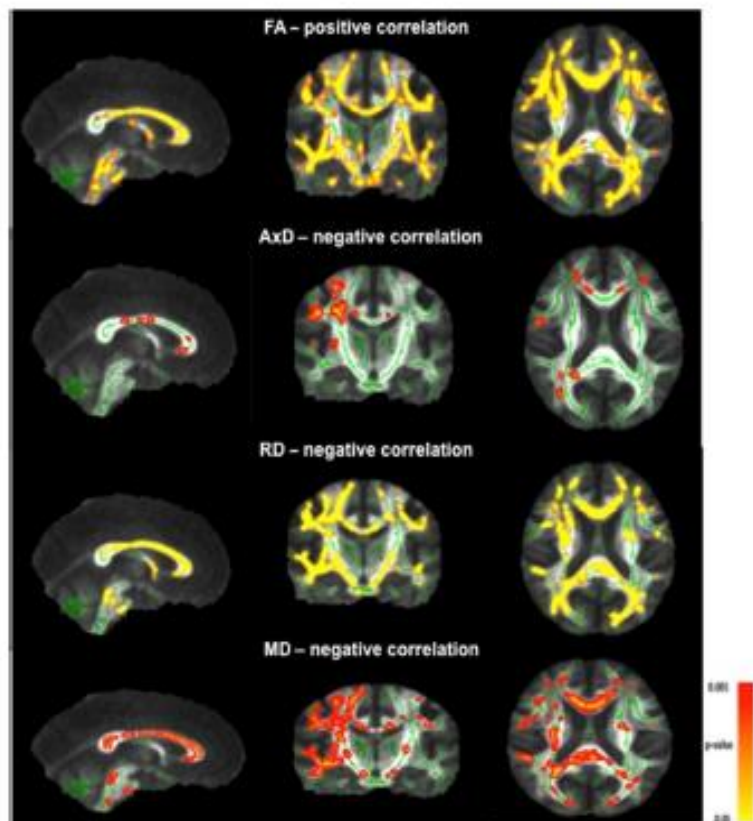
Fig. 1 SPM representation of VBM results ($p < 0.05$, familywise error corrected, cluster $>$ five voxels) showing positive correlation between gray matter morphology and aerobic fitness in aMCI subjects

interest approach (Perea et al. 2015). Similarly, AF and WM microstructural integrity positively correlated in the corpus callosum in cognitively healthy subjects

(Johnson et al. 2012), in which the authors report that each portion of the corpus callosum related to AF is interconnected to the frontal regions—known to be associated with high-level motor planning. Indeed, the largest age-associated reduction in FA occurs mainly in the frontal regions of the brain (Nusbaum et al. 2001; Abe et al. 2002) and has been interpreted as an increased axonal dispersion rather than a demyelination process (Billiet et al. 2015).

Likewise, FA, mean, and radial diffusivity values correlated with the level of AF throughout the brain, whereas AxD measures correlated to AF in more specific areas. Although the biological underpinnings of DTI are still not fully understood and are mostly based on animal models, diffusivity abnormalities have been related to axonal damage in previous reports (Tyszka et al. 2006). Axonal defects such as impaired axonal transport and swellings have been confirmed even at early stages of AD in both animal models and humans (Stokin et al. 2005) and was associated with the origin and development of A β plaques and hyperphosphorylated tau in the brains of AD patients (Xiao et al. 2011).

Fig. 2 TBSS analysis showing correlation between aerobic fitness and white matter in aMCI subjects. Significant related areas are shown in yellow-red and represent cluster-based corrected values ($p < 0.05$). FA fractional anisotropy, AxD axial diffusivity, RD radial diffusivity, MD mean diffusivity



There are evidences in the literature that physical exercise affects some of the biological mechanisms that contribute to improve neurocognitive function, such as enhanced cerebral blood flow, synthesis of neurotransmitters, vascular brain neurogenesis, and regulation of neurotrophic factors (Colcombe et al. 2006; Etnier et al. 2006; Davenport et al. 2012). The increase in brain-derived neurotrophic factor (BDNF) has been described as favorable to brain neuroplasticity (Ding et al. 2006; Gomez-Pinilla et al. 2008) and seems to be highly concentrated in hippocampus and cortex, promoting cell proliferation and signaling through several pathways (Lessman and Brigadski 2009). In addition, physical exercise practice seems to reduce pro-inflammatory cytokines such as TNF- α and IL-6 (Baker et al. 2010; Nascimento et al. 2014), which in turn are in higher levels in MCI subjects when compared to healthy controls (Magaki et al. 2007; Trollor et al. 2012; Saleem et al. 2015).

There are some limitations in this work that must be acknowledged. Because of the cross-sectional nature of our study, we are unable to claim that physical exercises in fact have a beneficial effect on both WM and GM of older adults with aMCI. Longitudinal studies controlling for other confounding factors would be necessary to confirm our suggestion of a protective role of physical exercise in WM and GM. Even so, our work brings new and robust findings involving population with aMCI with a CSF biomarker for AD, showing that the subjects with higher levels of AF present greater microstructural integrity in multiple WM tracts and higher density in GM frontal.

We have to bear in mind that most of the studies have used cognitively normal older adults to analyze the effect of physical exercise on the brain's structure. In this study, we demonstrated that AF might have a beneficial impact even in the older adults with high risk of developing AD.

Considering that older adults with aMCI, and a biological biomarker, is a high risk population for developing dementia, the findings from the present study should encourage future longitudinal studies designed to analyze the real effect of physical exercise in this population and the use of this nonpharmacological strategy as a resource of health improvement.

References

- Abe O et al. (2002) Normal aging in the central nervous system: quantitative MR diffusion-tensor analysis. *Neurobiol Aging* 23(3):433–441
- Albert MS et al. (2011) The diagnosis of mild cognitive impairment due to Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement* 7:270–279
- Alvarez JA, Emory E (2006) Executive function and the frontal lobes: a meta-analytic review. *Neuropsychol Rev* 16(1):17–42. doi:10.1007/s11065-006-9002-x
- Baker LD et al. (2010) Effects of aerobic exercise on mild cognitive impairment: a controlled trial. *Arch Neurol* 67(1):71–79. doi:10.1001/archneurol.2009.307
- Ballard C, O'Brien J (1999) Treating behavioural and psychological signs in Alzheimer's disease. *BMJ* 319(7203):138–139
- Billiet T et al. (2015) Age-related microstructural differences quantified using myelin water imaging and advanced diffusion MRI. *Neurobiol Aging* 36(6):2107–2121. doi:10.1016/j.neurobiolaging.2015.02.029
- Black JE et al. (1990) Learning causes synaptogenesis, whereas motor activity causes angiogenesis, in cerebellar cortex of adult rats. *Proc Natl Acad Sci U S A* 87(14):5568–5572
- Caro E et al. (2001) Circulating insulin-like growth factor I mediates the protective effects of physical exercise against brain insults of different etiology and anatomy. *J Neurosci* 21(15):5678–5684
- Chan RC et al. (2008) Assessment of executive functions: review of instruments and identification of critical issues. *Arch Clin Neuropsychol* 23:201–216
- Christensen AL (1975) Luria's neuropsychological investigation. Manual and test materials, fourth edn. Spectrum Publications Inc., Munksgaard, Copenhagen
- Christensen P, Guilford J (1959) Manual for the Christensen Guilford fluency tests, 2nd edn. Sheridan Supply, Beverly Hills, CA
- Colcombe S, Kramer AF (2003) Fitness effects on the cognitive function of older adults: a meta-analytic study. *Psychol Sci* 14(2):125–130
- Colcombe SJ et al. (2003) Aerobic fitness reduces brain tissue loss in aging humans. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 58(2):176–180
- Colcombe SJ et al. (2006) Aerobic exercise training increases brain volume in aging humans. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 61:1166–1170
- Cotman CW, Berchold NC (2002) Exercise: a behavioral intervention to enhance brain health and plasticity. *Trends Neurosci* 25(6):295–301
- Cyarto EV et al. (2012) Protocol for a randomized controlled trial evaluating the effect of physical activity on delaying the progression of white matter changes on MRI in older adults with memory complaints and mild cognitive impairment: the AIBL Active trial. *BMC Psychiatry* 12:167. doi:10.1186/1471-244x-12-167
- Davenport MH et al. (2012) Cerebrovascular reserve: the link between fitness and cognitive function? *Exerc Sport Sci Rev* 40(3):153–158. doi:10.1097/JES.0b013e3182553430

- Ding Q et al. (2006) Insulin-like growth factor I interfaces with brain-derived neurotrophic factor-mediated synaptic plasticity to modulate aspects of exercise-induced cognitive function. *Neuroscience* 140(3):823–833. doi:10.1016/j.neuroscience.2006.02.084
- Douaud G et al. (2011) DTI measures in crossing-fibre areas: increased diffusion anisotropy reveals early white matter alteration in MCI and mild Alzheimer's disease. *Neuroimage* 55(3): 880–890. doi:10.1016/j.neuroimage.2010.12.008
- Erickson KI et al. (2011) Exercise training increases size of hippocampus and improves memory. *Proc Natl Acad Sci U S A* 108(7):3017–3022. doi:10.1073/pnas.1015950108
- Etnier JL et al. (2006) A meta-regression to examine the relationship between aerobic fitness and cognitive performance. *Brain Res Rev* 52(1):119–130. doi:10.1016/j.brainresrev.2006.01.002
- Fazekas F et al. (1987) MRI signal abnormalities at 1.5 T in Alzheimer's dementia and normal aging. *AJNR Am J Neuroradiol* 421–426:421–426
- Folstein MF, Folstein SE, McHugh PR (1975) "Mini-mental state". A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *J Psychiatr Res* 12:189–198
- Gomez-Pinilla F, Vaynman S, Ying Z (2008) Brain-derived neurotrophic factor functions as a metabotrophin to mediate the effects of exercise on cognition. *Eur J Neurosci* 28(11):2278–2287. doi:10.1111/j.1460-9568.2008.06524.x
- Hachinski V et al. (2006) National Institute of Neurological Disorders and Stroke-Canadian Stroke Network. *Stroke* 37(9):2220–2241
- Hillman CH, Erickson KI, Kramer AF (2008) Be smart, exercise your heart: exercise effects on brain and cognition. *Nat Rev Neurosci* 9:58–65
- Johnson NF et al. (2012) Cardiorespiratory fitness is positively correlated with cerebral white matter integrity in healthy seniors. *Neuroimage* 59(2):1514–1523. doi:10.1016/j.neuroimage.2011.08.032
- Kaplan, E.; Goodglass, H.; Weintraub, S. (1983) The Boston Naming Test. In: Febiger, L. (Ed.). 2nd edition. Philadelphia
- Lessman V, Brigadski T (2009) Mechanisms, locations, and kinetics of synaptic BDNF secretion: an update. *Neurosci Res* 65(1):11–22. doi:10.1016/j.neures.2009.06.004
- Magaki S et al. (2007) Increased production of inflammatory cytokines in mild cognitive impairment. *Exp Gerontol* 42(3):233–240. doi:10.1016/j.exger.2006.09.015
- Malloy-Diniz LF et al. (2007) The Rey Auditory-Verbal Learning Test: applicability for the Brazilian elderly. *Rev Bras Psiquiatr* 29(4):324–329
- Marks BL et al. (2007) Role of aerobic fitness and aging on cerebral white matter integrity. *Ann N Y Acad Sci* 1097: 171–174. doi:10.1196/annals.1379.022
- Morris JC (1993) The Clinical Dementia Rating (CDR): current version and scoring rules. *Neurology* 43(11):2412–2414
- Nascimento CM et al. (2014) Physical exercise in MCI elderly promotes reduction of pro-inflammatory cytokines and improvements on cognition and BDNF peripheral levels. *Curr Alzheimer Res* 11(8):799–805
- Neeper SA et al. (1995) Exercise and brain neurotrophins. *Nature* 373(6510):109. doi:10.1038/373109a0
- Nusbaum AO et al. (2001) Regional and global changes in cerebral diffusion with normal aging. *AJNR Am J Neuroradiol* 22(1):136–142
- Olsson A, Vanderstichele H, Andreasen N, De Meyer G, Wallin A, Holmberg B, Rosengren L, Vanmechelen E (2005) Simultaneous measurement of beta-amyloid(1–42), total tau, and phosphorylated tau (Thr181) in cerebrospinal fluid by the xMAP technology. *Clin Chem* 51(2):336–345
- Osterieth, P (1944) The test of copying a complex figure: a contribution to the study of perception and memory *Arch Psychol* 30:206–356
- Perea RD et al. (2015) Cardiorespiratory fitness and white matter integrity in Alzheimer's disease. *Brain Imaging Behav*. doi:10.1007/s11682-015-9431-3
- Petersen RC et al. (2006) Neuropathologic features of amnesic mild cognitive impairment. *Arch Neurol* 63(5):665–672. doi:10.1001/archneur.63.5.665
- Ratcliff G (1979) Spatial thought, mental rotation and the right cerebral hemisphere. *Neuropsychologia* 17(1):49–54
- Reitan R (1958) Validity of the Trail Making Test as an indicator of organic brain damage. *Percept Mot Skills* 8:271–276
- Rovio S et al. (2005) Leisure-time physical activity at midlife and the risk of dementia and Alzheimer's disease. *Lancet Neurol* 4(11):705–711. doi:10.1016/S1474-4422(05)70198-8
- Saleem M et al. (2015) Inflammatory markers in mild cognitive impairment: a meta-analysis. *J Alzheimers Dis* 47(3):669–679. doi:10.3233/jad-150042
- Stokin GB et al. (2005) Axonopathy and transport deficits early in the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Science* 307(5713): g–8. doi:10.1126/science.1105681
- Stroop J (1935) Studies of interference in serial verbal reactions. *J Exp Psychol* 18:643–662
- Sunderland T et al. (1989) Clock drawing in Alzheimer's disease. A novel measure of dementia severity. *J Am Geriatr Soc* 37(8):725–729
- Suzuki T et al. (2013) A randomized controlled trial of multicomponent exercise in older adults with mild cognitive impairment. *PLoS One* 8(4):e61483. doi:10.1371/journal.pone.0061483
- Teixeira CV et al. (2012) Non-pharmacological interventions on cognitive functions in older people with mild cognitive impairment (MCI). *Arch Gerontol Geriatr* 54(1):175–180. doi:10.1016/j.archger.2011.02.014
- Tian Q et al. (2014) Cardiorespiratory fitness and brain diffusion tensor imaging in adults over 80 years of age. *Brain Res* 1588:63–72. doi:10.1016/j.brainres.2014.09.003
- Trollor JN et al. (2012) The association between systemic inflammation and cognitive performance in the elderly: the Sydney Memory and Ageing Study. *Age (Dordr)* 34(5):1295–1308. doi:10.1007/s11357-011-9301-x
- Tseng BY et al. (2013) White matter integrity in physically fit older adults. *Neuroimage* 82:510–516. doi:10.1016/j.neuroimage.2013.06.011
- Tyszka JM et al. (2006) Statistical diffusion tensor histology reveals regional dysmyelination effects in the shiverer mouse mutant. *Neuroimage* 29(4):1058–1065. doi:10.1016/j.neuroimage.2005.08.037
- Van Praag H et al. (1999) Running enhances neurogenesis, learning, and long-term potentiation in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96(23):13427–13431
- Voss MW et al. (2013) Neurobiological markers of exercise-related brain plasticity in older adults. *Brain Behav Immun* 28:90–99. doi:10.1016/j.bbi.2012.10.021

- Wechsler D (1987) Manual for the Wechsler Memory Scale-Revised (WMS-R). The Psychological Corporation, San Antonio
- Weinstein AM et al. (2012) The association between aerobic fitness and executive function is mediated by prefrontal cortex volume. *Brain Behav Immun* 26:811–819
- Winblad B et al. (2004) Mild cognitive impairment—beyond controversies, towards a consensus: report of the International Working Group on Mild Cognitive Impairment. *J Intern Med* 256(3):240–246. doi:10.1111/j.1365-2796.2004.01380.x
- Xiao AW et al. (2011) The origin and development of plaques and phosphorylated tau are associated with axonopathy in Alzheimer's disease. *Neurosci Bull* 27(5):287–299. doi:10.1007/s12264-011-1736-7
- Zimmerman B et al. (2014) Cardiorespiratory fitness mediates the effects of aging on cerebral blood flow. *Front Aging Neurosci* 6:59. doi:10.3389/fnagi.2014.00059

4.2. Mudanças cognitivas e estruturais no cérebro de sujeitos com CCLa com evidência fisiopatológica para DA após um treinamento MEP de 6 meses.

Nesse trabalho, tivemos com principal objetivo avaliar os efeitos de 6 meses de MEP em espessura cortical, volume de hipocampo, cognição e funcionalidade em sujeitos com CCLa com evidência fisiopatológica para DA. Para tal, dados de espessura cortical e volume de hipocampo foram extraídos utilizando o software *FreeSurfer*. Após 6 meses de treinamento aeróbio multifuncional, sujeitos com CCLa com evidência fisiopatológica para DA tiveram aumento no volume dos hipocampos direito e esquerdo e melhora nos testes de memória e manutenção da funcionalidade. Em contrapartida, o grupo que não participou do MEP teve piora no desempenho dos testes de memória e questionários de funcionalidade, e estabilidade no volume dos hipocampos após o mesmo período. Esses resultados são importantes, pois o aumento do volume de hipocampo *per se*, apesar de um achado importante, não necessariamente está ligado a um melhor desempenho em testes de memória. Entretanto, a estabilidade na funcionalidade e melhora nos testes de memória dos pacientes que treinaram pode significar uma melhor qualidade de vida.

Alzheimer's & Dementia: Translational Research & Clinical Interventions

Cognitive and structural cerebral changes in aMCI due to AD after multicomponent training.

--Manuscript Draft--

Manuscript Number:	TRCI-D-17-00076
Article Type:	Research Article
Keywords:	aMCI due to AD; multicomponent exercise; cognition; hippocampus.
Corresponding Author:	Camila Vieira Ligo Teixeira, PhD Universidade Estadual de Campinas Campinas, São Paulo BRAZIL
First Author:	Camila Vieira Ligo Teixeira, PhD
Order of Authors:	Camila Vieira Ligo Teixeira, PhD
	Thiago Junqueira Ribeiro Rezende, PhD
	Marina Weiler, Postdoc Fellow
	Thamires Naela Cardoso Magalhães, MsD
	Ana Flávia M.K. Carletti Cassani, Bachelor
	Thiago Quinaglia Araújo Costa Silva, MD
	Helena Passarelli Giroud Joaquim, PhD
	Leda Leme Talib, PhD
	Orestes Vicente Forlenza, Professor
	Mariana Pires Franco, bachelor
	Pedro Eduardo Nechio, bachelor
	Paula Teixeira Fernandes, Professor
	Fernando Cendes, Professor
	Marcio Luiz Figueredo Balthazar, Professor
Abstract:	<p>Introduction: Information about how physical exercise affects patients with amnesic mild cognitive impairment (aMCI) due to Alzheimer's disease (AD) is still missing. This study evaluated the impact of multicomponent exercise training on cognition and brain structure in aMCI subjects with CSF positive AD biomarkers.</p> <p>Methods: 40 aMCI subjects were divided in training (multicomponent exercise 3x-week for 6 months) and non-training group. Assessments included cardiorespiratory fitness, neurocognitive tests and a structural MRI at 3.0 T scanner. FreeSurfer software analyzed hippocampal volume and cortical thickness.</p> <p>Results: The training group showed increased volume in both hippocampi and better performance in for episodic memory test after 6 months. In contrast, the non-training group declined in functional activities, recognition and cardiorespiratory fitness, for the same period.</p> <p>Discussion: Multicomponent exercise seems to improve hippocampal volume and episodic memory and, maintaining VO₂maximun in aMCI due to AD.</p>

INTRODUCTION

Over the past decades, much effort has been made to develop a treatment that could be able to bring some cognitive improvement for Alzheimer's disease (AD) patients, since the current pharmacological treatment available has limited effects. Identifying and targeting subjects at risk for developing dementia (*i.e.*, amnesic mild cognitive impairment subjects, or aMCI), as well as developing non-pharmacological treatments are research priorities. In this context, physical exercise has been demonstrated to be an effective nonpharmacological strategy for combating cognitive decline and hippocampal degeneration in the cognitively healthy elderly (1-5) and in those with genetic risk for AD (6). Similarly, converging evidence demonstrated the benefits of practicing aerobic, resistance training, or balance training on cognition (7-9) and hippocampal volume increase (10) in aMCI subjects.

Another type of exercise, which has been gaining prominence, is the multicomponent exercise program (MEP). By definition, the MEP is a program that contains aerobic and resistance exercises, balance, coordination practicing, and flexibility stimulation in its core. Interestingly, previous studies have suggested that the combining exercises regimens has better wide-ranging effects on old adults than just one type of exercise (11), possibly having a larger effect on cognition than either aerobic or strength training programs alone. Similar to aerobic and resistance interventions, the MEP training is also associated with improvement in general global cognitive status in aMCI subjects (12) and AD patients (13). Furthermore, besides improving logical memory and maintaining general cognitive function, MEP training was associated with less whole brain cortical atrophy in older adults with aMCI (14).

Although physical exercise clearly shows some benefits in cognition and even in brain structure in the elderly, it is not well established if MEP training can have these effects in a MCI subjects with pathophysiological evidence of AD (*i.e.*, amyloidosis and neurodegeneration shown by altered p-tau or hippocampal atrophy). Including only aMCI subjects due to AD in our sample diminishes the heterogeneity of these subjects and aid in selecting the appropriate population for preclinical therapeutic intervention. Since the diagnostic criteria for MCI in previous studies emphasize the presence of memory complaints and absence of dementia, the diagnostic accuracy can be lower, especially in this early phase when the symptoms are vague. To answer this question, we assessed the influence a 6-month MEP training on episodic memory and functional activities, as well as brain structure (cortical thickness and hippocampal volume) in aMCI with pathophysiological evidence of AD.

METHODS

Study Design

We conducted a 26-week, single-blinded, MEP intervention trial with sedentary older participants diagnosed with aMCI (mean age 68.3 ± 4.8 , 56.5% female). The study was approved by the ethics committee of University of Campinas and all participants signed a written informed consent prior to any procedure. The study had a total of 40 participants, who were divided into two groups: Training (T, $n=20$) and Non-Training (NT, $n=20$), according to their own will of participation (non-randomized). All participants underwent neuropsychological assessment, MRI scanning and aerobic fitness examination twice: one week before the intervention period (time 1) and one week after the 26-week intervention period (time 2).

Participants

Participants were diagnosed as aMCI by using the core criteria of the NIA/AA for MCI (15, 16) and had a CDR (17) score of 0.5 (with an obligatory memory score of 0.5), performed using a semi-structured interview. All participants had pathophysiological evidence of AD in CSF ($A\beta_{1-42} < 416.5$ pg/mL and $A\beta_{1-42}/p\text{-tau} < 9.5$ pg/mL (18), memory cognitive complaint confirmed by poor performance on episodic memory test (Rey Auditory Verbal Learning Test)(19), and absence of dementia. We excluded individuals with any cardiological disease that could compromise the exercise performance, other neurological or psychiatric diseases, Hachinski ischemic score > 4 (20), Fazekas scale > 1 (21), head injury with loss of consciousness, use of sedative drugs 24h prior to neuropsychological testing, history of drug or alcohol addiction and prior chronic exposure to neurotoxic substances. T and NT groups did not differ in age, gender, body mass index, activity level (self-reported mean endurance per week) or medicine intake (anticholinesterase, beta-adrenergic blocking agents, metformin, diuretics, antihyperlipidemic statins, antidepressive, anxiolytic, thyroid medication)(see 'Baseline group comparison').

Aerobic fitness assessment

After obtaining the physician's approval to engage in cardiorespiratory fitness testing, the participants performed a graded maximal exercise test, which protocols consisted of starting walking at speed of 3mph without slope, then increased 2% every 2-min intervals. Measures of oxygen uptake, heart rate and blood pressure were continuously monitored by a

cardiologist. The test was finished when the subject reached volitional exhaustion and/or symptom limitation.

Measures of oxygen utilization during a graded treadmill test provide a direct index of cardiorespiratory fitness (considered the gold standard). Oxygen uptake peak (VO_2 peak) or $\text{VO}_{2\text{max}}$ indicates the functional capacity of cardiorespiratory function and is often considered as the benchmark indicator of cardiorespiratory fitness (22). $\text{VO}_{2\text{max}}$ was defined as the highest recorded VO_2 value after two of the three criteria were met: (1) a plateau in peak VO_2 between two or more workloads; (2) a respiratory exchange ratio >1.00 , and (3) a heart rate equivalent to their age-predicted maximum.

In this test, we also calculated the anaerobic threshold and the respiratory compensation point. The first one is defined as the level of exercise intensity in which lactic acid builds up in the body faster than it can be cleared away, whereas the second one is the metabolic rate for a maximal incremental test, from which the control of the acid-base balance is lost (23). Additionally, MET scores (metabolic equivalent of task; $1 \text{ MET} = 1 \text{ kcal kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ or $3.5 \text{ ml kg}^{-1} \text{ min}^{-1}$) were calculated to assess the self-reported physical activity level through International Physical Activity Questionnaire (24).

Neuropsychological evaluation

Neuropsychologists administered to all participants a cognitive, functional and neuropsychiatric battery without knowledge of clinical diagnosis. Global cognitive status were measured using the Mini Mental Status Examination (MMSE) (25) and episodic memory was evaluated by the Rey Auditory Verbal Learning Test (subitems encoding - RAVLT, delayed recall-A7 and recognition-Rec) (19). In order to evaluate the presence of confounding depressive symptoms, we used Beck Depression Inventory (26). We used the Pfeffer Functional Activities Questionnaire (27) to evaluate

functionality. The test assesses 10 common activities, focusing on complex cognitive/social functioning. The informant report's total score (range 0 to 10, meaning 0 independency in functional activities and 10 great dependency on them) was obtained.

MRI acquisition

All patients underwent MRI on a 3T Achieva-Intera Phillips[®] Scanner. Routine T1 and T2 weighted sequences were performed for all subjects to exclude unrelated abnormalities. We used volumetric T1-weighted images of the brain acquired using a standard eight-channel head coil: sagittal orientation; voxel matrix, 240×240×180; voxel size, 1×1×1mm³; repetition time/echo time (TR/TE), 7/3.201 ms; flip angle 8 degrees.

CSF sample

CSF was obtained from all participants once (time 1), by lumbar puncture of the L3/L4 or L4/L5 intervertebral space, using a 25-gauge needle, and collected via a syringe in 12-ml polypropylene tubes (Sarstedt). A small amount of CSF was used for routine analysis, including total cells (leucocytes and erythrocytes), total protein and glucose. Within 2 hours, CSF samples were centrifuged at 800×g for 10 minutes to remove cells and stored at -80°C until AD biomarker analysis for protein analysis. CSF A β ₁₋₄₂, total tau and p-tau proteins were measured using Inno-Bia AlzBio3 kit (Innogenetics, Gent, Belgium).

Intervention Protocol

Training group

The goal of the MEP sessions was to accumulate 30min of different types of exercises in the intensity prescribed by the treadmill test (see 'aerobic fitness assessment' session). To achieve the target intensity, participants were wearing a heart rate monitor during the training sessions. We defined the target intensity being the minimal heart rate value from the anaerobic threshold and the maximum value from the respiratory compensation point. Although both thresholds were individualized in the test, we could estimate an intensity: between 70-90% of the maximum heart rate of each participant.

In each session, 10min were dedicated for warming up and cooling down (5 minutes at the beginning of the session and 5 minutes at the end). During the first four weeks of the intervention, the sessions were shorter (between 20-30 minutes/session), so the participants could start feeling more confident doing the proposed exercise, using the monitor and trying to achieve the target heart rate. From the 5th week onwards, the participants were stimulated

to achieve and maintain the target heart rate as much as possible during the 30 minutes of core content. A range of aerobic exercises was offered including outdoor walking and jogging, circuit training using rubber bands, exercises using different kinds of balls and dancing. Once a week, the exercise was walking or jogging, depending on the participant condition. The others 2 sessions of the week included: circuit training, in which the participants had to do some resistance exercises using rubber bands and between the exercises, had to walk or run; sports like basketball, volleyball and tennis adapted to the elderly; or dancing.

Non-training group

Participants in NT group did not take part of any intervention session. They were advised to continue with their normal routine, but without initiating any new activity, including physical exercise. We kept track of it by calling them weekly and asking about their activities. In addition to that, the treadmill test showed their unchanged aerobic fitness at the end of the intervention period.

MRI preprocessing

To calculate cortical thickness and hippocampal volume, structural T1-weighted images were analyzed using FreeSurfer software (V.5.3.) (<http://surfer.nmr.mgh.harvard.edu/>)(28). Images were corrected for inhomogeneity from magnetic field, ranged to Talairach and Tournoux atlas (29) and skull-stripped. Voxels were labeled as white and gray matter, and CSF. Cortical thickness was calculated as the shortest distance between the pial and white surface at each vertex across the cortical mantle. We used a Gaussian filter with 10-mm full width half maximum for smoothing. We estimated total intracranial volume (TIV), and the volume for both hippocampus was calculated. We considered 34 bilateral cortical regions defined by parcellation according to the anatomical atlas of Desikan (30). All the metrics were analyzed later on, using Using IBM *Statistical Package for the Social Sciences* version 22 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

Statistical Analysis

Using SPSS, we first tested the normal distribution of the data using Kolmogorov-Smirnov test. To verify if there were differences between groups at baseline (time 1), we did a t-test for independent samples and chi-square test was used for categorical variables comparison, such as sex. Groups were considered similar when $p > 0.05$. The intervention effect was first analyzed using ANOVA for repeated-measures with “group” (T and NT) as between-groups

factor and “time” (time 1 and time 2) as within-groups factor. We aimed to verify the intervention effect on the following dependent variables: cognition, functional dependency, aerobic fitness, cortical thickness, and hippocampal volume. As our data satisfied the sphericity condition (Mauchly’s test, $p > 0.05$), SPSS already corrects for multiple comparisons (31).

RESULTS

Baseline group comparison

Comparison between T and NT at time 1 showed that there was no significant difference between groups in any baseline characteristics (**Table 1**).

Aerobic Fitness change

A repeated-measures ANOVA yielded a significant between-groups interaction for VO_{2max} , indicating a difference between the two groups in maximum oxygen consumption after the intervention (higher in the T group). Paired t test showed a significant decrease in VO_{2max} for NT after 6 months, whereas the T group had a stable VO_{2max} (**Table 2, Fig 2**).

Cognition and functional activities changes

ANOVA for repeated-measures indicated a significant time x group (between-group) interaction in PFS, RAVLT A7 and RAVLT Rec, indicating a difference between T and NT in functional and memory scales after the intervention. Paired t test demonstrated an improvement in RAVLT A7 for T group, and a significant worse result in Pfeffer and RAVLT Rec in the NT group after the training period (**Table 2**).

Cortical thickness change

T group showed increased values in various cortical areas after the intervention period, while the NT group showed significant atrophy in those areas. As shown in **Table 3**, ANOVA displayed a significant time x group interaction for several areas in the left and right hemisphere. However, such results did not survive after FDR correction for multiplicity.

Hippocampal volume change

As our group of interest was aMCI, we wanted to focus on hippocampal volume. Regarding this important area, ANOVA demonstrated a significant interaction in time x group for both right and left hippocampi (**Table 4**). Analysis within-groups confirmed a significant change only for T group in both hippocampi, while NT did not present any significant difference.

DISCUSSION

In the present paper, six months of MEP training was effective in maintaining cardiorespiratory fitness and increasing significantly right and left hippocampus volume in a sample with aMCI due to AD. Furthermore, the group that participated in the intervention showed better episodic memory, and maintained functional activities, while the group that did not participate decreased in those variables. To our knowledge, this is the first study that examines the effect of a MEP training on cerebral and clinical characteristics of aMCI with pathophysiological evidence for AD.

The aMCI group who undertook the MEP training showed a significant increased volume in left, right and total hippocampus of 9.64%, 8.72% and 9.18%, respectively, after the 6-month period; whereas the group that did not engage in such training presented a volume loss of 2.82%, 2.19% and 2.51% in the same regions. The increased hippocampal volume found here corroborate with a recent investigation, in which the participants with probable MCI had higher hippocampus volume by 5.6%, 2.5%, and 4% for left, right and total hippocampus after 6 months of aerobic training (10). The decrease in hippocampal volume found in the NT group also aligns with the atrophy expected for MCI subjects previously published (*i.e.*, 2.53%/year)(32). Our primary finding about the hippocampus volume increase after the intervention period for the group that engaged in physical training concurs and extends previous observations (3, 10, 33).

It should also be mentioned the positive impact of training on VO₂ peak. Our study showed that MEP training using an intensity based on aerobic threshold was effective in maintaining VO₂ peak in elderly with aMCI due to AD. VO_{2max} decline rate is around 20% per decade at ages of 70 and older, demonstrating a much higher rate when compared to 3-6% rate in the 20's and 30's (34). Whereas for most healthy adults VO_{2max} has little bearing on everyday life (and is perhaps of lesser practical concern), in the aging population the decline in VO_{2max} is of such importance that the ability of elderly individuals to perform everyday tasks become greatly dependent upon VO_{2max} (35). Maintaining aerobic fitness means, to

the aging population, preventing or delaying everyday tasks dependency, reducing mobility and mortality

Besides increase in hippocampal volume and aerobic fitness, the T group showed better episodic memory (recall and recognition) after the intervention, while the group who did not undertake the intervention performed worse in episodic memory (recognition) and daily functional activities tests. Although previous studies have already found positive impact of aerobic exercise on cognition of MCI (36-39), the present work differs from the others by its inclusion criteria. For instance, even mild levels of depression can produce significant functional impairment (40), and exercise is known to affect mood/apathy (41). Because our aMCI participants had pathophysiological evidence of AD and absence of depressive symptoms, we can say with relative certainty that the cognitive changes observed after the training period were at least partly due to the effects of intervention.

Under the biological underpinnings, physical exercise affects some biological mechanisms that contribute to improve neurocognitive function, such as enhanced cerebral blood flow, synthesis of neurotransmitters, vascular brain neurogenesis and regulation of neurotrophic factors (42-44). A recent study demonstrated, with a 3 month-aerobic-training in healthy older adults, improvement in memory and recognition and hippocampi volume are related to increased hippocampal perfusion due to better fitness (5). Aerobic training may increase hippocampal volume by increasing levels of brain derived neurotrophic factor, highly concentrated in hippocampus and cortex (45) which stimulate neurogenesis and increase the complexity of dendritic network (3, 46). Moreover, exercise is known as a powerful “tool” against metabolic and cerebrovascular disease (47) and neuroinflammation, which are known to increase the risk of AD (48). Indeed, literature has shown the protective role of physical exercise against pro-inflammatory cytokines such as TNF- α and IL-6 (39, 49), which seems to be higher in MCI subjects (50-52).

Our study has one major limitation that must be acknowledged: the individuals were not randomly allocated to the two different interventions; instead, the subjects were trained or not based on their own interest and willingness. Among its statistics disadvantages, non-probability sampling does not allow us to know how well we are representing the population, and we face difficulties in estimating sampling variability and identifying possible bias. Therefore, we cannot certainly claim that the alterations observed after the follow-up period were exclusive due to the MEP training, or consequence of other factors related to the willingness of someone in engaging in such trainings. However, we tried to control and

balance as much as possible other possible confounding factors between the two groups, such as incidence of hypertension, diabetes, dyslipidemia, depressive symptoms, use of medication, pathophysiological level of tau and A β ₁₋₄₂, and physical and cognitive performance.

One of the National Institutes of Health (NIH) Consensus and State-of-the Science Statements concluded that while there is no conclusive evidence that modifiable factor is associated to reduce the risk for AD, exercise interventions seem to present promising results (53). The long preclinical phase of AD provides a critical opportunity for potential interventions, trying to change the trajectory of cognitive decline and loss of independency known to occur in AD patients. Furthermore, therapeutic interventions applied earlier would be more likely to modify the course of disease. Most studies in the literature, however, present a great variability in MCI characterization (54), in which a substantial proportion of them will never convert to dementia and will remain stable over years in their cognitive functioning. Including only amnesic MCI with pathophysiological evidence of AD increases the chance that our patients are really prodromal AD.

Taken together, we found that supervised MEP training not only contributes to improvement in cardiorespiratory fitness, memory performance and functionality, but also increases hippocampus volume in aMCI subjects due to AD. Highlighting the many benefits of physical exercise for aMCI subjects, future research should look into different intensities of exercise, longer durations, and also follow-ups, focusing on the mechanisms that explore fully the direction and nature of the association between physical exercise, cognition and brain.

REFERENCES

1. Teixeira CV, Gobbi S, Pereira JR, Vital TM, Hernandez SS, Shigematsu R, et al. Effects of square-stepping exercise on cognitive functions of older people. *Psychogeriatrics : the official journal of the Japanese Psychogeriatric Society*. 2013;13(3):148-56.
2. Liu-Ambrose T, Nagamatsu LS, Voss MW, Khan KM, Handy TC. Resistance training and functional plasticity of the aging brain: a 12-month randomized controlled trial. *Neurobiology of aging*. 2012;33(8):1690-8.
3. Erickson KI, Voss MW, Prakash RS, Basak C, Szabo A, Chaddock L, et al. Exercise training increases size of hippocampus and improves memory. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011;108(7):3017-22.
4. Maass A, Duzel S, Brigadski T, Goerke M, Becke A, Sobieray U, et al. Relationships of peripheral IGF-1, VEGF and BDNF levels to exercise-related changes in memory, hippocampal perfusion and volumes in older adults. *NeuroImage*. 2015;131:142-54.

5. Maass A, Duzel S, Goerke M, Becke A, Sobieray U, Neumann K, et al. Vascular hippocampal plasticity after aerobic exercise in older adults. *Molecular psychiatry*. 2014;20(5):585-93.
6. Smith JC, Nielson KA, Woodard JL, Seidenberg M, Durgerian S, Hazlett KE, et al. Physical activity reduces hippocampal atrophy in elders at genetic risk for Alzheimer's disease. *Frontiers in aging neuroscience*. 2014;6:61.
7. Greblo Juracic Z, Krizanic V, Sarabon N, Markovic G. Effects of feedback-based balance and core resistance training vs. Pilates training on cognitive functions in older women with mild cognitive impairment: a pilot randomized controlled trial. *Aging clinical and experimental research*. 2017.
8. Nagamatsu LS, Chan A, Davis JC, Beattie BL, Graf P, Voss MW, et al. Physical activity improves verbal and spatial memory in older adults with probable mild cognitive impairment: a 6-month randomized controlled trial. *Journal of aging research*. 2013;2013:861893.
9. Nagamatsu LS, Handy TC, Hsu CL, Voss M, Liu-Ambrose T. Resistance training promotes cognitive and functional brain plasticity in seniors with probable mild cognitive impairment. *Archives of internal medicine*. 2012;172(8):666-8.
10. ten Brinke LF, Bolandzadeh N, Nagamatsu LS, Hsu CL, Davis JC, Miran-Khan K, et al. Aerobic exercise increases hippocampal volume in older women with probable mild cognitive impairment: a 6-month randomised controlled trial. *British journal of sports medicine*. 2015;49(4):248-54.
11. Kirk-Sanchez NJ, McGough EL. Physical exercise and cognitive performance in the elderly: current perspectives. *Clinical interventions in aging*. 2014;9:51-62.
12. Suzuki T, Shimada H, Makizako H, Doi T, Yoshida D, Tsutsumimoto K, et al. Effects of multicomponent exercise on cognitive function in older adults with amnesic mild cognitive impairment: a randomized controlled trial. *BMC Neurol*. 2012;12:128.
13. Sampaio A, Marques EA, Mota J, Carvalho J. Effects of a multicomponent exercise program in institutionalized elders with Alzheimer's disease. *Dementia (London)*. 2016.
14. Suzuki T, Shimada H, Makizako H, Doi T, Yoshida D, Ito K, et al. A randomized controlled trial of multicomponent exercise in older adults with mild cognitive impairment. *PLoS One*. 2013;8(4):e61483.
15. Albert MS, DeKosky ST, Dickson D, Dubois B, Feldman HH, Fox NC, et al. The diagnosis of mild cognitive impairment due to Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement*. 7. United States: 2011 The Alzheimer's Association; 2011. p. 270-9.
16. A Network Diffusion Model of Disease Progression in Dementia. *Neuron*. 2012 Mar 22;73(6):1204-15
17. Morris JC. The Clinical Dementia Rating (CDR): current version and scoring rules. *Neurology*. 1993;43(11):2412-4.
18. Forlenza OV, Radanovic M, Talib LL, Aprahamian I, Diniz BS, Zetterberg H, et al. Cerebrospinal fluid biomarkers in Alzheimer's disease: Diagnostic accuracy and prediction of dementia. *Alzheimers Dement (Amst)*. 2015;1(4):455-63.
19. Malloy-Diniz LF, Lasmar VA, Gazinelli Lde S, Fuentes D, Salgado JV. The Rey Auditory-Verbal Learning Test: applicability for the Brazilian elderly. *Rev Bras Psiquiatr*. 2007;29(4):324-
20. Hachinski V, Iadecola C, Petersen RC, Breteler MM, Nyenhuis DL, Black SE, et al. National Institute of Neurological Disorders and Stroke-Canadian Stroke Network. *Stroke*. 2006;37(9):2220-41.
21. Fazekas F, Chawluk J, Alavi A, Hurtig H, Zimmerman R. MRI signal abnormalities at 1.5 T in Alzheimer's dementia and normal aging. *AJNR Am J Neuroradiol*. 1987;421-426:421-6.

22. William D. McArdle FIKVLKL. Exercise Physiology: Nutrition, Energy, and Human Performance: Lippincott Williams & Wilkins; 1996.
23. Ghosh AK. Anaerobic threshold: its concept and role in endurance sport. The Malaysian journal of medical sciences : MJMS. 2004;11(1):24-36.
24. Craig CL, Marshall AL, Sjostrom M, Bauman AE, Booth ML, Ainsworth BE, et al. International physical activity questionnaire: 12-country reliability and validity. Medicine and science in sports and exercise. 2003;35(8):1381-95.
25. Folstein MF, Folstein SE, McHugh PR. "Mini-mental state". A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. J Psychiatr Res. 12. England 1975. p. 189-98.
26. Beck AT, Ward CH, Mendelson M, Mock J, Erbaugh J. An inventory for measuring depression. Archives of general psychiatry. 1961;4:561-71.
27. Pfeffer RI, Kurosaki TT, Harrah CH, Jr., Chance JM, Filos S. Measurement of functional activities in older adults in the community. Journal of gerontology. 1982;37(3):323-9.
28. Fischl B, Dale AM. Measuring the thickness of the human cerebral cortex from magnetic resonance images. Proc Natl Acad Sci U S A. 2000;97(20):11050-5.
29. Talairach J TP. Co-planar Stereotaxic Atlas of the Human Brain. New York: Thieme; 1988. New York:: Thieme; 1988.
30. Desikan RS, Segonne F, Fischl B, Quinn BT, Dickerson BC, Blacker D, et al. An automated labeling system for subdividing the human cerebral cortex on MRI scans into gyral based regions of interest. NeuroImage. 2006;31(3):968-80.
31. Park E, Cho M, Ki CS. Correct use of repeated measures analysis of variance. The Korean journal of laboratory medicine. 2009;29(1):1-9.
32. Tabatabaei-Jafari H, Shaw ME, Cherbuin N. Cerebral atrophy in mild cognitive impairment: A systematic review with meta-analysis. Alzheimer's & dementia (Amsterdam, Netherlands). 2015;1(4):487-504.
33. Aribisala BS, Gow AJ, Bastin ME, del Carmen Valdes Hernandez M, Murray C, Royle NA, et al. Associations between level and change in physical function and brain volumes. PLoS One. 2013;8(11):e80386.
34. Fleg JL, Morrell CH, Bos AG, Brant LJ, Talbot LA, Wright JG, et al. Accelerated longitudinal decline of aerobic capacity in healthy older adults. Circulation. 2005;112(5):674-82.
35. Paterson DH, Govindasamy D, Vidmar M, Cunningham DA, Koval JJ. Longitudinal study of determinants of dependence in an elderly population. Journal of the American Geriatrics Society. 2004;52(10):1632-8.
36. Porto FH, Coutinho AM, Pinto AL, Gualano B, Duran FL, Prando S, et al. Effects of Aerobic Training on Cognition and Brain Glucose Metabolism in Subjects with Mild Cognitive Impairment. Journal of Alzheimer's disease : JAD. 2015;46(3):747-60.
37. Teixeira CV, Gobbi LT, Corazza DI, Stella F, Costa JL, Gobbi S. Non-pharmacological interventions on cognitive functions in older people with mild cognitive impairment (MCI). Archives of gerontology and geriatrics. 2012;54(1):175-80.
38. Strohle A, Schmidt DK, Schultz F, Fricke N, Staden T, Hellweg R, et al. Drug and Exercise Treatment of Alzheimer Disease and Mild Cognitive Impairment: A Systematic Review and Meta-Analysis of Effects on Cognition in Randomized Controlled Trials. The American journal of geriatric psychiatry : official journal of the American Association for Geriatric Psychiatry. 2015;23(12):1234-49.
39. Nascimento CM, Pereira JR, de Andrade LP, Garuffi M, Talib LL, Forlenza OV, et al. Physical exercise in MCI elderly promotes reduction of pro-inflammatory cytokines and improvements on cognition and BDNF peripheral levels. Current Alzheimer research. 2014;11(8):799-805.

40. DeFrancesco M, Marksteiner J, Kemmler G, Fleischhacker WW, Blasko I, Deisenhammer EA. Severity of Depression Impacts Imminent Conversion from Mild Cognitive Impairment to Alzheimer's Disease. *J Alzheimers Dis.* 2017.
41. Deslandes HS, Helena M, Natacha O, Evandro Silva Freire C, Jerson L, Andrea. Physical Exercise and Clinically Depressed Patients: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Neuropsychobiology.* 2017;67(2):61-8.
42. Zhang HY, Wang SJ, Xing J, Liu B, Ma ZL, Yang M, et al. Detection of PCC functional connectivity characteristics in resting-state fMRI in mild Alzheimer's disease. *Behav Brain Res.* 2009;197:103-8.
43. Raichle ME, MacLeod AM, Snyder AZ, Powers WJ, Gusnard DA, Shulman GL. A default mode of brain function. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2001;98(2):676-82.
44. Becker JA, Hedden T, Carmasin J, Maye J, Rentz DM, Putcha D, et al. Amyloid-beta associated cortical thinning in clinically normal elderly. *Ann Neurol.* 2011;69(6):1032-42.
45. Burock MA, Dale AM. Estimation and detection of event-related fMRI signals with temporally correlated noise: a statistically efficient and unbiased approach. *Hum Brain Mapp.* 2000;11(4):249-60.
46. Cassilhas RC, Lee KS, Fernandes J, Oliveira MG, Tufik S, Meeusen R, et al. Spatial memory is improved by aerobic and resistance exercise through divergent molecular mechanisms. *Neuroscience.* 2012;202:309-17.
47. Middleton LE, Corbett D, Brooks D, Sage MD, Macintosh BJ, McIlroy WE, et al. Physical activity in the prevention of ischemic stroke and improvement of outcomes: a narrative review. *Neuroscience and biobehavioral reviews.* 2012;37(2):133-7.
48. Honjo K, Black SE, Verhoeff NP. Alzheimer's disease, cerebrovascular disease, and the beta-amyloid cascade. *The Canadian journal of neurological sciences Le journal canadien des sciences neurologiques.* 2012;39(6):712-28.
49. Baker LD, Frank LL, Foster-Schubert K, Green PS, Wilkinson CW, McTiernan A, et al. Effects of aerobic exercise on mild cognitive impairment: a controlled trial. *Archives of neurology.* 2010;67(1):71-9.
50. Magaki S, Mueller C, Dickson C, Kirsch W. Increased production of inflammatory cytokines in mild cognitive impairment. *Exp Gerontol.* 2007;42(3):233-40.
51. Trollor JN, Smith E, Agars E, Kuan SA, Baune BT, Campbell L, et al. The association between systemic inflammation and cognitive performance in the elderly: the Sydney Memory and Ageing Study. *Age (Dordr).* 2012;34(5):1295-308.
52. Freeman SH, Kandel R, Cruz L, Rozkalne A, Newell K, Frosch MP, et al. Preservation of neuronal number despite age-related cortical brain atrophy in elderly subjects without Alzheimer disease. *J Neuropathol Exp Neurol.* 2008;67(12):1205-12.
53. Daviglus ML, Bell CC, Berrettini W, Bowen PE, Connolly ES, Jr., Cox NJ, et al. NIH state-of-the-science conference statement: Preventing Alzheimer's disease and cognitive decline. NIH consensus and state-of-the-science statements. 2010;27(4):1-30.
54. Roberts R, Knopman DS. Classification and Epidemiology of MCI. *Clin Geriatr Med.* 2013;29(4).

ACKNOWLEDGEMENTS/CONFLICTS/FUNDING SOURCES

We would like to thank BRAINN – Brazilian Institute of Neuroscience and Neurotechnology.

The authors confirm there is no conflict of interest.

Funding sources by Fundação da Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – Fapesp n.2014/02359-9.

Figure 1

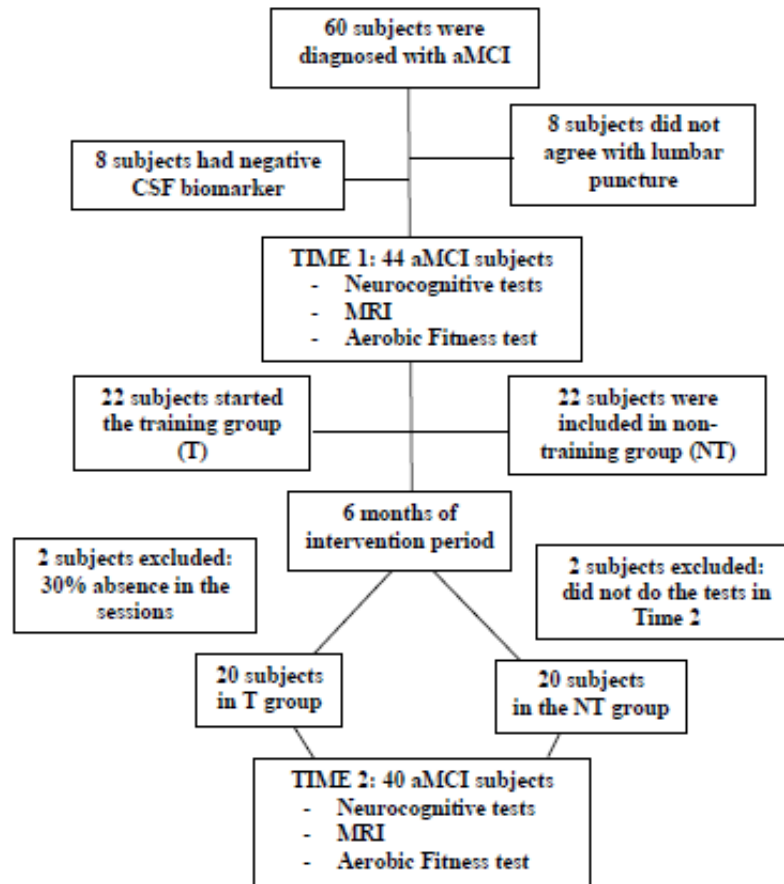


Table1. Baseline characteristics comparison between training (T) and non-training groups (NT).

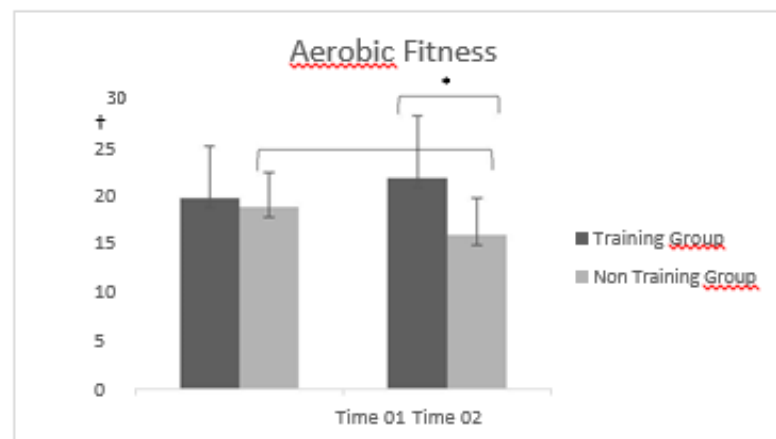
	T	NT	<i>P</i> value
Gender (%female)	60%	61%	.94
Age (years)	69.4 (5.2)	68.9.7 (5.5)	.86
Education (years)	8.3 (5.7)	6.9 (4.2)	.25
Body mass index	26.3(4.2)	27.5(3.9)	.44
Medicine for, n (%)			
Hypertension	6 (30)	6 (30)	.82
Diabetes	3 (15)	2 (10)	.72
Dyslipidemia	4 (20)	1 (5)	.34
Depressive symptoms	7 (35)	6 (30)	.91
Anticholinesterase	2 (10)	3 (3)	.72
Cognitive performance			
PFS score	1.9(3.1)	1.8(3.6)	.95
MMSE score	26.3(2.1)	25.5(2.2)	1.0
RAVLT score	31.0(8.0)	35.7(15.6)	.10
RAVLT A7	4.0 (2.7)	4.9 (3.5)	.15
RAVLT Rec	5.5 (6.1)	9.3 (4.6)	.34
BDI	6.2 (6.4)	7.2 (9.6)	.14
CSF biomarkers			
A β ₁₋₄₂ (pg/mL)	370.4(195.6)	355.16(118.8)	.78
Total tau (pg/mL)	86.3(52.3)	74.7(37.7)	.64
p-tau (pg/mL)	38.3(20.3)	43.5(24)	.22
Physical performance			
IPAQ (mets/week)	18.6(18.5)	18.2(20.8)	.72
VO ₂ max (ml/kg/min ⁻¹)	19.7(5.4)	18.9(3.6)	.08

Notes: Data presented as average (standard deviation). PFS: Pfeffer functional Scale; MMSE: mini-mental status examination; RAVLT encoding: encoding of Rey auditory verbal learning test; BDI: Beck Depressive Inventory; CSF: cerebral spinal fluid; A β ₁₋₄₂: amyloid-beta; Total tau: total tau protein; p-tau: tau phosphorylated; IPAQ: International Physical Activity Questionnaire; Mets: metabolic equivalent of task; VO₂max: maximum oxygen intake.

Table 2. Effects of intervention in aerobic fitness, neuropsychological tests and functional activity in training (T) and non-training (NT) groups.

	T		NT		between-group (T time 2 vs NT time 2)		T paired t test (time 2 – time 1)		NT paired t test (time 2 – time 1)	
	Time 1	Time 2	Time 1	Time 2	F	P value	t	P value	t	P value
VO _{2max}	19.7(5.4)	21.8(6.5)	18.9(3.6)	15.9(3.9)	15.7	.004	-1.7	.09	7.0	.00002
PFS	1.9(3.1)	1.5(1.7)	1.8(3.6)	2.6(2.9)	5.7	.034	0.98	.35	-3.19	.009
MMSE	26.3 (2.1)	24.53 (6.2)	25.5 (2.2)	25.95 (2.5)	1.3	.26	1.6	.13	0.32	.75
RAVLT	31.0 (8.0)	34.6 (11.3)	35.3 (15.0)	34.6 (10.0)	0.16	.68	-0.52	.61	0.54	.60
RAVLT A7	4.0 (2.7)	5.9 (5.1)	4.9 (3.5)	5.2 (3.6)	4.6	.045	-2.4	.04	0.35	.73
RAVLT Rec	5.5 (6.1)	8.6 (9.6)	9.3 (4.6)	5.1 (8.8)	7.8	.018	-1.51	.15	2.8	.02

Notes: Data presented as average ± standard deviation. PFS: Pfeiffer functional Scale; MMSE: mini-mental status examination; RAVLT encoding: encoding of Rey auditory verbal learning test; RAVLT A7: delayed recall of Rey auditory verbal learning test; RAVLT Rec: Rey auditory verbal learning test true recognition (i.e., recognition minus false positives).



* = significant interaction between groups; † = significant interaction within-groups.

Fig 2. Differences in VO_{2max} after 6 months in Training and Non-training groups.

Table 3. Effects of intervention in cortical thickness in training (T) and non-training (NT) groups.

	T		NT		between-group (T time 2 vs NT time 2) uncorr.		between-group (T time 2 vs NT time 2) FDR corrected	
	Time 1	Time 2	Time 1	Time 2	F	P value	P value	
	Bank of Superior Temporal Sulcus	2.22 (0.2)	2.26 (0.1)	2.21 (0.1)	2.15 (0.1)	6.48	0.016	0.07
	Caudal Anterior Cingulate Gyrus	2.54 (0.2)	2.64 (0.3)	2.64 (0.3)	2.60 (0.3)	4.58	0.041	0.13
LH	Entorhinal Cortex	3.14 (0.4)	3.24 (0.3)	3.20(0.5)	3.10 (0.5)	8.92	0.006	0.06
	Entiform Gyrus	2.43 (0.2)	2.55 (0.2)	2.52 (0.2)	2.52 (0.2)	7.52	0.01	0.06
	Lingual Gyrus	1.78 (0.1)	1.84 (0.1)	1.82 (0.1)	1.82 (0.1)	7.25	0.011	0.31
	Inferior Temporal Gyrus	2.48 (0.2)	2.55 (0.2)	2.57 (0.2)	2.55 (0.2)	8.14	0.008	0.39
	Middle Temporal Gyrus	2.53 (0.2)	2.60 (0.2)	2.53 (0.1)	2.53 (0.2)	8.12	0.008	0.30
	Parahippocampal Gyrus	2.55 (0.3)	2.60 (0.3)	2.70 (0.3)	2.66 (0.2)	4.16	0.049	0.39
	Supra Marginal Gyrus	2.21 (0.2)	2.28 (0.1)	2.24 (0.1)	2.23 (0.1)	8.87	0.006	0.39
	Temporal Pole	3.56 (0.3)	3.67 (0.3)	3.42 (0.3)	3.41 (0.3)	6.2	0.019	0.07
	Insula Gyrus	2.75 (0.1)	2.8 (0.2)	2.70 (0.2)	2.63 (0.2)	6.64	0.015	0.27
		Isthmus Cingulate Gyrus	2.31 (0.3)	2.22 (0.2)	2.22 (0.2)	2.23 (0.2)	5.11	0.031
RH	Exa Orbitalis	2.44 (0.2)	2.48 (0.2)	2.44 (0.2)	2.40 (0.2)	4.36	0.045	0.38
	Exa Triangularis Gyrus	2.20 (0.1)	2.23 (0.2)	2.19 (0.1)	2.15 (0.1)	8.79	0.006	0.19

Notes: Data presented as average (standard deviation). LH: left hemisphere, RH: right hemisphere, TL: Temporal Lobe, CC: Corpus Callosum, OL: Occipital Lobe, PL: Parietal Lobe, TOL: Temporal-occipital lobe, FTPL: ~~Fronto-temporo-parietal area~~, FL: Frontal Lobe.

Table 4. Changes in hippocampus volume after the intervention period and comparison between groups.

	T		NT		between-group (T time 2 vs NT time 2)		within-group T (time 2 – time 1)		within-group NT (time 2 – time 1)	
	Time 1	Time 2	Time 1	Time 2	F	p	t	p	t	p
Left Hippocampus Volume (mm ³)	3258.5 (687.8)	3538.8 (416.0)	3486.3 (635.8)	3423.6 (665.5)	13.7	0.00003	-2.9	0.007	1.04	0.31
Right Hippocampus Volume (mm ³)	3369.9 (714.6)	3663.6 (488.1)	3584.8 (606.9)	3544.8 (678.8)	8.0	0.001	-2.4	0.03	0.56	0.58

Notes: Data presented as average (standard deviation).

5.3 Efeito de 12 meses de treinamento aeróbio multifuncional nas funções cognitivas e conectividade funcional da DMN em pacientes com CCLa com fisiopatologia da DA.

Nesse trabalho, tivemos como principal objetivo analisar o efeito de 12 meses do treinamento aeróbio multifuncional na cognição e conectividade funcional da DMN em sujeitos com CCLa com evidência fisiopatológica para DA. Para medir a conectividade funcional da DMN, utilizamos a técnica *seed-based*, colocando uma “semente” em uma área-chave da rede, ou seja, o PCC. Os sujeitos que participaram do treinamento tiveram melhora nos testes de memória e funcionalidade, além do esperado aumento no condicionamento aeróbio, quando comparados ao grupo que não treinou. Essas mudanças foram evidentes sobretudo nos 6 primeiros meses de treinamento. Em relação às mudanças na conectividade, ou sincronia entre as áreas da DMN, não observamos alteração em nenhum grupo. Nosso trabalho mostrou que 12 meses de treinamento MEP tem efeito benéfico seja no aumento ou manutenção da cognição e da funcionalidade de sujeitos com CCLa com evidência fisiopatológica da DA, mesmo não alterando a conectividade funcional da DMN.

- **Artigo em preparação.**

**Functional connectivity and cognition changes in aMCI due to AD: effects
of multicomponent exercise.**

Camila Vieira Ligo Teixeira^a, Marina Weiler^b, Raphael Casseb^c, Brunno Campos^a, Ana Flávia M. K. Carletti Cassani^a, Thiago Quinaglia Araújo Costa e Silva^d, Helena Passarelli Giroud Joaquim^e, Ieda Talib, Orestes Forlenza^e, Mariana Pires Franco^f, Pedro Eduardo Nechio^f, Paula Teixeira Fernandes^f, Fernando Cendes^a, Marcio Luiz Figueredo Balthazar^a

^a NeuroImage Laboratory, Department of Neurology, Medical Sciences Faculty, UNICAMP

^b National Institute of Health – Baltimore, USA

^c Medical Physics Laboratory, Department of Neurology, Medical Sciences Faculty, UNICAMP, Campinas, São Paulo, Brazil

^d Cardiovascular Department, Medical Sciences Faculty, UNICAMP, Campinas, São Paulo, Brazil

^e Neuroscience Laboratory – USP

^f Faculty of Physical Education - UNICAMP

Abstract

Background: Increasing evidence demonstrates that physical exercise is an important modifiable factor not only for cardiovascular fitness, but also for brain health and dementia prevention. However, it is not clear how multicomponent physical exercise can affect cognition and brain functional connectivity in patients with amnesic mild cognitive impairment (aMCI) due to Alzheimer's disease (AD). In this study, we aimed to evaluate twelve months of multicomponent exercise

training on cognition and functional connectivity of DMN in aMCI subjects with CSF positive AD. Methods: 30 aMCI (mean age 69.9, 55.2% female) subjects were diagnosed using the core criteria of the NIA/AA for MCI and presented positive CSF AD biomarkers. All patients underwent neurocognitive tests, which included Functional Pfeffer Scale (FPS), Mini Mental State Examination (MMSE), Rey Auditory Verbal Learning Test (subtests: total, A7 and Recognition and Clock Drawing), and a structural MRI at 3.0 Tesla. To measure the functional connectivity of DMN, we used the seed-based technique, placing a "seed" in a key area of the network, ie PCC. A graded maximal exercise test on a motor-driven treadmill assessed aerobic fitness (measured by VO₂ maximum). Participants were divided into training group (T, 15 patients with supervised exercise 3 times per week for 6 months) and non-training group (NT, 15 patients). The groups were controlled for age, sex, and education. Results: The subjects who participated in the training had improved memory and functional tests, in addition to the expected increase in aerobic conditioning, when compared to the non-trained group. These changes were evident especially in the first 6 months of training. Regarding the changes in connectivity we did not observe any change in any group. Conclusion: Twelve months of MEP training was beneficial in either increasing or maintaining the cognition and functionality of subjects with MCI due to AD, even though it does not alter the functional connectivity of DMN.

Introduction

Memory problem due to aging is one of the biggest concerns among the elderly, since the current reality is 35.6 million people diagnosed with dementia and by 2050, this number will increase to 115.4 million (WHO, 2012). Thus, identifying factors which reduce the rate or extent of age-related cognitive decline or risk to develop dementia is a research priority.

Amnesic mild cognitive impairment (aMCI) is a well-recognized risk factor for developing Alzheimer's disease (AD), and characterized by a cognitive decline in memory or more domains, but without significant impairment in social and functional performance (Winblad *et al.*, 2004; Petersen *et al.*, 2006). It's a major risk factor for dementia, presenting an annual conversion rate of 5-15%,

while the conversion rate in cognitively health older adults is 1% (Petersen *et al.*, 2009).

Recent studies have shown converters MCI, or MCI due to AD, present a CSF biomarker characteristic as found in AD patients (i.e., lower Ab42 and higher total- and phospho-tau) had an increased risk of progressing to dementia (Diniz *et al.*, 2007; Forlenza *et al.*, 2010). Consequently, MCI can be considered as a target for interventions trying to alter the trajectory of both cognitive decline and loss of functional independence in older adults (Teixeira, Gobbi, Corazza, *et al.*, 2012) (Petersen and Morris, 2005). Unfortunately, the pharmacological treatments for older adults with aMCI is not solid (Ballard and O'brien, 1999), and the development of potentially disease modifying strategies has become essential worldwide.

In this sense, exercise is a nonpharmacological strategy for combating cognitive decline. Evidence suggests that exercise has a beneficial influence on cognition of healthy community dwelling older exercise (Liu-Ambrose *et al.*, 2010; Liu-Ambrose *et al.*, 2012), (Colcombe *et al.*, 2004), (Cassilhas *et al.*, 2007; Teixeira *et al.*, 2013). Recent results also have shown exercise benefits on cognition of older adults with MCI. Not only aerobic or resistance training benefits cognition (Nagamatsu *et al.*, 2012; Nagamatsu *et al.*, 2013) but also Pilates and balance training (Greblo Jurakic *et al.*, 2017). This fact increases the range of exercises that can be used in the intention of improving cognition.

Regarding human brain, growing evidence supports the idea that physical exercise also affects its structure and function. Some of these exercise-induced effects include modifications in brain cytoarchitecture (Erickson *et al.*, 2009; Ten Brinke *et al.*, 2015) and different pattern in neural activity (Smith *et al.*, 2014). Functional MRI data showed neural activity becoming more efficient in the pre-frontal regions of normal aging and AD after aerobic exercises (Colcombe *et al.*, 2004; Angevaren *et al.*, 2008).

Resting state functional connectivity seems to be a possible biomarker and predictor of the future conversion to AD (Greicius, 2008; Albert *et al.*, 2011; Yamasaki *et al.*, 2012) and also an indicator of treatment efficacy (Li *et al.*, 2012). The default mode network (DMN) is a resting state functional connectivity, and is closely related to AD. It is deactivated during a task performance and activated in resting state (task free). The DMN has been demonstrated to be associated

with episodic memory retrieval, prospective memory, self-referential process and social cognition (Anticevic *et al.*, 2012). This network includes several structures including precuneus/posterior cingulate cortex (PCC), medial prefrontal cortex, inferior parietal lobule and medial temporal cortex (entorhinal/hippocampus)(Laird *et al.*, 2009).

The PCC is also an area associated with the accumulation of amyloid- β (A β) plaque, a hallmark of AD pathology(Buckner *et al.*, 2009). There is a reduced functional connectivity in PCC in MCI, early AD and in normal aging with positive test result for brain amyloid burden (Hedden *et al.*, 2009; Drzezga *et al.*, 2011). Literature has shown that even before cognitive decline in AD, PCC exhibits increased connectivity with frontal and parietal brain regions, regions which will start showing AD pathology only in very late stage of the disease(Zhang *et al.*, 2009). This recruitment seems to be a compensatory response to aging, associated with neural damage (Hillary *et al.*, 2015), however, there is evidence that it could also be an indicator of maintaining cognition (Reuter-Lorenz and Park, 2014).

Besides presenting reduced functional connectivity in PCC, MCI and AD patients also show worse connectivity, compared to healthy elders, brain areas affected in early progression of AD, such as medial temporal lobe. Interventions or treatments that are able to preserve or increase connectivity of DMN may help aging population.

Aerobic exercise in healthy elders seems to increase the functional connectivity in DMN and hippocampal networks. Cardiovascular training improved the aging brain resting state efficiency in frontal, occipital and temporal regions. After 12 months of aerobic training, brain areas affected for aging, showed better connectivity in elders. This improvement could also be seen in executive function of the training group (Voss *et al.*, 2010). MCI subjects also seem to benefit from physical exercise, not only in cognitive functions (Baker *et al.*, 2010; Suzuki *et al.*, 2012; Teixeira, Gobbi, Corazza, *et al.*, 2012), but also in brain connectivity (Voelcker-Rehage and Niemann, 2013; Li *et al.*, 2017).

The investigations made so far about physical exercise effect on MCI, to our knowledge, did not have as subjects MCI people with positive CFS biomarker for AD, in other words, MCI due to AD. Thus, using functional MRI data we assessed the influence of 12 months, 3x/week of multicomponent exercise (MEP)

on DMN of older people with aMCI due to AD. We hypothesized that the intervention would increase brain functional connectivity of the participants.

Methods

Study design

We conducted a 12-month, single-blinded, MEP trial with sedentary older participants diagnosed aMCI (mean age 69.9, 55.2% female). The study was approved by the ethics committee of University of Campinas and all participants signed a written informed consent prior to any procedure. The study had a total of 30 participants, who were divided into two groups: Training (T, n=15) and NonTraining (NT, n=15), according to their own will of participation (non-randomized). All participants underwent neuropsychological assessment, MRI scanning and aerobic fitness examination twice: one week before the intervention period (time 1), one week after 6 months of intervention period (time 2) and one week after the 12-month intervention period (time 3).

Participants

Participants were diagnosed as aMCI by using the core criteria of the NIA/AA for MCI (Albert *et al.*, 2011) and had a CDR (Morris, 1993) score of 0.5 (with an obligatory memory score of 0.5), performed using a semi-structured interview. All participants had physiopathological evidence of AD (which consisted in $A\beta_{42} < 416.0$ and high tau protein in CSF), memory cognitive complaint confirmed by poor performance on episodic memory test (Rey Auditory Verbal Learning Test - RAVLT), and absence of dementia.

We excluded individuals with other neurological or psychiatric diseases, Hachinski ischemic score (Hachinski *et al.*, 2006) > 4 , Fazekas scale ≥ 1 (Fazekas *et al.*, 1987), head injury with loss of consciousness, use of sedative drugs 24h prior to neuropsychological testing, history of drug or alcohol addiction, prior chronic exposure to neurotoxic substances. T and NT groups did not differ in age, gender, body mass index, activity level (self-reported mean endurance per week) or medicine intake (anticholinesterasics, anti-hypertensive, metformin, diuretics, antihyperlipidemic statins, antidepressive, anxiolytic, thyroid medication)(see 'Baseline group comparison').

Neuropsychological evaluation

Global cognitive status were measured using the Mini Mental Status Examination (MMSE) (Folstein *et al.*, 1975) and episodic memory was evaluated by the Rey Auditory Verbal Learning Test (RAVLT) (subitems encoding, delayed recall and recognition) (Malloy-Diniz *et al.*, 2007). In order to evaluate the presence of depressive symptoms,

we used Beck Depressive Inventory(Beck *et al.*, 1961), 21-question multiple-choice asking how the subjects felt the last week, and the answers for each question differed from its intensity.

CSF sample

For CSF biomarkers, samples were centrifuged at $800 \times g$ for 5 minutes to remove cells and stored frozen for protein analysis. A β_{42} and total tau were measured using Inno-Bia Alzbio3 kit (Innogenetics, Gent, Belgium) and the cut-off values as previously described (Forlenza *et al.*, 2016)

Aerobic fitness assessment

After obtaining the physician's approval to engage in cardiorespiratory fitness testing, the participants performed a graded maximal exercise test, which protocols consisted of starting walking at speed of 3mph without slope, then increased 2% every 2-min intervals. Measures of oxygen uptake, heart rate and blood pressure were continuously monitored by a cardiologist. The test was finished when the subject reached volitional exhaustion and/or symptom limitation. Measures of oxygen utilization during a graded treadmill test provide a direct index of cardiorespiratory fitness (considered the gold standard). Oxygen uptake peak (VO₂ peak) or VO₂max indicates the functional capacity of cardiorespiratory function and is often considered as the benchmark indicator of cardiorespiratory fitness (William D. Mcardle, 1996). VO₂max was defined as the highest recorded VO₂ value after two of the three criteria were met: (1) a plateau in peak VO₂ between two or more workloads; (2) a respiratory exchange ratio >1.00, and (3) a heart rate equivalent to their age-predicted maximum. In this test, we also calculated the anaerobic threshold and the respiratory compensation point. The first one is defined as the level of exercise intensity in which lactic acid builds up in the body faster than it can be cleared away, whereas the second one is the metabolic rate for a maximal incremental test, from which the control of the acid-base balance is lost (Ghosh, 2004).

Intervention Protocol

Training group

The goal of the MEP sessions was to accumulate 30min of different types of exercises in the intensity prescribed by the treadmill test (see 'aerobic fitness assessment' session). To achieve the target intensity, participants were wearing a heart rate monitor during the training sessions. We defined the target intensity being the minimal heart rate value from the anaerobic threshold and the maximum value from the respiratory compensation point. Although both thresholds were individualized in the test, we could

estimate an intensity: between 70-90% of the maximum heart rate of each participant. In each session, 10min were dedicated for warming up and cooling down (5 minutes at the beginning of the session and 5 minutes at the end). During the first four weeks of the intervention, the sessions were shorter (between 20-30 minutes/session), so the participants could start feeling more confident doing the proposed exercise, using the monitor and trying to achieve the target heart rate. From the 5th week onwards, the participants were stimulated to achieve and maintain the target heart rate as much as possible during the 30 minutes of core content. A range of aerobic exercises was offered including outdoor walking and jogging, circuit training using rubber bands, exercises using different kinds of balls and dancing. Once a week, the exercise was walking or jogging, depending on the participant condition. The others 2 sessions of the week included: circuit training, in which the participants had to do some resistance exercises using rubber bands and between the exercises, had to walk or run; sports like basketball, volleyball and tennis adapted to the elderly; or dancing.

Non-training group

Participants in NT group did not take part of any intervention session. They were advised to continue with their normal routine, but without initiating any new activity, including physical exercise. We kept track of it by calling them weekly and asking about their activities. In addition to that, the treadmill test showed their unchanged aerobic fitness at the end of the intervention period.

MRI acquisition

All patients underwent high resolution MRI on a 3T Achieva-Intera PHILLIPS® Scanner. Functional MRI were acquired while at rest, where participants were instructed to keep their eyes closed, to relax, to move as little as possible, to not fall asleep and to avoid initiating attention-demanding activity. The following protocol was applied to each participant: a) structural: sagittal high-resolution, T1-weighted, gradient-echo images were acquired with TR/TE=7/3.2 ms, a field of view (FOV) of 240x240, and isotropic voxels of 1 mm³ and b) functional images were acquired during rest: axial T2*-weighted images had TR/TE=2000/30 ms, a FOV of 240x240, and isotropic voxels set to 3 x 3 x 3 mm³. For each participant, we acquired 10 minutes of Echo Planar Image data. The total of all the remaining images was equal to 300 volumes with 40 axial slices each.

MRI Preprocessing

Functional images were pre-processed by applying slice time and motion-correcting algorithms and removing linear trends. Data pre-processing also included smoothing with a 6 mm FWHM Gaussian kernel, bandpass filtering (0.008-0.1 Hz) and spatially normalized to standard space (MNI152). Six parameters of head motion, three related to head translation, and three associated to the head rotation (yaw, pitch, and roll), as well as cerebrospinal fluid and white matter time series, were regressed with the functional data to remove variance associated with these variables. All of these steps were performed with UF2C – User-Friendly Functional Connectivity (<http://www.lni.hc.unicamp.br/app/uf2c/>).

Seed-based analysis

In this study, we performed a seed-based analysis, placing a seed (radius = 3mm) in the PCC to identify the DMN (MNI coordinates 0, -51, 15). Specifically, for each subject, the average time-course of voxels within each seed was extracted by generating a reference time series. Each time series was then correlated with all the voxels for each subject. Subsequently, r-scores of each voxel were then transformed using Fisher's r-to-z method, so that these data could be used in parametric statistical analysis.

We, then, using atlas of functional ROIs (ventral and dorsal DMN) from FINDLAB (http://findlab.stanford.edu/functional_ROIs.html) (Shirer *et al.*, 2012), extracted numeric values of the mean connectivity counts for the DMN regions, for posterior analysis. The regions extracted were both left (L) and right (R): hippocampi, angular gyrus, superior frontal gyrus (SFG), parahippocampal gyrus (PHG), precuneus (PCu), middle occipital gyrus (MOG), middle cingulate gyrus (MCgG)

Statistical Analysis

All statistical analysis was performed using IBM *Statistical Package for the Social Sciences* version 22 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

We first tested the normal distribution of the data using Kolmogorov-Smirnov test. The chi-square test was used for categorical variables comparison, such as sex. We tested all variables at baseline point, to check if there was any different variable between the groups, so we would use the one as a covariant, however there was no difference between the groups.

In order to verify the possible difference in changes on cognitive variables and aerobic fitness between T and NT, along the 12 months, we first subtracted Time 1 from Time 2 (Delta1), Time 2 from Time 3 (Delta2), Time 1 from Time 3 (Delta3) for each

subject. The student's two-sample t test was performed on delta value of each variable to calculate group difference.

To exam a possible effect of the training on cognition, Pearson's correlations were conducted on the delta values from cognitive variables that presented significant difference between T and NT. We performed Pearson's analysis for each group separately.

MRI data

Using the connectivity data extracted previously, we also examine the difference in changes subtracting time for each subject. We performed the same statistical analysis described above. Multiple comparisons were corrected using Bonferroni pos hoc.

Results

We started with fifty-eight participants, who consented to be in the study, and were divided after the first evaluation, according to their own will, into the groups: Training (T) and No-Training (NT). Twenty-eight participants were excluded from the study: eight did not agree to collect lumbar CSF, eight participants did not present CSF biomarker for AD, five participants from T group had more than 30% of absence in the session and seven participants in NT did not complete the evaluation after intervention period. Two patients from the NT group, after 2 months of study period are classified as AD

Baseline characteristics from the thirty participants is reported in Table 01. There was no significant difference between groups at baseline. Q-square test did not show gender as an influent factor between groups.

Aerobic Fitness change

Independent t test showed a significant difference in change for VO₂ in delta Time₂-Time₁, and Time₃-Time₁, indicating a positive change in maximum oxygen consumption for T and negative change for NT (table 3). Figure 01 illustrates the groups behavior during the intervention period.

Cognition and functional activities changes

Comparisons between Deltas (change among time) yielded a significant change for Pfeiffer in Delta 1 and 3, RAVLT in Delta 3, RAVLT A7 in Delta 1 and 2 and RAVLT Rec in delta 1, indicating a better performance of T, while NT worsened

in functional and memory scales after the intervention period (**Table 3**). Figure 02 illustrates how the groups behaved during the 12 months in neuropsychological tests.

DMN connectivity change

The student two-sample t test showed NT increased connectivity with PCC in L SFG in delta 1 and L hippocampus in delta 3, while T presented higher connectivity in L MOG and L angular gyrus in delta 2; and R MCgG in delta 3. After correcting for multiple comparisons, significant difference between groups disappeared.

Correlation between changes in aerobic fitness and cognition and connectivity

We separated the groups for correlating aerobic fitness changes with cognition and connectivity changes. Person's correlation did not yield any significative relation between aerobic fitness and cognition nor connectivity change.

Discussion

We investigated the effects of a 12-month multicomponent training on DMN and cognition in a population with amnesic MCI due to AD. We hypothesized that T group would increase their connectivity after 12 months of training, compared to NT. We also hypothesized better clinical performance for T, which could be explained by the enhanced in connectivity. Indeed, 12 months of multicomponent exercise was beneficial functional activities and memory, and for cardiorespiratory fitness, however we could not explain this improvement with connectivity change. To our knowledge, our study is the first to examine the effect of aerobic exercise on cerebral and clinical characteristics of amnesic MCI with CSF biomarkers for AD (high risk to develop AD).

We observed a significant change in functional activity and cognition after 12 months of multicomponent training program. The training group showed better episodic memory (ecoding) and performance in daily functional activities after the intervention. There have been a number of longitudinal studies involving MCI that reported positive impact of physical exercise on cognition of this population (Teixeira, Gobbi, Corazza, *et al.*, 2012; Nascimento *et al.*, 2014; Porto *et al.*, 2015; Strohle *et al.*, 2015). Recent work reported that 6 months 2x/week of aerobic training (using ventilatory anaerobic threshold as minimal exercise intensity) was effective on memory, and other cognitive functions (Porto *et al.*, 2015). Likewise, a multimodal exercise-training program showed

improvement in MMSE and immediate recall after 6 months of training (Suzuki *et al.*, 2013). Although, the effect is not always/and exclusive on memory, the positive impact of physical exercise can be seen on executive function, for example (Baker *et al.*, 2010), which was not possible to see in our study. It's important to highlight that differences in results between these studies to ours could be, not only, due to the type of physical exercise program (aerobic, multicomponent, supervised or home-based), frequency, the type of MCI studied (amnestic only versus all types), but also the presence of physiopathological evidence of AD from our subjects.

Contrary to expectations, this study did not find a significant difference in DMN functional connectivity after 12 months of intervention. This result is surprising due to the evidence in the literature showing increasing functional connectivity after physical exercise training in health cognitively elders (Voss 2010, Liu Ambrose, 2012) and also MCI (Namagatsu, 2012, Chirles, 2017). Subjects with probable MCI (score <26-30 on Montreal Cognitive Assessment) were benefited from 6 months of twice-weekly resistance exercise program, on regional patterns of functional connectivity related to the memory improvement (Namagatsu, 2012). The authors showed the improvement only for the group that practiced resistance exercise, with no cognitive neither connectivity results for the aerobic group. Contrarily, another study using 12-week of aerobic training (walking) as the intervention showed better regional connectivity for MCI but not for healthy elders after intervention period (Chirles, 2017). Interesting, different from our results, this study did not show any benefit of the intervention on cognition.

We couldn't find statistical correlation between the changes in aerobic fitness, cognition and DMN functional connectivity, however, even not presenting statistical relation, our study has a population with high risk for dementia, and yet, demonstrated better performance in cognition, with could be related to better performance on daily living activity, better independence.

These unexpected and contradicted data (positive results on cognition but not on brain connectivity) must be interpreted with caution because some studies show that MCI present a higher functional connectivity when compared to health elders, indicating a compensatory mechanism in brain areas (Zhigang Qi, 2010). Therefore, it's possible that our results of decreased connectivity for the T group, and better cognitive performance, may reflect better connectivity not compensatory mechanisms.

It's important to highlight the positive impact of aerobic training on VO₂peak. Our study showed that aerobic training using an intensity based on aerobic threshold was

effective in increasing VO₂peak in elderly with aMCI due to AD. VO₂max decline rate is around 20% per decade at ages of 70 and older, demonstrating a much higher rate when compared to 3-6% rate in the 20's and 30's (Fleg *et al.*, 2005). For elders, the maintenance of independency on daily activities depends on the aerobic fitness, thus, it's important the increasing of maintenance of VO₂peak.

One interesting result we should point out is the fact that the significant differences occurred only in time1 and time3, meaning that the major changes happened in the first 6 months of intervention. However, it's possible to observe that T group maintained the performance on the neuropsychological tests on the second half of the intervention period. This could be due to the intensity of the exercise on the second half period, because we could not observe improvement on aerobic fitness in the same period. Or there may be a plateau on increasing cognitive variables. Even though we should keep in mind the progression of the disease. As mentioned before, our subjects presented the physiopathological evidence of AD, in other words, altered A β ₁₋₄₂ which means high risk to develop the dementia. Perhaps the physical exercise, by itself, can not interfere on the disease progression.

Limitations

There some limitations we should present here, like the non-randomization of the group, instead, the subjects were trained or not based on their own interest and willingness. Among its statistics disadvantages, non-probability sampling does not allow us to know how well we are representing the population. Besides that, the inclusion of a health cognitive aging group, could enrich the discussion about our contradictory results.

On the other hand, we tried to control and balance as much as possible other possible confounding factors between the two groups, such as incidence of hypertension, diabetes, dyslipidemia, depressive symptoms, use of medication, pathophysiological level of tau and A β ₁₋₄₂, and physical and cognitive performance.

Conclusion

It's now possible to state that 12 months of MEP was beneficial, not only for cardiorespiratory fitness, but also for memory performance and functionality of MCI due to AD, despite of absence of changes in DMN functional connectivity. Whilst this study did not confirm alterations in brain connectivity after MEP, it did partially substantiate the many benefits of physical exercise for aMCI due to AD subjects. Therefore, future

research should look into different intensities of exercise, longer durations, and also follow-ups, focusing on the mechanisms that explore fully the direction and nature of the association between physical exercise, cognition and brain for this high-risk AD development.

References

ALBERT, M. S. et al. The diagnosis of mild cognitive impairment due to Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. In: (Ed.). **Alzheimers Dement**. United States: 2011 The Alzheimer's Association, v.7, 2011. p.270-9. ISBN 1552-5279 (Electronic) 1552-5260 (Linking).

ANGEVAREN, M. et al. Physical activity and enhanced fitness to improve cognitive function in older people without known cognitive impairment. **Cochrane Database Syst Rev**, n. 2, p. CD005381, 2008. ISSN 1469-493X (Electronic)1361-6137 (Linking). Available at: < <http://dx.doi.org/10.1002/14651858.CD005381.pub2> >.

ANTICEVIC, A. et al. The role of default network deactivation in cognition and disease. **Trends Cogn Sci**, v. 16, n. 12, p. 584-92, Dec 2012. ISSN 1364-6613. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.tics.2012.10.008> >.

BAKER, L. D. et al. Effects of aerobic exercise on mild cognitive impairment: a controlled trial. **Arch Neurol**, v. 67, n. 1, p. 71-9, Jan 2010. ISSN 0003-9942.

BALLARD, C.; O'BRIEN, J. Treating behavioural and psychological signs in Alzheimer's disease. **Bmj**, v. 319, n. 7203, p. 138-9, Jul 17 1999. ISSN 0959-8138 (Print)0959-535x. Available at: < <http://dx.doi.org/> >.

BECK, A. T. et al. An inventory for measuring depression. **Arch Gen Psychiatry**, v. 4, p. 561-71, Jun 1961. ISSN 0003-990X (Print)0003-990x. Available at: < <http://dx.doi.org/> >.

BUCKNER, R. L. et al. Cortical hubs revealed by intrinsic functional connectivity: mapping, assessment of stability, and relation to Alzheimer's disease. **J Neurosci**, v. 29, n. 6, p. 1860-73, Feb 11 2009. ISSN 0270-6474. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1523/jneurosci.5062-08.2009> >.

CASSILHAS, R. C. et al. Spatial memory is improved by aerobic and resistance exercise through divergent molecular mechanisms. **Neuroscience**, v. 202, p. 309-17, Jan 27 2012. ISSN 0306-4522.

_____. The impact of resistance exercise on the cognitive function of the elderly. **Med Sci Sports Exerc**, v. 39, n. 8, p. 1401-7, Aug 2007. ISSN 0195-9131 (Print) 0195-9131.

COLCOMBE, S. J. et al. Aerobic exercise training increases brain volume in aging humans. In: (Ed.). **J Gerontol A Biol Sci Med Sci**. United States, v.61, 2006. p.1166-70. ISBN 1079-5006 (Print)1079-5006 (Linking).

_____. Cardiovascular fitness, cortical plasticity, and aging. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 101, n. 9, p. 3316-21, Mar 02 2004. ISSN 0027-8424 (Print)

0027-8424.

CRAIG, C. L. et al. International physical activity questionnaire: 12-country reliability and validity. **Med Sci Sports Exerc**, v. 35, n. 8, p. 1381-95, Aug 2003. ISSN 0195-9131 (Print)0195-9131. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1249/01.mss.0000078924.61453.fb> >.

DAVENPORT, M. H. et al. Cerebrovascular reserve: the link between fitness and cognitive function? **Exerc Sport Sci Rev**, v. 40, n. 3, p. 153-8, Jul 2012. ISSN 0091-6331. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1097/JES.0b013e3182553430> >.

DAVIGLUS, M. L. et al. NIH state-of-the-science conference statement: Preventing Alzheimer's disease and cognitive decline. **NIH Consens State Sci Statements**, v. 27, n. 4, p. 1-30, Apr 28 2010. ISSN 1553-0779. Available at: < <http://dx.doi.org/> >.

DINIZ, B. S.; PINTO JUNIOR, J. A.; FORLENZA, O. V. Do CSF total tau, phosphorylated tau, and beta-amyloid 42 help to predict progression of mild cognitive impairment to Alzheimer's disease? A systematic review and meta-analysis of the literature. **World J Biol Psychiatry**, v. 9, n. 3, p. 172-82, 2007. ISSN 1562-2975 (Print)1562-2975. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1080/15622970701535502> >.

DRZEZGA, A. et al. Neuronal dysfunction and disconnection of cortical hubs in non-demented subjects with elevated amyloid burden. **Brain**, v. 134, n. Pt 6, p. 1635-46, Jun 2011. ISSN 0006-8950. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1093/brain/awr066> >.

EADIE, B. D.; REDILA, V. A.; CHRISTIE, B. R. Voluntary exercise alters the cytoarchitecture of the adult dentate gyrus by increasing cellular proliferation, dendritic complexity, and spine density. **J Comp Neurol**, v. 486, n. 1, p. 39-47, May 23 2005. ISSN 0021-9967. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1002/cne.20493> >.

ERICKSON, K. I. et al. Aerobic fitness is associated with hippocampal volume in elderly humans. **Hippocampus**, v. 19, n. 10, p. 1030-9, Oct 2009. ISSN 1050-9631. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1002/hipo.20547> >.

_____. Exercise training increases size of hippocampus and improves memory. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 108, n. 7, p. 3017-22, Feb 15 2011. ISSN 0027-8424.

ETNIER, J. L. et al. A meta-regression to examine the relationship between aerobic fitness and cognitive performance. **Brain Res Rev**, v. 52, n. 1, p. 119-30, Aug 30 2006. ISSN 0165-0173 (Print)0165-0173. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.brainresrev.2006.01.002> >.

EYLER, L. T. et al. A review of functional brain imaging correlates of successful cognitive aging. **Biol Psychiatry**, v. 70, n. 2, p. 115-22, Jul 15 2011. ISSN 0006-3223. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.biopsych.2010.12.032> >.

FAZEKAS, F. et al. MRI signal abnormalities at 1.5 T in Alzheimer's dementia and normal aging. **AJNR Am J Neuroradiol**, v. 421-426, p. 421-6, 1987.

FLEG, J. L. et al. Accelerated longitudinal decline of aerobic capacity in healthy older adults. **Circulation**, v. 112, n. 5, p. 674-82, Aug 02 2005. ISSN 0009-7322.

FOLSTEIN, M. F.; FOLSTEIN, S. E.; MCHUGH, P. R. "Mini-mental state". A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. In: (Ed.). **J Psychiatr Res**. England, v.12, 1975. p.189-98. ISBN 0022-3956 (Print) 0022-3956 (Linking).

FORLENZA, O. V. et al. Clinical and biological predictors of Alzheimer's disease in patients with amnesic mild cognitive impairment. **Rev Bras Psiquiatr**, v. 32, n. 3, p. 216-22, Sep 2010. ISSN 1516-4446 (Print)1516-4446. Available at: < <http://dx.doi.org/> >.

_____. Cerebrospinal fluid biomarkers in Alzheimer's disease: Diagnostic accuracy and prediction of dementia. **Alzheimers Dement (Amst)**, v. 1, n. 4, p. 455-63, Dec 2016. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.dadm.2015.09.003> >.

GHOSH, A. K. Anaerobic threshold: its concept and role in endurance sport. **Malays J Med Sci**, v. 11, n. 1, p. 24-36, Jan 2004. ISSN 1394-195X (Print)1394-195x. Available at: < <http://dx.doi.org/> >.

GREBLO JURAKIC, Z. et al. Effects of feedback-based balance and core resistance training vs. Pilates training on cognitive functions in older women with mild cognitive impairment: a pilot randomized controlled trial. **Aging Clin Exp Res**, Mar 01 2017. ISSN 1594-0667.

GREICIUS, M. Resting-state functional connectivity in neuropsychiatric disorders. **Curr Opin Neurol**, v. 21, n. 4, p. 424-30, Aug 2008. ISSN 1350-7540 (Print)1350-7540. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1097/WCO.0b013e328306f2c5> >.

GUILLAUME, B. et al. Fast and accurate modelling of longitudinal and repeated measures neuroimaging data. **Neuroimage**, v. 94, p. 287-302, Jul 1 2014. ISSN 1053-8119. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroimage.2014.03.029> >.

HACHINSKI, V. et al. National Institute of Neurological Disorders and Stroke-Canadian Stroke Network. **Stroke**, v. 37, n. 9, p. 2220-41, Sep 2006. ISSN 1524-4628 (Electronic) 0039-2499 (Linking).

HEDDEN, T. et al. Disruption of functional connectivity in clinically normal older adults harboring amyloid burden. **J Neurosci**, v. 29, n. 40, p. 12686-94, Oct 7 2009. ISSN 0270-6474. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1523/jneurosci.3189-09.2009> >.

HILLARY, F. G. et al. Hyperconnectivity is a fundamental response to neurological disruption. **Neuropsychology**, v. 29, n. 1, p. 59-75, Jan 2015. ISSN 0894-4105. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1037/neu0000110> >.

HONJO, K.; BLACK, S. E.; VERHOEFF, N. P. Alzheimer's disease, cerebrovascular disease, and the beta-amyloid cascade. **Can J Neurol Sci**, v. 39, n. 6, p. 712-28, Nov 2012. ISSN 0317-1671 (Print)0317-1671. Available at: < <http://dx.doi.org/> >.

LAIRD, A. R. et al. Investigating the functional heterogeneity of the default mode network using coordinate-based meta-analytic modeling. **J Neurosci**, v. 29, n. 46, p. 14496-505, Nov 18 2009. ISSN 0270-6474. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1523/jneurosci.4004-09.2009> >.

LESSMAN, V.; BRIGADSKI, T. Mechanisms, locations, and kinetics of synaptic BDNF secretion: An update. **Neuroscience Research**, v. 65, n. 1, p. 11-22, September 2009 2009. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.neures.2009.06.004> >.

LI, M. Y. et al. The effects of aerobic exercise on the structure and function of DMN-related brain regions: a systematic review. **Int J Neurosci**, v. 127, n. 7, p. 634-649, Jul 2017. ISSN 0020-7454. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1080/00207454.2016.1212855> >.

LI, W. et al. Changes in regional cerebral blood flow and functional connectivity in the cholinergic pathway associated with cognitive performance in subjects with mild Alzheimer's disease after 12-week donepezil treatment. **Neuroimage**, v. 60, n. 2, p. 1083-91, Apr 2 2012. ISSN 1053-8119. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroimage.2011.12.077> >.

LIU-AMBROSE, T. et al. Resistance training and executive functions: a 12-month randomized controlled trial. **Arch Intern Med**, v. 170, n. 2, p. 170-8, Jan 25 2010. ISSN 0003-9926.

_____. Resistance training and functional plasticity of the aging brain: a 12-month randomized controlled trial. **Neurobiol Aging**, v. 33, n. 8, p. 1690-8, Aug 2012. ISSN 0197-4580.

MAASS, A. et al. Vascular hippocampal plasticity after aerobic exercise in older adults. **Mol Psychiatry**, v. 20, n. 5, p. 585-93, May 2014. ISSN 1359-4184. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1038/mp.2014.114> >.

MAGAKI, S. et al. Increased production of inflammatory cytokines in mild cognitive impairment. **Exp Gerontol**, v. 42, n. 3, p. 233-40, Mar 2007. ISSN 0531-5565 (Print)0531-5565. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.exger.2006.09.015> >.

MALLOY-DINIZ, L. F. et al. The Rey Auditory-Verbal Learning Test: applicability for the Brazilian elderly. **Rev Bras Psiquiatr**, v. 29, n. 4, p. 324-9, Dec 2007. ISSN 1516-4446 (Print) 1516-4446 (Linking).

MIDDLETON, L. E. et al. Physical activity in the prevention of ischemic stroke and improvement of outcomes: a narrative review. **Neurosci Biobehav Rev**, v. 37, n. 2, p. 133-7, Feb 2012. ISSN 0149-7634. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.neubiorev.2012.11.011> >.

MORRIS, J. C. The Clinical Dementia Rating (CDR): current version and scoring rules. **Neurology**, v. 43, n. 11, p. 2412-4, Nov 1993. ISSN 0028-3878 (Print)0028-3878. Available at: < <http://dx.doi.org/> >.

NAGAMATSU, L. S. et al. Physical activity improves verbal and spatial memory in older adults with probable mild cognitive impairment: a 6-month randomized controlled trial. **J Aging Res**, v. 2013, p. 861893, 2013. ISSN 2090-2204 (Print) 2090-2204.

_____. Resistance training promotes cognitive and functional brain plasticity in seniors with probable mild cognitive impairment. **Arch Intern Med**, v. 172, n. 8, p. 666-8, Apr 23 2012. ISSN 0003-9926.

NASCIMENTO, C. M. et al. Physical exercise in MCI elderly promotes reduction of pro-inflammatory cytokines and improvements on cognition and BDNF peripheral levels. **Curr Alzheimer Res**, v. 11, n. 8, p. 799-805, 2014. ISSN 1567-2050.

PATERSON, D. H. et al. Longitudinal study of determinants of dependence in an elderly population. **J Am Geriatr Soc**, v. 52, n. 10, p. 1632-8, Oct 2004. ISSN 0002-8614 (Print) 0002-8614.

PETERSEN, R. C.; MORRIS, J. C. Mild cognitive impairment as a clinical entity and treatment target. **Arch Neurol**, v. 62, n. 7, p. 1160-3; discussion 1167, Jul 2005. ISSN 0003-9942 (Print)0003-9942. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1001/archneur.62.7.1160> >.

PETERSEN, R. C. et al. Neuropathologic features of amnesic mild cognitive impairment. **Arch Neurol**, v. 63, n. 5, p. 665-72, May 2006. ISSN 0003-9942 (Print)0003-9942. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1001/archneur.63.5.665> >.

_____. Mild cognitive impairment: ten years later. **Arch Neurol**, v. 66, n. 12, p. 1447-55, Dec 2009. ISSN 0003-9942. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1001/archneurol.2009.266> >.

PORTO, F. H. et al. Effects of Aerobic Training on Cognition and Brain Glucose Metabolism in Subjects with Mild Cognitive Impairment. **J Alzheimers Dis**, v. 46, n. 3, p. 747-60, 2015. ISSN 1387-2877.

REUTER-LORENZ, P. A.; PARK, D. C. How does it STAC up? Revisiting the scaffolding theory of aging and cognition. **Neuropsychol Rev**, v. 24, n. 3, p. 355-70, Sep 2014. ISSN 1040-7308. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1007/s11065-014-9270-9> >.

SALEEM, M. et al. Inflammatory Markers in Mild Cognitive Impairment: A Meta-Analysis. **J Alzheimers Dis**, v. 47, n. 3, p. 669-79, Aug 3 2015. ISSN 1387-2877. Available at: < <http://dx.doi.org/10.3233/jad-150042> >.

SHIRER, W. R. et al. Decoding subject-driven cognitive states with whole-brain connectivity patterns. **Cereb Cortex**, v. 22, n. 1, p. 158-65, Jan 2012. ISSN 1047-3211. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1093/cercor/bhr099> >.

SMITH, A. E. et al. The influence of a single bout of aerobic exercise on short-interval intracortical excitability. **Exp Brain Res**, v. 232, n. 6, p. 1875-82, Jun 2014. ISSN 0014-4819. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1007/s00221-014-3879-z> >.

STROHLE, A. et al. Drug and Exercise Treatment of Alzheimer Disease and Mild Cognitive Impairment: A Systematic Review and Meta-Analysis of Effects on Cognition in Randomized Controlled Trials. **Am J Geriatr Psychiatry**, v. 23, n. 12, p. 1234-49, Dec 2015. ISSN 1064-7481.

SUZUKI, T. et al. A randomized controlled trial of multicomponent exercise in older adults with mild cognitive impairment. **PLoS One**, v. 8, n. 4, p. e61483, 2013. ISSN 1932-6203.

_____. Effects of multicomponent exercise on cognitive function in older adults with amnesic mild cognitive impairment: a randomized controlled trial. **BMC Neurol**, v. 12, p. 128, Oct 31 2012. ISSN 1471-2377. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2377-12-128> >.

TEIXEIRA, C. V. et al. Non-pharmacological interventions on cognitive functions in older people with mild cognitive impairment (MCI). **Arch Gerontol Geriatr**, v. 54, n. 1, p. 175-80, Jan-Feb 2012. ISSN 0167-4943.

_____. Effects of square-stepping exercise on cognitive functions of older people. **Psychogeriatrics**, v. 13, n. 3, p. 148-56, Sep 2013. ISSN 1346-3500.

TEN BRINKE, L. F. et al. Aerobic exercise increases hippocampal volume in older women with probable mild cognitive impairment: a 6-month randomised controlled trial. **Br J Sports Med**, v. 49, n. 4, p. 248-54, Feb 2015. ISSN 0306-3674.

TROLLOR, J. N. et al. The association between systemic inflammation and cognitive performance in the elderly: the Sydney Memory and Ageing Study. **Age (Dordr)**, v. 34, n. 5, p. 1295-308, Oct 2012. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1007/s11357-011-9301-x> >.

VOELCKER-REHAGE, C.; NIEMANN, C. Structural and functional brain changes related to different types of physical activity across the life span. **Neurosci Biobehav Rev**, v. 37, n. 9 Pt B, p. 2268-95, Nov 2013. ISSN 0149-7634. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.neubiorev.2013.01.028> >.

VOSS, M. W. et al. Plasticity of brain networks in a randomized intervention trial of exercise training in older adults. **Front Aging Neurosci**, v. 2, 2010. ISSN 1663-4365. Available at: < <http://dx.doi.org/10.3389/fnagi.2010.00032> >.

WHO. World Health Organization, Alzheimer's International Disease. Dementia: a public health priority. **WHO**, 2016-07-01 12:29:33 2012. Available at: < http://www.who.int/mental_health/publications/dementia_report_2012/en/ >.

WILLIAM D. MCARDLE, F. I. K. V. L. K. L. **Exercise Physiology: Nutrition, Energy, and Human Performance**. Lippincott Williams & Wilkins, 1996. Available at: < https://books.google.com/books/about/Exercise_Physiology.html?hl=pt-BR&id=XOyjZX0Wxw4C >.

WINBLAD, B. et al. Mild cognitive impairment--beyond controversies, towards a consensus: report of the International Working Group on Mild Cognitive Impairment. **J Intern Med**, v. 256, n. 3, p. 240-6, Sep 2004. ISSN 0954-6820 (Print)0954-6820. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2796.2004.01380.x> >.

YAMASAKI, T. et al. Understanding the Pathophysiology of Alzheimer's Disease and Mild Cognitive Impairment: A Mini Review on fMRI and ERP Studies. **Neurol Res Int**, v. 2012, p. 719056, 2012. ISSN 2090-1860. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1155/2012/719056> >.

ZHANG, H. Y. et al. Detection of PCC functional connectivity characteristics in resting-state fMRI in mild Alzheimer's disease. **Behav Brain Res**, v. 197, n. 1, p. 103-8, Jan 30 2009. ISSN 0166-4328. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbr.2008.08.012> >.

Table 1. Stereotaxic coordinates from Roi mask extracted from DMN regions.

Region	Stereotaxic coordinates (mm)		
	X	Y	Z
L hippocampus	34	48	32
R hippocampus	59	54	28
L Angular gyrus	22	30	55
R Angular gyrus	71	32	54
L superior frontal gyrus	34	70	65
R superior frontal gyrus	56	83	61
L parahippocampal gyrus	32	46	29
R parahippocampal gyrus	32	46	29
L precuneus	40	35	45
R precuneus	46	37	50
L middle occipital gyrus	28	23	54
R middle occipital gyrus	68	27	53
L middle cingulate gyrus			
R middle cingulate gyrus	47	57	55

Note: L= left; R= right. Cluster size <30 voxels.

Table 2. Baseline characteristics comparison between training (T) and non-training groups (NT).

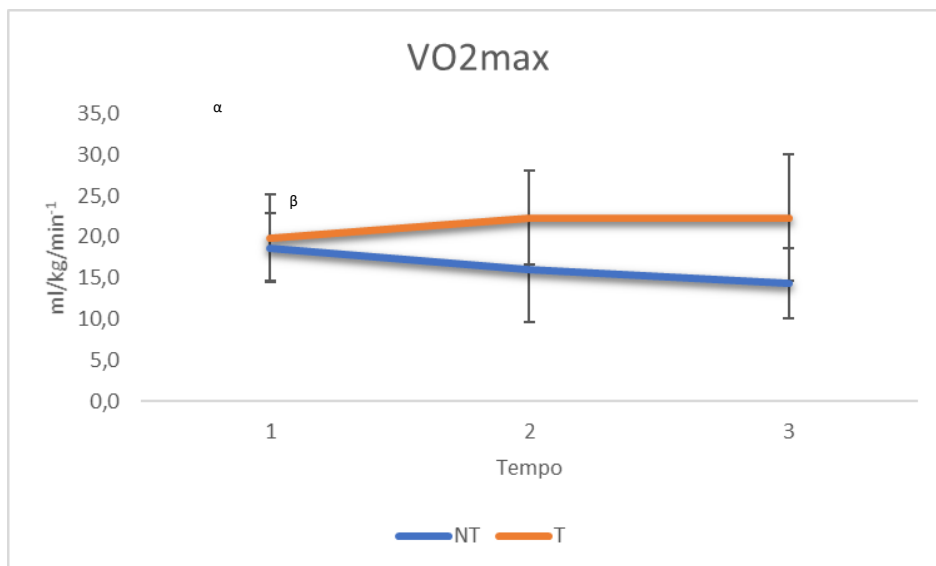
	T (15)	NT (15)	p
Gender (% female)	60%	61%	0.19
Age (years)	69.3 (5.9)	70.6 (5.4)	.54
Education (years)	8.2 (5.9)	8 (4.8)	.52
Body mass index	26.8(3.9)	28.7(3.1)	.22
Medicine for, n (%)			
Hypertension	4 (26.6)	5 (33.3)	0.23
Diabetes	2 (13.3)	2 (13.3)	0.63
Dyslipidemia	3 (20)	1 (6)	0.55
Depressive symptoms	6 (40)	3 (20)	0.69
Anticholinergics	2 (13.3)	3 (20)	0.72
Cognitive performance			
PFS score	1.8(2.2)	1.6(2.4)	.93
MMSE score	26.3(2)	25.9 (2.1)	.60
RAVLT score	29.3 (8.3)	36.3(15.9)	.15
RAVLT A7	3.8 (2.9)	5.1 (2.6)	.23
RAVLT Rec	5.1 (6.6)	9.4 (4.8)	.06
Clock Drawing	7.6 (2.2)	8.3 (1.9)	.38
BDI	6.0 (6.5)	6.3 (6.5)	.91
CSF biomarkers			
A β_{1-42} (pg/mL)	373.9 (195.5)	306.44 (150.5)	.45
Total tau (pg/mL)	90.6 (60.7)	55.0 (43.7)	.09
p-tau (pg/mL)	40.25 (22.320.3)	36.6 (25,3)	.71
Physical performance			
VO2max (ml/kg/min ⁻¹)	19.9(5.3)	18.7(4.1)	.67

Notes: Data presented as average (standard deviation). PFS: Pfeffer functional Scale; MMSE: mini-mental status examination; RAVLT encoding: encoding of Rey auditory verbal learning test; BDI: Beck Depressive Inventory; CSF: cerebral spinal fluid; A β_{1-42} : amyloid-beta; Total tau: total tau protein; p-tau: tau phosphorylated; IPAQ: International Physical Activity Questionnaire; Mets: metabolic equivalent of task; VO2max: maximum oxygen intake. P>0.05

Table 2. Effects of intervention in aerobic fitness, neuropsychological tests and functional activity in training (T) and non-training (NT) groups.

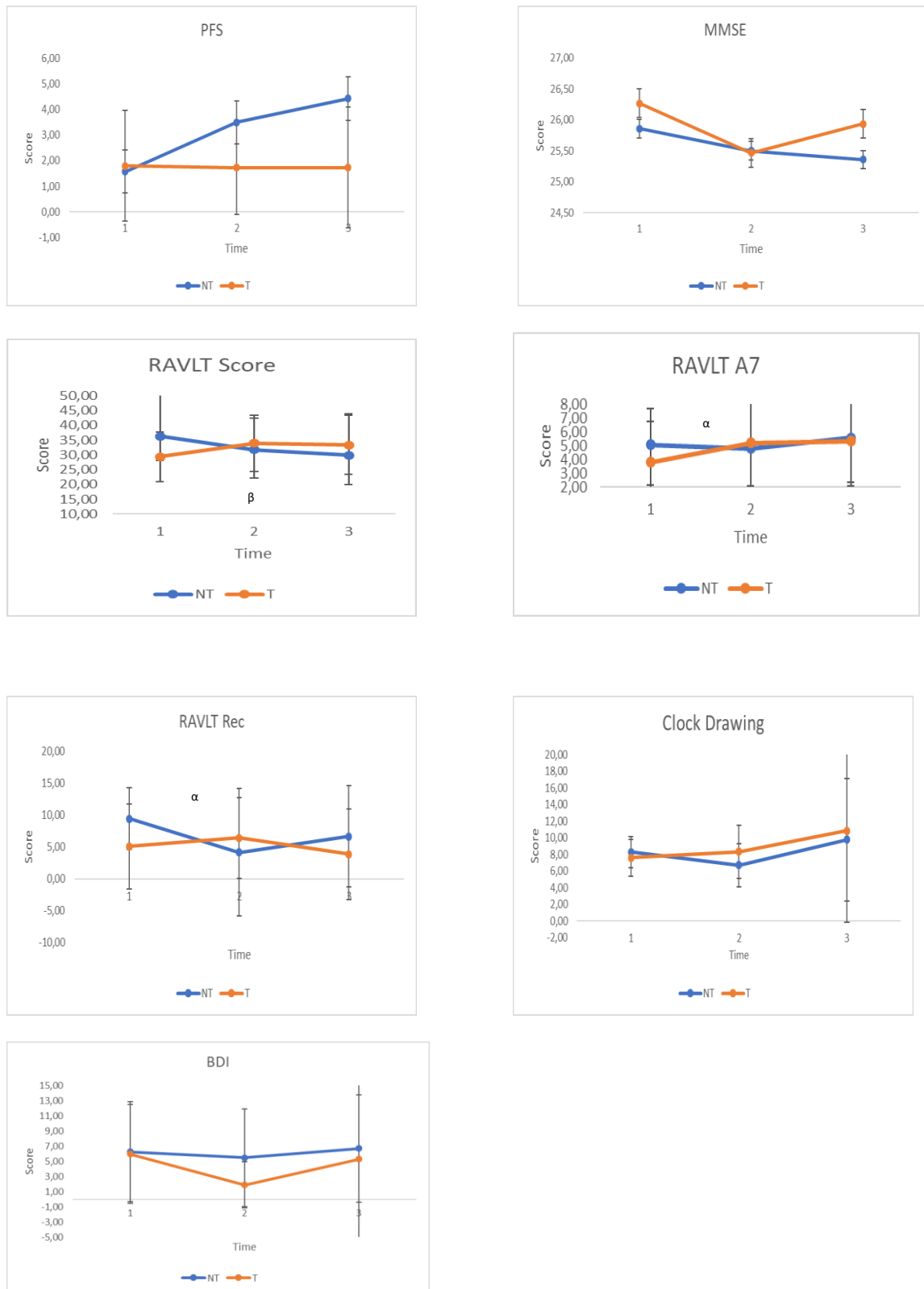
	T (15)			NT (15)			Delta 1		Delta 2		Delta 3	
	Time 1	Time 2	Time 3	Time 1	Time 2	Time 3	t	P value	t	P value	t	P value
VO _{2max}	19.9(5.3)	22.3 (5.7)	22.3 (7.7)	18.7(4.1)	16.0 (6.5)	14.35 (4.3)	-3.1	.005	-0.81	.42	-2.9	.007
PFS	1.8(2.2)	1.7 (1.8)	1.7 (2.4)	1.6(2.4)	3.5 (2.8)	4.4 (6)	2.9	.006	0.61	.54	2.2	.037
MMSE	26.3 (2)	25.5 (1.6)	25.9 (2.4)	25.9 (2.1)	25.5 (2.7)	25.4 (4.3)	0.45	.657	-0.65	.52	-0.11	.91
RAVLT	29.3 (8.3)	33.9 (9.5)	33.3 (9.9)	36.3 (15.9)	31.7 (10.6)	29.8 (14)	-1.8	.077	-0.46	.65	-2.1	.045
RAVLT A7	3.8 (2.9)	5.2 (3.1)	5.3 (3.2)	5.1 (2.6)	4.8 (3.8)	5.6 (3.6)	-2.2	.033	0.71	.48	-1.02	.31
RAVLT Rec	5.1 (6.6)	6.4 (6.3)	3.9 (7.1)	9.4 (4.8)	4.1 (9.9)	6.6 (7.9)	-2.3	.031	1.8	.08	-0.71	.48
Clock Drawing	7.6 (2.2)	8.3 (3.2)	10.9 (11)	8.3 (1.9)	6.7 (2.6)	9.8 (7.3)	-1.8	.08	0.16	.54	-0.52	.61
BDI	6.0 (6.5)	5.9 (3)	5.3 (14.6)	6.3 (6.5)	6.7 (2.6)	6.7 (7)	1.3	.19	-0.57	.57	0.40	.80

Notes: Data presented as average ± standard deviation. PFS: Pfeiffer functional Scale; MMSE: mini-mental status examination; RAVLT: reading: encoding of Rey auditory verbal learning test; RAVLT A7: delayed recall of Rey auditory verbal learning test; RAVLT Rec: Rey auditory verbal learning test true recognition (i.e., recognition minus false positives). P<0.05



Note: α : significant difference between groups in delta 01; β : significant difference between groups in delta 3; $p < 0,05$.

Figure 01. T and NT groups performance on aerobic fitness.



Note: α : significant difference between groups in delta 01; β : significant difference between groups in delta 3; $p < 0.05$.

Figure 02. T and NT groups performance on neuropsychological tests and aerobic fitness

5. DISCUSSÃO GERAL E CONCLUSÕES

A prática de exercício físico vem sendo estudada e utilizada como ferramenta não farmacológica tanto na prevenção como no tratamento de doenças. Entretanto, os aspectos fisiológicos que permeiam os benefícios da prática do exercício físico ainda precisam ser mais bem estudados. Há um consenso da comunidade científica de que a prática de exercício físico oferece benefícios a diferentes tipos de populações, seja pelo seu efeito no controle da obesidade, colesterol, pressão arterial, glicemia, ou até mesmo pelo seu efeito no humor e sentimento de auto-eficácia de seus praticantes. No entanto estudos focando o resultado do exercício físico em populações específicas são, também, importantes.

CCLa com evidência fisiopatológica da DA, uma população tão específica, parece também se beneficiar da prática de exercícios. Mostramos aqui que o nível de condicionamento aeróbio tem relação positiva com áreas corticais frontais e tratos que conectam os lobos frontal, temporal e parietal. Mostramos que quanto maior for o condicionamento cardiovascular do sujeito com CCLa e evidência fisiopatológica da DA, melhor preservada será áreas corticais frontais e mais íntegros estarão os tratos. Estudos com idosos cognitivamente saudáveis mostram uma relação positiva entre condicionamento físico e fluxo sanguíneo, o que, por sua vez, está relacionado com medidas regionais do volume cerebral (Zimmerman *et al.*, 2014). Além disso, essa relação positiva se estende para a integridade da substância branca em idosos cognitivamente saudáveis (Marks *et al.*, 2007; Johnson *et al.*, 2012; Tseng *et al.*, 2013).

Essa relação positiva do condicionamento cardiovascular com áreas frontais não nos causa surpresa, pois estudos anteriores, com intervenção, já haviam mostrado que existe uma influência positiva do exercício físico com as funções executivas (Colcombe and Kramer, 2003; Alvarez and Emory, 2006). A memória e funções executivas, de fato, são os primeiros domínios cognitivos afetados pelo envelhecimento, pois há uma atrofia em córtex pré-frontal e hipocampo de 1-2% ao ano após a idade de 55 anos (Olsson *et al.*, 2005). Portanto é possível observar o benefício da prática de exercício físico durante o envelhecimento.

Assim, após observarmos essa relação positiva e pensando no que a literatura diz sobre a atrofia hipocampal e do córtex pré-frontal, descrita no parágrafo anterior, nosso

intuito, no segundo estudo, foi avaliar se o exercício teria efeito positivo no volume cortical e de hipocampo desses idosos. E pudemos comprovar a eficácia do MEP no volume de hipocampo direito e esquerdo após 6 meses de treinamento. Estudos anteriores mostraram o efeito positivo do exercício físico no volume cerebral de idosos com CCL. Um estudo recente, por exemplo, comparou o efeito de 6 meses de exercício aeróbio, exercício resistido e de alongamento em idosos com provável comprometimento cognitivo leve. Os autores mostraram que o grupo que participou do grupo aeróbio teve aumento significativo no volume de hipocampo total, quando comparado ao grupo de alongamento (Ten Brinke *et al.*, 2015). Esse resultado corrobora o do nosso segundo estudo, no entanto, nossos resultados apresentaram maior grandeza de aumento. Enquanto no estudo citado o aumento foi de 2,5% para o hipocampo esquerdo e 4% para o direito, no nosso o aumento foi de 8,72% e 9,18% respectivamente. Essa diferença pode ter sido causada pela diferença no treinamento (no estudo citado era exercício aeróbios, enquanto o nosso treinamento foi MEP), intensidade do mesmo, ou ainda pela diferença na população, que apesar de serem CCL, ou provável, nosso grupo apresenta fisiopatologia da doença, o que pode causar maior atrofia no hipocampo.

Esperávamos observar, também, aumento da espessura cortical, principalmente áreas frontais, no entanto isso não ocorreu após a correção do resultado para múltiplas comparações. Reiter e cols (Reiter *et al.*, 2015) também não observaram diferença significativa de espessura cortical em idosos com CCL após 12 semanas de exercício de caminhada, e ainda observou atrofia significativa no córtex entorrinal nesses pacientes. Estudo recente comparou a espessura cortical de adultos jovens e idosos, e os idosos foram subdivididos em alto e baixo condicionamento aeróbio. Os resultados mostraram que existe uma relação entre condicionamento aeróbio e várias áreas corticais, dentre elas várias estão associadas à áreas que sofrem atrofia com o envelhecimento. Então apesar dessa relação ser importante de quanto maior o condicionamento aeróbio, mais preservada estará a área cortical, essa variável, o condicionamento aeróbio, não consegue evitar a atrofia nessas áreas (Williams *et al.*, 2017).

Outro aspecto importante observado no primeiro artigo foi a relação positiva do condicionamento aeróbio na integridade de vários tratos. Alterações nos axônios, como comprometimento no transporte e dilatação axonal, tem relação com estágios leve de DA tanto em modelo animal quanto em humanos (Stokin *et al.*, 2005), e foi associada com o desenvolvimento de placas amiloide e p-tau em cérebros de pacientes com DDA (Xiao *et*

al., 2011). Sendo assim, no terceiro artigo, procuramos analisar o efeito do MEP na conectividade funcional da DMN, para verificar se essa relação observada no primeiro artigo se estenderia à conectividade funcional. Esperávamos observar um aumento na conectividade após 12 meses de MEP, no entanto isso não ocorreu. Alguns estudos observaram aumento da conectividade com o PCC após intervenções de exercícios físico em idosos cognitivamente saudáveis (Voss *et al.*, 2010). Estudo recente mostrou que 12 semanas de caminhada foi o suficiente para aumentar a conectividade com o PCC em RM funcional sem tarefa em idosos com CCL, mas não para idosos cognitivamente saudáveis (Chirles *et al.*, 2017). No entanto, a população estudada não apresentava evidência fisiopatológica da DA. Como dito anteriormente, DMN parece estar relacionada com a DA, pois estudos tem mostrado que além do PCC (área na DMN) estar associado com o acúmulo de placa amiloide (Buckner *et al.*, 2005), há uma redução na conectividade com o PCC em CCL, DA leve e idosos cognitivamente saudáveis com teste positivo para carga amiloide cerebral (Hedden *et al.*, 2009). Além disso, a literatura sobre a conectividade do PCC em “*resting-state*”, ou seja, sem engajamento em tarefa, tem mostrado que, mesmo antes do declínio cognitivo em DA, o PCC exibe aumento da conectividade com regiões frontais e parietais, regiões que começarão a mostrar a patologia da DA somente em estágios mais avançados da doença (Zhang *et al.*, 2009), e que esse aumento parece ser uma resposta compensatória associada ao dano neural (Reuter-Lorenz and Park, 2014). Assim, observando nossos resultados idosos com CCLa com fisiopatologia para DDA podem não aumentar a conectividade na DMN, nem em estado compensatório, talvez por causa do acúmulo de placa amiloide nas regiões da DMN.

Um resultado muito importante, senão o mais importante, em ambos os artigos de intervenção, foi a melhora significativa do grupo que treinou nas funções cognitivas e funcionalidade diária. Tanto o artigo 2 quanto o artigo 3 mostraram melhora em testes de memória e teste funcional. Essa melhora nesses aspectos é de grande importância, afinal uma alteração a nível cerebral não reafecta o desempenho funcional e cognitivo do paciente com CCLa. Algo que nos chama atenção também, foi o fato de que maiores mudanças só ocorreram nos primeiros 6 meses de intervenção, no segundo 6 meses não houve melhora significativa em nenhum aspecto, como observado no artigo 3. Quiçá, a intensidade do exercício não alterou, pois não observamos aumento do VO₂ pico dos 6 aos 12 meses de intervenção. A literatura tem mostrado que o condicionamento aeróbio, ou físico parece ter maior relação com a cognição, do que o nível de atividade

física (Colcombe *et al.*, 2006; Sattler *et al.*, 2011). Outro motivo pelo qual não observamos diferença nas variáveis estudadas após 12 meses de intervenção pode ser a progressão da doença. Nossos sujeitos apresentavam evidências fisiopatológicas da DA, ou seja, apresentavam alterações na concentração da proteína $A\beta_{1-42}$. Estudos recentes mostraram que essas alterações têm relação direta com o desenvolvimento da DA, e começam décadas antes do comprometimento cognitivo (Jack, Vemuri, *et al.*, 2011; Ower *et al.*, 2017). Talvez o exercício físico sozinho não consiga parar a progressão da doença. Por outro lado, estudo recente mostrou que existe diferença na concentração de $A\beta_{1-42}$ no cérebro de adultos que apresentam a mutação auto dominante de DA (essas pessoas que apresentam mutação nos genes proteína precursora de amiloide, presenilina 1 e presenilina 2, que resultam no processamento alterado da proteína beta-amiloide). Os autores mostraram que adultos essa mutação e baixo nível de exercício físico tem maior concentração de $A\beta_{1-42}$ no cérebro, quando comparados adultos com a mesma mutação mas com alto nível de exercício físico, reportado através de questionários (Brown *et al.*, 2017).

Há evidências na literatura de que o exercício físico afeta alguns mecanismos biológicos que contribuem para a melhora da função neurocognitiva como o aumento da perfusão cerebral, síntese de neurotransmissores, neurogênese vascular cerebral, e regulação de fatores neurotrófico (Colcombe *et al.*, 2006; Etnier *et al.*, 2006; Davenport *et al.*, 2012). O aumento do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) tem sido descrito como variável chave para a neuroplasticidade (Ding *et al.*, 2006; Gomez-Pinilla *et al.*, 2008) e parece estar em alta concentração no hipocampo, podendo promover a proliferação celular (Lessman and Brigadski, 2009). Além disso, a prática de exercício físico parece reduzir a concentração de citocinas pró-inflamatórias como o fator de necrose tumoral-alfa TNF- α e IL-6 (Baker *et al.*, 2010; Nascimento *et al.*, 2014), que contribuem para o processo neurodegenerativo da DA (Mcgeer and Mcgeer, 2010; Rubio-Perez and Morillas-Ruiz, 2012).

Outro aspecto importante que foi observado na pesquisa foi o impacto do treinamento no VO_2 pico. Nossa pesquisa mostrou que o MEP, com intensidade baseada nos limiares ventilatórios e ponto de compensação respiratória foi efetivo para manutenção e até aumento do condicionamento aeróbio de idosos com CCLa com fisiopatologia aumentada para DDA. Após os 70 anos de idade, a queda no VO_2 pico é de aproximadamente 20% a cada década de vida, muito maior do que aos 20 e 30 anos de

idade quando a perda é de 3-6% (Fleg *et al.*, 2005). Enquanto que para a maioria dos adultos saudáveis o VO₂ pico tem pouca importância para a vida diária, ou melhor, não é uma grande preocupação, na população idosa o declínio nessa variável tem implicação grave na performance das atividades da vida diária (Paterson *et al.*, 2004). Assim, o aumento e até a manutenção do condicionamento aeróbio significa, para a população idosa prevenir ou postergar a dependência nas atividades diárias, reduzindo problemas de mobilidade e mortalidade.

Nosso estudo apresentou uma limitação significativa que foi a não randomização dos sujeitos. Nós dividimos os grupos de acordo com a vontade deles em participar do MEP ou não. Além da desvantagem estatística, a amostra não randomizada não nos permite saber se estamos realmente representando a população, e há a dificuldade em estimar a variabilidade da amostra e identificar possíveis vieses. Assim não podemos ter a certeza em dizer que as alterações mostradas nessa pesquisa são exclusivas da intervenção, ou se são consequências de outros fatores relacionados à vontade das pessoas em participarem de um treinamento. No entanto, tentamos controlar e equilibrar o máximo possível de outros fatores confundidores entre os dois grupos, como a incidência de hipertensão, diabetes, dislipidemia, sintomas depressivos uso de medicação, além do nível fisiopatológico da proteína t-tau e A β ₁₋₄₂, e performance física e cognitiva.

Acreditamos ser importante falar sobre o programa de treinamento selecionado para que o mesmo possa ser reproduzido, e até melhorado. Como descrito nos métodos, nosso intuito no começo da pesquisa era manter, durante os 12 meses, como principal exercício do treinamento a caminhada ou corrida. No entanto sentimos a necessidade de mudar nossa programação de treino, pois os próprios idosos estavam pedindo atividades diferentes. Assim, buscamos na literatura elementos que nos ajudassem diversificar os exercícios, sem perder o objetivo de melhorar a cognição e parâmetros cerebrais. Baseados nas recomendações do ACSM e outros estudos, observamos que a diversificação dos exercícios, ou seja, utilizar exercícios que estimulem não apenas o condicionamento cardiovascular mas também as outras capacidades físicas, poderia ter um impacto positivo não apenas nas funções cognitivas (Colcombe and Kramer, 2003; Cassilhas *et al.*, 2007; Liu-Ambrose *et al.*, 2010; Greblo Jurakic *et al.*, 2017) e parâmetros cerebrais (Liu-Ambrose *et al.*, 2012; Nagamatsu *et al.*, 2012; Liu *et al.*, 2013; Ten Brinke *et al.*, 2015), mas também em força muscular, agilidade, equilíbrio, flexibilidade (Teixeira, Gobbi, Pereira, *et al.*, 2012; Ueno *et al.*, 2012), capacidades físicas tão

importantes, que declinam com o envelhecimento, e aumentam o risco de dependência na vida diária(Lopez *et al.*, 2017; Rodriguez-Larrad *et al.*, 2017).

Um dos consensos publicados pelo NIH – Instituto Nacional de Saúde concluiu que enquanto não há evidencia conclusiva de fatores modificáveis associados redução do risco de desenvolver DDA, intervenções com exercício físico parecem apresentar resultados promissores (Daviglius *et al.*, 2010). A fase pré-clínica da DDA oferece uma oportunidade para possíveis intervenções que tentem mudar a trajetória do declínio cognitivo e perda da independência, características que ocorrem em pacientes com DDA. Além disso, intervenções terapêuticas aplicadas precocemente podem ser mais eficazes em modificar o curso da doença. A maioria dos estudos presentes na literatura, no entanto, apresentam uma grande variabilidade na caracterização do CCL, o qual em sua grande proporção não converterá para demência e irá manter sua cognição estável por anos. Incluindo somente CCLa com evidência fisiopatológica para DDA aumenta a chance de que nossos sujeitos sejam realmente prodômicos para DDA.

Assim, podemos concluir que o condicionamento aeróbio tem relação positiva com córtex frontal, e tratos da substância branca que conectam áreas frontais, parietais e temporais. Além disso, o treinamento MEP não apenas contribuiu para a melhora cardiorrespiratória, performance na memória e funcionalidade, mas também teve influência benéfica no volume de hipocampo. Destacando os muitos benefícios da prática de exercício físico para sujeitos com CCLa, pesquisas futuras deveriam observar o efeito de diferentes intensidades, longas durações, e follow-ups, procurando os mecanismos que exploram completamente a direção e a natureza da associação entre exercício físico, a cognição e o cérebro.

6.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

2013 Alzheimer's disease facts and figures. **Alzheimer's & Dementia**, v. 9, n. 2, p. 208-245, 2013/03/01/ 2013. ISSN 1552-5260. Available at: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1552526013000769> >.

ALBERT, M. S. et al. The diagnosis of mild cognitive impairment due to Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. In: (Ed.). **Alzheimers Dement**. United States: 2011 The Alzheimer's Association, v.7, 2011. p.270-9. ISBN 1552-5279 (Electronic)

1552-5260 (Linking).

ALVAREZ, J. A.; EMORY, E. Executive function and the frontal lobes: a meta-analytic review. **Neuropsychol Rev**, v. 16, n. 1, p. 17-42, Mar 2006. ISSN 1040-7308 (Print)1040-7308 (Linking). Available at: < <http://dx.doi.org/10.1007/s11065-006-9002-x> >.

American College of Sports Medicine Position Stand. Exercise and physical activity for older adults. **Med Sci Sports Exerc**, v. 30, n. 6, p. 992-1008, Jun 1998. ISSN 0195-9131 (Print)0195-9131. Available at: < <http://dx.doi.org/> >.

ANGEVAREN, M. et al. Physical activity and enhanced fitness to improve cognitive function in older people without known cognitive impairment. **Cochrane Database Syst Rev**, n. 2, p. CD005381, 2008. ISSN 1469-493X (Electronic)1361-6137 (Linking). Available at: < <http://dx.doi.org/10.1002/14651858.CD005381.pub2> >.

ANTICEVIC, A. et al. The role of default network deactivation in cognition and disease. **Trends Cogn Sci**, v. 16, n. 12, p. 584-92, Dec 2012. ISSN 1364-6613. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.tics.2012.10.008> >.

APOSTOLOVA, L. G. et al. Hippocampal atrophy and ventricular enlargement in normal aging, mild cognitive impairment (MCI), and Alzheimer Disease. **Alzheimer Dis Assoc Disord**, v. 26, n. 1, p. 17-27, Jan-Mar 2012. ISSN 0893-0341. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1097/WAD.0b013e3182163b62> >.

ASSOCIATION, A. Trajectory Report | Alzheimer's Association. 2014. Available at: < http://www.alz.org/alzheimers_disease_trajectory.asp >.

BAKER, L. D. et al. Effects of aerobic exercise on mild cognitive impairment: a controlled trial. **Arch Neurol**, v. 67, n. 1, p. 71-9, Jan 2010. ISSN 0003-9942. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1001/archneurol.2009.307> >.

BALLARD, C.; O'BRIEN, J. Treating behavioural and psychological signs in Alzheimer's disease. **Bmj**, v. 319, n. 7203, p. 138-9, Jul 17 1999. ISSN 0959-8138 (Print)0959-535x. Available at: < <http://dx.doi.org/> >.

BALTHAZAR, M. L. et al. Whole cortical and default mode network mean functional connectivity as potential biomarkers for mild Alzheimer's disease. **Psychiatry Res**, v. 221, n. 1, p. 37-42, Jan 30 2014. ISSN 0165-1781. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.psychresns.2013.10.010> >.

BECK, A. T. et al. An inventory for measuring depression. **Arch Gen Psychiatry**, v. 4, p. 561-71, Jun 1961. ISSN 0003-990X (Print)0003-990x. Available at: < <http://dx.doi.org/> >.

BLENNOW, K.; ZETTERBERG, H. Cerebrospinal fluid biomarkers for Alzheimer's disease. **J Alzheimers Dis**, v. 18, n. 2, p. 413-7, 2009. ISSN 1387-2877. Available at: < <http://dx.doi.org/10.3233/jad-2009-1177> >.

BOTTINO, C. M. et al. Estimate of dementia prevalence in a community sample from Sao Paulo, Brazil. **Dement Geriatr Cogn Disord**, v. 26, n. 4, p. 291-9, 2008. ISSN 1420-8008. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1159/000161053> >.

BROWN, B. M. et al. Habitual exercise levels are associated with cerebral amyloid load in presymptomatic autosomal dominant Alzheimer's disease. **Alzheimers Dement**, v. 13, n. 11, p. 1197-1206, Nov 2017. ISSN 1552-5260. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.jalz.2017.03.008> >.

BUCHMAN, A. S. et al. Physical frailty in older persons is associated with Alzheimer disease pathology. **Neurology**, v. 71, n. 7, p. 499-504, Aug 12 2008. ISSN 0028-3878. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1212/01.wnl.0000324864.81179.6a> >.

BUCKNER, R. L. et al. Cortical hubs revealed by intrinsic functional connectivity: mapping, assessment of stability, and relation to Alzheimer's disease. **J Neurosci**, v. 29, n. 6, p. 1860-73, Feb 11 2009. ISSN 0270-6474. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1523/jneurosci.5062-08.2009> >.

_____. Molecular, structural, and functional characterization of Alzheimer's disease: evidence for a relationship between default activity, amyloid, and memory. **J Neurosci**, v. 25, n. 34, p. 7709-17, Aug 24 2005. ISSN 0270-6474. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1523/jneurosci.2177-05.2005> >.

BURGGREN, A.; BROWN, J. Imaging markers of structural and functional brain changes that precede cognitive symptoms in risk for Alzheimer's disease. **Brain Imaging Behav**, v. 8, n. 2, p. 251-61, Jun 2014. ISSN 1931-7557 (Print)1931-7565 (Electronic). Available at: < <http://dx.doi.org/10.1007/s11682-013-9278-4> >.

BURLA, C. et al. [A perspective overview of dementia in Brazil: a demographic approach]. **Cien Saude Colet**, v. 18, n. 10, p. 2949-56, Oct 2013. ISSN 1413-8123. Available at: < <http://dx.doi.org/> >.

BURNHAM, S. C. et al. Clinical and cognitive trajectories in cognitively healthy elderly individuals with suspected non-Alzheimer's disease pathophysiology (SNAP) or Alzheimer's disease pathology: a longitudinal study. **Lancet Neurol**, v. 15, n. 10, p. 1044-53, Sep 2016. ISSN 1474-4422. Available at: < [http://dx.doi.org/10.1016/s1474-4422\(16\)30125-9](http://dx.doi.org/10.1016/s1474-4422(16)30125-9) >.

CASSILHAS, R. C. et al. The impact of resistance exercise on the cognitive function of the elderly. **Med Sci Sports Exerc**, v. 39, n. 8, p. 1401-7, Aug 2007. ISSN 0195-9131 (Print)

0195-9131.

CESAR, K. G. et al. Prevalence of Cognitive Impairment Without Dementia and Dementia in Tremembe, Brazil. **Alzheimer Dis Assoc Disord**, v. 30, n. 3, p. 264-71, Jul-Sep 2016. ISSN 0893-0341. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1097/wad.000000000000122> >.

CHIRLES, T. J. et al. Exercise Training and Functional Connectivity Changes in Mild Cognitive Impairment and Healthy Elders. **J Alzheimers Dis**, v. 57, n. 3, p. 845-856, 2017. ISSN 1387-2877. Available at: < <http://dx.doi.org/10.3233/jad-161151> >.

CHRISTENSEN , P.; GUILFORD , J. **Manual for the Christensen Guilford Fluency Tests. (2nd ed.)**. Beverly Hills, California: Sheridan Supply, 1959.

COLCOMBE, S.; KRAMER, A. F. Fitness effects on the cognitive function of older adults: a meta-analytic study. **Psychol Sci**, v. 14, n. 2, p. 125-30, Mar 2003. ISSN 0956-7976 (Print)0956-7976. Available at: < <http://dx.doi.org/> >.

COLCOMBE, S. J. et al. Aerobic exercise training increases brain volume in aging humans. In: (Ed.). **J Gerontol A Biol Sci Med Sci**. United States, v.61, 2006. p.1166-70. ISBN 1079-5006 (Print)1079-5006 (Linking).

_____. Cardiovascular fitness, cortical plasticity, and aging. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 101, n. 9, p. 3316-21, Mar 02 2004. ISSN 0027-8424 (Print)

0027-8424.

CONVIT, A. et al. Hippocampal atrophy in early Alzheimer's disease: anatomic specificity and validation. **Psychiatr Q**, v. 64, n. 4, p. 371-87, Winter 1993. ISSN 0033-2720 (Print)0033-2720. Available at: < <http://dx.doi.org/> >.

CUMMINGS, J.; REYNDERS, R.; ZHONG, K. Globalization of Alzheimer's disease clinical trials. In: (Ed.). **Alzheimers Res Ther**, v.3, 2011. p.24. ISBN 1758-9193 (Electronic).

DAVENPORT, M. H. et al. Cerebrovascular reserve: the link between fitness and cognitive function? **Exerc Sport Sci Rev**, v. 40, n. 3, p. 153-8, Jul 2012. ISSN 0091-6331. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1097/JES.0b013e3182553430> >.

DAVIGLUS, M. L. et al. NIH state-of-the-science conference statement: Preventing Alzheimer's disease and cognitive decline. **NIH Consens State Sci Statements**, v. 27, n. 4, p. 1-30, Apr 28 2010. ISSN 1553-0779. Available at: < <http://dx.doi.org/> >.

DE ROTROU, J. et al. Accidental MCI in healthy subjects: a prospective longitudinal study. **Eur J Neurol**, v. 12, n. 11, p. 879-85, Nov 2005. ISSN 1351-5101 (Print)1351-5101. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1111/j.1468-1331.2005.01100.x> >.

DEVANAND, D. P. et al. Hippocampal and entorhinal atrophy in mild cognitive impairment: prediction of Alzheimer disease. **Neurology**, v. 68, n. 11, p. 828-36, Mar 13 2007. ISSN 0028-3878. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1212/01.wnl.0000256697.20968.d7> >.

DING, Q. et al. Insulin-like growth factor I interfaces with brain-derived neurotrophic factor-mediated synaptic plasticity to modulate aspects of exercise-induced cognitive function. **Neuroscience**, v. 140, n. 3, p. 823-33, Jul 7 2006. ISSN 0306-4522 (Print)0306-4522. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroscience.2006.02.084> >.

DINIZ, B. S.; PINTO JUNIOR, J. A.; FORLENZA, O. V. Do CSF total tau, phosphorylated tau, and beta-amyloid 42 help to predict progression of mild cognitive impairment to Alzheimer's disease? A systematic review and meta-analysis of the literature. **World J Biol Psychiatry**, v. 9, n. 3, p. 172-82, 2007. ISSN 1562-2975 (Print)1562-2975. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1080/15622970701535502> >.

DRZEZGA, A. et al. Neuronal dysfunction and disconnection of cortical hubs in non-demented subjects with elevated amyloid burden. **Brain**, v. 134, n. Pt 6, p. 1635-46, Jun 2011. ISSN 0006-8950. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1093/brain/awr066> >.

ERICKSON, K. I. et al. Aerobic fitness is associated with hippocampal volume in elderly humans. **Hippocampus**, v. 19, n. 10, p. 1030-9, Oct 2009. ISSN 1050-9631. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1002/hipo.20547> >.

ESPOSITO, F. et al. Independent component model of the default-mode brain function: Assessing the impact of active thinking. **Brain Res Bull**, v. 70, n. 4-6, p. 263-9, Oct 16 2006. ISSN 0361-9230 (Print)0361-9230. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.brainresbull.2006.06.012> >.

ETNIER, J. L. et al. A meta-regression to examine the relationship between aerobic fitness and cognitive performance. **Brain Res Rev**, v. 52, n. 1, p. 119-30, Aug 30 2006. ISSN 0165-0173 (Print)0165-0173. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.brainresrev.2006.01.002> >.

FARIAS, S. T. et al. Progression of mild cognitive impairment to dementia in clinic- vs community-based cohorts. **Arch Neurol**, v. 66, n. 9, p. 1151-7, Sep 2009. ISSN 0003-9942. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1001/archneurol.2009.106> >.

FAZEKAS, F. et al. MRI signal abnormalities at 1.5 T in Alzheimer's dementia and normal aging. . **AJNR Am J Neuroradiol**, v. 421–426, p. 421–6, 1987.

FERRI, C. P. et al. Global prevalence of dementia: a Delphi consensus study. **Lancet**, v. 366, n. 9503, p. 2112-7, Dec 17 2005. ISSN 0140-6736. Available at: < [http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736\(05\)67889-0](http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736(05)67889-0) >.

FLEG, J. L. et al. Accelerated longitudinal decline of aerobic capacity in healthy older adults. **Circulation**, v. 112, n. 5, p. 674-82, Aug 2 2005. ISSN 0009-7322. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1161/circulationaha.105.545459> >.

FOLSTEIN, M. F.; FOLSTEIN, S. E.; MCHUGH, P. R. "Mini-mental state". A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. In: (Ed.). **J Psychiatr Res**. England, v.12, 1975. p.189-98. ISBN 0022-3956 (Print)

0022-3956 (Linking).

FORLENZA, O. V. et al. Clinical and biological predictors of Alzheimer's disease in patients with amnesic mild cognitive impairment. **Rev Bras Psiquiatr**, v. 32, n. 3, p. 216-22, Sep 2010. ISSN 1516-4446 (Print)1516-4446. Available at: < <http://dx.doi.org/> >.

_____. Cerebrospinal fluid biomarkers in Alzheimer's disease: Diagnostic accuracy and prediction of dementia. **Alzheimers Dement (Amst)**, v. 1, n. 4, p. 455-63, Dec 2015. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.dadm.2015.09.003> >.

_____. Cerebrospinal fluid biomarkers in Alzheimer's disease: Diagnostic accuracy and prediction of dementia. **Alzheimers Dement (Amst)**, v. 1, n. 4, p. 455-63, Dec 2016. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.dadm.2015.09.003> >.

GHOSH, A. K. Anaerobic threshold: its concept and role in endurance sport. **Malays J Med Sci**, v. 11, n. 1, p. 24-36, Jan 2004. ISSN 1394-195X (Print)1394-195x. Available at: < <http://dx.doi.org/> >.

GILLI, T. et al. Regional brain atrophy and functional disconnection across Alzheimer's disease evolution. **J Neurol Neurosurg Psychiatry**, v. 82, n. 1, p. 58-66, Jan 2011. ISSN 0022-3050. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1136/jnnp.2009.199935> >.

GOBBI, S.; VILLAR, R.; ZAGO, A. S. **Bases teórico-práticas do condicionamento físico**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005. Available at: < https://books.google.com/books/about/Bases_teorico_praticas_do_condicioname.html?hl=pt-BR&id=S3YaBAAACAAJ >.

GODINHO, C. et al. Estimation of the risk of conversion of mild cognitive impairment of Alzheimer type to Alzheimer's disease in a south Brazilian population-based elderly cohort: the PALA study. **Int Psychogeriatr**, v. 24, n. 4, p. 674-81, Apr 2012. ISSN 1041-6102. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1017/s1041610211002043> >.

GOMEZ-PINILLA, F.; VAYNMAN, S.; YING, Z. Brain-derived neurotrophic factor functions as a metabotrophin to mediate the effects of exercise on cognition. **Eur J Neurosci**, v. 28, n. 11, p. 2278-87, Dec 2008. ISSN 0953-816X (Print)1460-9568 (Electronic). Available at: < <http://dx.doi.org/10.1111/j.1460-9568.2008.06524.x> >.

GREBLO JURAKIC, Z. et al. Effects of feedback-based balance and core resistance training vs. Pilates training on cognitive functions in older women with mild cognitive impairment: a pilot randomized controlled trial. **Aging Clin Exp Res**, Mar 01 2017. ISSN 1594-0667.

GREGORY, M. A.; GILL, D. P.; PETRELLA, R. J. Brain health and exercise in older adults. **Curr Sports Med Rep**, v. 12, n. 4, p. 256-71, Jul-Aug 2013. ISSN 1537-890x. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1249/JSR.0b013e31829a74fd> >.

GREICIUS, M. Resting-state functional connectivity in neuropsychiatric disorders. **Curr Opin Neurol**, v. 21, n. 4, p. 424-30, Aug 2008. ISSN 1350-7540 (Print)1350-7540. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1097/WCO.0b013e328306f2c5> >.

HACHINSKI, V. et al. National Institute of Neurological Disorders and Stroke-Canadian Stroke Network. **Stroke**, v. 37, n. 9, p. 2220-41, Sep 2006. ISSN 1524-4628 (Electronic)

0039-2499 (Linking).

HAMPEL, H. et al. Biomarkers for Alzheimer's disease therapeutic trials. **Prog Neurobiol**, v. 95, n. 4, p. 579-93, Dec 2011. ISSN 0301-0082. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.pneurobio.2010.11.005> >.

HANSSON, O. et al. Association between CSF biomarkers and incipient Alzheimer's disease in patients with mild cognitive impairment: a follow-up study. **Lancet Neurol**, v. 5, n. 3, p. 228-34, Mar 2006. ISSN 1474-4422 (Print)1474-4422. Available at: < [http://dx.doi.org/10.1016/s1474-4422\(06\)70355-6](http://dx.doi.org/10.1016/s1474-4422(06)70355-6) >.

HARDY, J.; SELKOE, D. J. The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: progress and problems on the road to therapeutics. **Science**, v. 297, n. 5580, p. 353-6, Jul 19 2002. ISSN 0036-8075. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1126/science.1072994> >.

HEDDEN, T. et al. Disruption of functional connectivity in clinically normal older adults harboring amyloid burden. **J Neurosci**, v. 29, n. 40, p. 12686-94, Oct 7 2009. ISSN 0270-6474. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1523/jneurosci.3189-09.2009> >.

HERRERA, E., JR. et al. Epidemiologic survey of dementia in a community-dwelling Brazilian population. **Alzheimer Dis Assoc Disord**, v. 16, n. 2, p. 103-8, Apr-Jun 2002. ISSN 0893-0341 (Print)

0893-0341 (Linking).

HILLARY, F. G. et al. Hyperconnectivity is a fundamental response to neurological disruption. **Neuropsychology**, v. 29, n. 1, p. 59-75, Jan 2015. ISSN 0894-4105. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1037/neu0000110> >.

HONJO, K.; BLACK, S. E.; VERHOEFF, N. P. Alzheimer's disease, cerebrovascular disease, and the beta-amyloid cascade. **Can J Neurol Sci**, v. 39, n. 6, p. 712-28, Nov 2012. ISSN 0317-1671 (Print)0317-1671. Available at: < <http://dx.doi.org/> >.

IKEDA, M. et al. MRI-based quantitative assessment of the hippocampal region in very mild to moderate Alzheimer's disease. **Neuroradiology**, v. 36, n. 1, p. 7-10, 1994. ISSN 0028-3940 (Print)0028-3940. Available at: < <http://dx.doi.org/> >.

JACK, C. R., JR. et al. Introduction to the recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. **Alzheimers Dement**, v. 7, n. 3, p. 257-62, May 2011. ISSN 1552-5260. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.jalz.2011.03.004> >.

_____. Tracking pathophysiological processes in Alzheimer's disease: an updated hypothetical model of dynamic biomarkers. **Lancet Neurol**, v. 12, n. 2, p. 207-16, Feb 2013. ISSN 1474-4422. Available at: < [http://dx.doi.org/10.1016/s1474-4422\(12\)70291-0](http://dx.doi.org/10.1016/s1474-4422(12)70291-0) >.

_____. Evidence for ordering of Alzheimer disease biomarkers. **Arch Neurol**, v. 68, n. 12, p. 1526-35, Dec 2011. ISSN 0003-9942. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1001/archneurol.2011.183> >.

JL., C. Alzheimer's Disease. In: ED, M. D. (Ed.). **The neuropsychiatry of Alzheimer's disease and related dementias**. London, 2003. p.57-116.

JOHNSON, N. F. et al. Cardiorespiratory fitness is positively correlated with cerebral white matter integrity in healthy seniors. **Neuroimage**, v. 59, n. 2, p. 1514-23, 2012. ISSN 1095-9572 (Electronic)1053-8119 (Linking). Available at: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroimage.2011.08.032> >.

KAPLAN, E.; GOODGLASS, H.; WEINTRAUB, S. **The Boston Naming Test (2nd ed.)** Philadelphia: Lea & Febiger, 1983.

KILLIANY, R. J. et al. Use of structural magnetic resonance imaging to predict who will get Alzheimer's disease. **Ann Neurol**, v. 47, n. 4, p. 430-9, Apr 2000. ISSN 0364-5134 (Print)0364-5134. Available at: < <http://dx.doi.org/> >.

_____. Temporal lobe regions on magnetic resonance imaging identify patients with early Alzheimer's disease. **Arch Neurol**, v. 50, n. 9, p. 949-54, Sep 1993. ISSN 0003-9942 (Print)0003-9942. Available at: < <http://dx.doi.org/> >.

KIRK-SANCHEZ, N. J.; MCGOUGH, E. L. Physical exercise and cognitive performance in the elderly: current perspectives. **Clin Interv Aging**, v. 9, p. 51-62, 2014. ISSN 1176-9092. Available at: < <http://dx.doi.org/10.2147/cia.s39506> >.

KRUK, J. Physical activity and health. **Asian Pac J Cancer Prev**, v. 10, n. 5, p. 721-8, 2009. ISSN 1513-7368. Available at: < <http://dx.doi.org/> >.

LAIRD, A. R. et al. Investigating the functional heterogeneity of the default mode network using coordinate-based meta-analytic modeling. **J Neurosci**, v. 29, n. 46, p. 14496-505, Nov 18 2009. ISSN 0270-6474. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1523/jneurosci.4004-09.2009> >.

LARRIEU, S. et al. Incidence and outcome of mild cognitive impairment in a population-based prospective cohort. **Neurology**, v. 59, n. 10, p. 1594-9, Nov 26 2002. ISSN 0028-3878 (Print)0028-3878. Available at: < <http://dx.doi.org/> >.

LARSON, E. B. et al. Exercise is associated with reduced risk for incident dementia among persons 65 years of age and older. **Ann Intern Med**, v. 144, n. 2, p. 73-81, Jan 17 2006. ISSN 0003-4819. Available at: < <http://dx.doi.org/> >.

LAURIN, D. et al. Physical activity and risk of cognitive impairment and dementia in elderly persons. **Arch Neurol**, v. 58, n. 3, p. 498-504, Mar 2001. ISSN 0003-9942 (Print)0003-9942. Available at: < <http://dx.doi.org/> >.

LESSMAN, V.; BRIGADSKI, T. Mechanisms, locations, and kinetics of synaptic BDNF secretion: An update. **Neuroscience Research**, v. 65, n. 1, p. 11–22, September 2009 2009. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.neures.2009.06.004> >.

LI, M. Y. et al. The effects of aerobic exercise on the structure and function of DMN-related brain regions: a systematic review. **Int J Neurosci**, v. 127, n. 7, p. 634-649, Jul 2017. ISSN 0020-7454. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1080/00207454.2016.1212855> >.

LI, W. et al. Changes in regional cerebral blood flow and functional connectivity in the cholinergic pathway associated with cognitive performance in subjects with mild Alzheimer's disease after 12-week donepezil treatment. **Neuroimage**, v. 60, n. 2, p. 1083-91, Apr 2 2012. ISSN 1053-8119. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroimage.2011.12.077> >.

LIU, J. et al. White matter changes in patients with amnesic mild cognitive impairment detected by diffusion tensor imaging. In: (Ed.). **PLoS One**. United States, v.8, 2013. p.e59440. ISBN 1932-6203 (Electronic)1932-6203 (Linking).

LIU-AMBROSE, T. et al. Resistance training and executive functions: a 12-month randomized controlled trial. **Arch Intern Med**, v. 170, n. 2, p. 170-8, Jan 25 2010. ISSN 0003-9926.

_____. Resistance training and functional plasticity of the aging brain: a 12-month randomized controlled trial. **Neurobiol Aging**, v. 33, n. 8, p. 1690-8, Aug 2012. ISSN 0197-4580.

LOCKS, R. R. et al. Effects of strength and flexibility training on functional performance of healthy older people. **Braz. J. Phys. Ther.**, v. 16, n. 3, p. 184-190, 06/2012 2012. ISSN 1413-3555. Available at: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1413-35552012000300003&lng=en&nrm=iso&tlng=en >. Available at: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-35552012000300003&lng=en&nrm=iso&tlng=en >. Available at: < <http://www.scielo.br/pdf/rbfis/v16n3/03.pdf> >.

LOPEZ, P. et al. Benefits of resistance training in physically frail elderly: a systematic review. **Aging Clin Exp Res**, Nov 29 2017. ISSN 1594-0667. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1007/s40520-017-0863-z> >.

MAGAKI, S. et al. Increased production of inflammatory cytokines in mild cognitive impairment. **Exp Gerontol**, v. 42, n. 3, p. 233-40, Mar 2007. ISSN 0531-5565 (Print)0531-5565. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.exger.2006.09.015> >.

MALLOY-DINIZ, L. F. et al. The Rey Auditory-Verbal Learning Test: applicability for the Brazilian elderly. **Rev Bras Psiquiatr**, v. 29, n. 4, p. 324-9, Dec 2007. ISSN 1516-4446 (Print) 1516-4446 (Linking).

MANINI, T. M.; PAHOR, M. Physical activity and maintaining physical function in older adults. **Br J Sports Med**, v. 43, n. 1, p. 28-31, Jan 2009. ISSN 0306-3674 (Print)1473-0480 (Electronic). Available at: < <http://dx.doi.org/10.1136/bjism.2008.053736> >.

MARKS, B. L. et al. Role of aerobic fitness and aging on cerebral white matter integrity. **Ann N Y Acad Sci**, v. 1097, p. 171-4, Feb 2007. ISSN 0077-8923 (Print)0077-8923. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1196/annals.1379.022> >.

MARTINSON, B. C. et al. Changes in physical activity and short-term changes in health care charges: a prospective cohort study of older adults. **Prev Med**, v. 37, n. 4, p. 319-26, Oct 2003. ISSN 0091-7435 (Print)0091-7435. Available at: < <http://dx.doi.org/> >.

MATTSSON, N. et al. CSF biomarkers and incipient Alzheimer disease in patients with mild cognitive impairment. **Jama**, v. 302, n. 4, p. 385-93, Jul 22 2009. ISSN 0098-7484. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1001/jama.2009.1064> >.

MAZO, G. Z. et al. Nível de atividade física, condições de saúde e características sócio-demográficas de mulheres idosas brasileiras. **Rev. Port. Cien. Desp.**, v. 5, n. 2, p. 202-212, 05/2005 2005. ISSN 1645-0523. Available at: < http://www.scielo.mec.pt/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1645-05232005000200009&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt >. Available at: < http://www.scielo.mec.pt/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1645-05232005000200009&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt >. Available at: < <http://www.scielo.mec.pt/pdf/rpcd/v5n2/v5n2a09.pdf> >.

MCGEER, E. G.; MCGEER, P. L. Neuroinflammation in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment: a field in its infancy. **J Alzheimers Dis**, v. 19, n. 1, p. 355-61, 2010. ISSN 1387-2877. Available at: < <http://dx.doi.org/10.3233/jad-2010-1219> >.

MCKHANN, G. M. et al. The diagnosis of dementia due to Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. **Alzheimers Dement**, v. 7, n. 3, p. 263-9, May 2011. ISSN 1552-5260. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.jalz.2011.03.005> >.

MIDDLETON, L. E. et al. Physical activity in the prevention of ischemic stroke and improvement of outcomes: a narrative review. **Neurosci Biobehav Rev**, v. 37, n. 2, p. 133-7, Feb 2012. ISSN 0149-7634. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.neubiorev.2012.11.011> >.

MIDDLETON, L. E.; YAFFE, K. Targets for the prevention of dementia. **J Alzheimers Dis**, v. 20, n. 3, p. 915-24, 2010. ISSN 1387-2877. Available at: < <http://dx.doi.org/10.3233/jad-2010-091657> >.

MILLER, L. A. et al. Structured exercise does not stabilize cognitive function in individuals with mild cognitive impairment residing in a structured living facility. **Int J Neurosci**, v. 121, n. 4, p. 218-23, Apr 2011. ISSN 0020-7454. Available at: < <http://dx.doi.org/10.3109/00207454.2010.546537> >.

MORRIS, J. C. The Clinical Dementia Rating (CDR): current version and scoring rules. **Neurology**, v. 43, n. 11, p. 2412-4, Nov 1993. ISSN 0028-3878 (Print)0028-3878. Available at: < <http://dx.doi.org/> >.

NAGAMATSU, L. S. et al. Physical activity improves verbal and spatial memory in older adults with probable mild cognitive impairment: a 6-month randomized controlled trial. **J Aging Res**, v. 2013, p. 861893, 2013. ISSN 2090-2204 (Print)

2090-2204.

_____. Resistance training promotes cognitive and functional brain plasticity in seniors with probable mild cognitive impairment. **Arch Intern Med**, v. 172, n. 8, p. 666-8, Apr 23 2012. ISSN 0003-9926.

NASCIMENTO, C. M. et al. Physical exercise in MCI elderly promotes reduction of pro-inflammatory cytokines and improvements on cognition and BDNF peripheral levels. **Curr Alzheimer Res**, v. 11, n. 8, p. 799-805, 2014. ISSN 1567-2050.

OLSSON, A. et al. Simultaneous measurement of beta-amyloid(1-42), total tau, and phosphorylated tau (Thr181) in cerebrospinal fluid by the xMAP technology. **Clin Chem**, v. 51, n. 2, p. 336-45, Feb 2005. ISSN 0009-9147 (Print)0009-9147. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1373/clinchem.2004.039347> >.

OSTERRIETH, P. The test of copying a complex figure: A contribution to the study of perception and memory **Arch Psychol** v. 30, p. 206 –356, 1944.

OWER, A. K. et al. Temporal association patterns and dynamics of amyloid-beta and tau in Alzheimer's disease. **Eur J Epidemiol**, Oct 25 2017. ISSN 0393-2990. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1007/s10654-017-0326-z> >.

PATERSON, D. H. et al. Longitudinal study of determinants of dependence in an elderly population. **J Am Geriatr Soc**, v. 52, n. 10, p. 1632-8, Oct 2004. ISSN 0002-8614 (Print)0002-8614. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1111/j.1532-5415.2004.52454.x> >.

PETERSEN, R. C.; MORRIS, J. C. Mild cognitive impairment as a clinical entity and treatment target. **Arch Neurol**, v. 62, n. 7, p. 1160-3; discussion 1167, Jul 2005. ISSN 0003-9942 (Print)0003-9942. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1001/archneur.62.7.1160> >.

PETERSEN, R. C. et al. Neuropathologic features of amnesic mild cognitive impairment. **Arch Neurol**, v. 63, n. 5, p. 665-72, May 2006. ISSN 0003-9942 (Print)0003-9942. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1001/archneur.63.5.665> >.

_____. Mild cognitive impairment: ten years later. **Arch Neurol**, v. 66, n. 12, p. 1447-55, Dec 2009. ISSN 0003-9942. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1001/archneurol.2009.266> >.

PFEFFER, R. I. et al. Measurement of functional activities in older adults in the community. **J Gerontol**, v. 37, n. 3, p. 323-9, May 1982. ISSN 0022-1422 (Print)

0022-1422 (Linking).

PICHIERRI, G. et al. Cognitive and cognitive-motor interventions affecting physical functioning: a systematic review. **BMC Geriatr**, v. 11, p. 29, Jun 8 2011. ISSN 1471-2318. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2318-11-29> >.

PIHLAJAMAKI, M.; SPERLING, R. A. Functional MRI assessment of task-induced deactivation of the default mode network in Alzheimer's disease and at-risk older individuals. **Behav Neurol**, v. 21, n. 1, p. 77-91, 2009. ISSN 0953-4180. Available at: < <http://dx.doi.org/10.3233/ben-2009-0231> >.

PORTO, F. H. et al. Effects of Aerobic Training on Cognition and Brain Glucose Metabolism in Subjects with Mild Cognitive Impairment. **J Alzheimers Dis**, v. 46, n. 3, p. 747-60, 2015. ISSN 1387-2877.

PRINCE, M. et al. The global prevalence of dementia: a systematic review and metaanalysis. **Alzheimers Dement**, v. 9, n. 1, p. 63-75.e2, Jan 2013. ISSN 1552-5260. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.jalz.2012.11.007> >.

QI, Z. et al. Impairment and compensation coexist in amnesic MCI default mode network. **Neuroimage**, v. 50, n. 1, p. 48-55, Mar 2010. ISSN 1053-8119. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroimage.2009.12.025> >.

QIU, C.; KIVIPELTO, M.; VON STRAUSS, E. Epidemiology of Alzheimer's disease: occurrence, determinants, and strategies toward intervention. **Dialogues Clin Neurosci**, v. 11, n. 2, p. 111-28, 2009. ISSN 1294-8322 (Print)1294-8322. Available at: < <http://dx.doi.org/> >.

REID, A. T.; EVANS, A. C. Structural networks in Alzheimer's disease. **Eur Neuropsychopharmacol**, v. 23, n. 1, p. 63-77, Jan 2013. ISSN 0924-977x. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.euroneuro.2012.11.010> >.

REITAN, R. Validity of the Trail Making Test as an indicator of organic brain damage. **Percept Mot Skills** v. 8, p. 271–276, 1958.

REITER, K. et al. Improved Cardiorespiratory Fitness Is Associated with Increased Cortical Thickness in Mild Cognitive Impairment. **J Int Neuropsychol Soc**, v. 21, n. 10, p. 757-67, Nov 2015. ISSN 1355-6177. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1017/s135561771500079x> >.

REUTER-LORENZ, P. A.; PARK, D. C. How does it STAC up? Revisiting the scaffolding theory of aging and cognition. **Neuropsychol Rev**, v. 24, n. 3, p. 355-70, Sep 2014. ISSN 1040-7308. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1007/s11065-014-9270-9> >.

REY, A. **L'examen clinique in psychologie**. Paris: Press Universitaire de France, 1964.

RODRIGUEZ-LARRAD, A. et al. Effectiveness of a multicomponent exercise program in the attenuation of frailty in long-term nursing home residents: study protocol for a randomized clinical controlled trial. **BMC Geriatr**, v. 17, n. 1, p. 60, Feb 23 2017. ISSN 1471-2318. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1186/s12877-017-0453-0> >.

RUBIO-PEREZ, J. M.; MORILLAS-RUIZ, J. M. A review: inflammatory process in Alzheimer's disease, role of cytokines. **ScientificWorldJournal**, v. 2012, p. 756357, 2012. ISSN 1537-744x. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1100/2012/756357> >.

SALEEM, M. et al. Inflammatory Markers in Mild Cognitive Impairment: A Meta-Analysis. **J Alzheimers Dis**, v. 47, n. 3, p. 669-79, Aug 3 2015. ISSN 1387-2877. Available at: < <http://dx.doi.org/10.3233/jad-150042> >.

SATTLER, C. et al. Physical fitness as a protective factor for cognitive impairment in a prospective population-based study in Germany. **J Alzheimers Dis**, v. 26, n. 4, p. 709-18, 2011. ISSN 1387-2877. Available at: < <http://dx.doi.org/10.3233/jad-2011-110548> >.

SCHMIDTKE, K.; HERMENEIT, S. High rate of conversion to Alzheimer's disease in a cohort of amnesic MCI patients. **Int Psychogeriatr**, v. 20, n. 1, p. 96-108, Feb 2008. ISSN 1041-6102 (Print)1041-6102. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1017/s1041610207005509> >.

SEIYAMA, A. et al. Circulatory basis of fMRI signals: relationship between changes in the hemodynamic parameters and BOLD signal intensity. **Neuroimage**, v. 21, n. 4, p. 1204-14, Apr 2004. ISSN 1053-8119 (Print)1053-8119. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroimage.2003.12.002> >.

SELKOE, D. J. Alzheimer's disease: genes, proteins, and therapy. **Physiol Rev**, v. 81, n. 2, p. 741-66, Apr 2001. ISSN 0031-9333 (Print)0031-9333. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1152/physrev.2001.81.2.741> >.

SHIRER, W. R. et al. Decoding subject-driven cognitive states with whole-brain connectivity patterns. **Cereb Cortex**, v. 22, n. 1, p. 158-65, Jan 2012. ISSN 1047-3211. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1093/cercor/bhr099> >.

SINDI, S.; MANGIALASCHE, F.; KIVIPELTO, M. Advances in the prevention of Alzheimer's Disease. **F1000Prime Rep**, v. 7, p. 50, 2015. ISSN 2051-7599 (Print)2051-7599. Available at: < <http://dx.doi.org/10.12703/p7-50> >.

SMITH, A. E. et al. The influence of a single bout of aerobic exercise on short-interval intracortical excitability. **Exp Brain Res**, v. 232, n. 6, p. 1875-82, Jun 2014. ISSN 0014-4819. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1007/s00221-014-3879-z> >.

SORG, C. et al. Selective changes of resting-state networks in individuals at risk for Alzheimer's disease. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 104, n. 47, p. 18760-5, Nov 20 2007. ISSN 0027-8424. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.0708803104> >.

SPERLING, R. A. et al. Toward defining the preclinical stages of Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on

diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. **Alzheimers Dement**, v. 7, n. 3, p. 280-92, May 2011. ISSN 1552-5260. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.jalz.2011.03.003> >.

STOKIN, G. B. et al. Axonopathy and transport deficits early in the pathogenesis of Alzheimer's disease. **Science**, v. 307, n. 5713, p. 1282-8, Feb 25 2005. ISSN 0036-8075. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1126/science.1105681> >.

STROHLE, A. et al. Drug and Exercise Treatment of Alzheimer Disease and Mild Cognitive Impairment: A Systematic Review and Meta-Analysis of Effects on Cognition in Randomized Controlled Trials. **Am J Geriatr Psychiatry**, v. 23, n. 12, p. 1234-49, Dec 2015. ISSN 1064-7481.

STROOP, J. R. **Studies of interference in serial verbal reactions.** **Journal of Experimental Psychology**, v. 18, n. 6, p. 643-662, 1935.

SUNDERLAND, T. et al. Clock drawing in Alzheimer's disease. A novel measure of dementia severity. **J Am Geriatr Soc**, v. 37, n. 8, p. 725-9, Aug 1989. ISSN 0002-8614 (Print)

0002-8614 (Linking).

SUZUKI, T. et al. A randomized controlled trial of multicomponent exercise in older adults with mild cognitive impairment. **PLoS One**, v. 8, n. 4, p. e61483, 2013. ISSN 1932-6203.

_____. Effects of multicomponent exercise on cognitive function in older adults with amnesic mild cognitive impairment: a randomized controlled trial. **BMC Neurol**, v. 12, p. 128, Oct 31 2012. ISSN 1471-2377. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2377-12-128> >.

TEIPEL, S. J. et al. Multivariate network analysis of fiber tract integrity in Alzheimer's disease. **Neuroimage**, v. 34, n. 3, p. 985-95, Feb 1 2007. ISSN 1053-8119 (Print)1053-8119. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroimage.2006.07.047> >.

TEIXEIRA, C. V. et al. Non-pharmacological interventions on cognitive functions in older people with mild cognitive impairment (MCI). **Arch Gerontol Geriatr**, v. 54, n. 1, p. 175-80, Jan-Feb 2012. ISSN 0167-4943.

_____. Effect of square-stepping exercise and basic exercises on functional fitness of older adults. **Geriatr Gerontol Int**, Dec 12 2012. ISSN 1447-0594. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1111/ggi.12011> >.

_____. Effects of square-stepping exercise on cognitive functions of older people. **Psychogeriatrics**, v. 13, n. 3, p. 148-56, Sep 2013. ISSN 1346-3500.

TEN BRINKE, L. F. et al. Aerobic exercise increases hippocampal volume in older women with probable mild cognitive impairment: a 6-month randomised controlled trial. **Br J Sports Med**, v. 49, n. 4, p. 248-54, Feb 2015. ISSN 0306-3674.

THAL, D. R. et al. Pathology of clinical and preclinical Alzheimer's disease. **Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci**, v. 263 Suppl 2, p. S137-45, Nov 2013. ISSN 0940-1334. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1007/s00406-013-0449-5> >.

THOMANN, P. A. et al. Association of total tau and phosphorylated tau 181 protein levels in cerebrospinal fluid with cerebral atrophy in mild cognitive impairment and Alzheimer disease. **J Psychiatry Neurosci**, v. 34, n. 2, p. 136-42, Mar 2009. ISSN 1180-4882. Available at: < <http://dx.doi.org/> >.

TORONOV, V. et al. The roles of changes in deoxyhemoglobin concentration and regional cerebral blood volume in the fMRI BOLD signal. **Neuroimage**, v. 19, n. 4, p. 1521-31, Aug 2003. ISSN 1053-8119 (Print)1053-8119. Available at: < <http://dx.doi.org/> >.

TROLLOR, J. N. et al. The association between systemic inflammation and cognitive performance in the elderly: the Sydney Memory and Ageing Study. **Age (Dordr)**, v. 34, n. 5, p. 1295-308, Oct 2012. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1007/s11357-011-9301-x> >.

TSENG, B. Y. et al. White matter integrity in physically fit older adults. **Neuroimage**, v. 82, p. 510-6, Nov 15 2013. ISSN 1053-8119. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroimage.2013.06.011> >.

UENO, D. T. et al. Effects of three methods of physical activity in functional ability of elderly. **Rev. bras. educ. fis. esporte**, v. 26, n. 2, p. 273-281, 06/2012 2012. ISSN 1807-5509. Available at: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1807-55092012000200010&lng=en&nrm=iso&tlng=pt >.Available at: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1807-55092012000200010&lng=en&nrm=iso&tlng=pt >.Available at: < <http://www.scielo.br/pdf/rbefe/v26n2/10.pdf> >.

VOELCKER-REHAGE, C.; NIEMANN, C. Structural and functional brain changes related to different types of physical activity across the life span. **Neurosci Biobehav Rev**, v. 37, n. 9 Pt B, p. 2268-95, Nov 2013. ISSN 0149-7634. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.neubiorev.2013.01.028> >.

VOSS, M. W. et al. Plasticity of brain networks in a randomized intervention trial of exercise training in older adults. **Front Aging Neurosci**, v. 2, 2010. ISSN 1663-4365. Available at: < <http://dx.doi.org/10.3389/fnagi.2010.00032> >.

WECHSLER, D. **Manual for the Wechsler Memory Scale-Revised (WMS-R)**. San Antonio: The Psychological Corporation 1987.

WEISS, J. P. et al. Health-care costs and exercise capacity. **Chest**, v. 126, n. 2, p. 608-13, Aug 2004. ISSN 0012-3692 (Print)0012-3692. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1378/chest.126.2.608> >.

WHO. World Health Organization, Alzheimer's International Disease. Dementia: a public health priority. **WHO**, 2016-07-01 12:29:33 2012. Available at: < http://www.who.int/mental_health/publications/dementia_report_2012/en/ >.

WILLIAM D. MCARDLE, F. I. K. V. L. K. L. **Exercise Physiology: Nutrition, Energy, and Human Performance**. Lippincott Williams & Wilkins, 1996. Available at: < https://books.google.com/books/about/Exercise_Physiology.html?hl=pt-BR&id=XOyjZX0Wxw4C >.

WILLIAMS, V. J. et al. Cardiorespiratory fitness is differentially associated with cortical thickness in young and older adults. **Neuroimage**, v. 146, p. 1084-1092, Feb 1 2017. ISSN 1053-8119. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroimage.2016.10.033> >.

WINBLAD, B. et al. Mild cognitive impairment--beyond controversies, towards a consensus: report of the International Working Group on Mild Cognitive Impairment. **J Intern Med**, v. 256, n. 3, p. 240-6, Sep 2004. ISSN 0954-6820 (Print)0954-6820. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2796.2004.01380.x> >.

World Alzheimer Report 2014: Dementia and Risk Reduction | Alzheimer's Disease International. 2017. Available at: < <https://www.alz.co.uk/research/world-report-2014> >.

World Alzheimer Report 2016 | Alzheimer's Disease International. 2017. Available at: < <https://www.alz.co.uk/research/world-report-2016> >.

XIAO, A. W. et al. The origin and development of plaques and phosphorylated tau are associated with axonopathy in Alzheimer's disease. **Neurosci Bull**, v. 27, n. 5, p. 287-99, Oct 2011. ISSN 1995-8218. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1007/s12264-011-1736-7> >.

YAMASAKI, T. et al. Understanding the Pathophysiology of Alzheimer's Disease and Mild Cognitive Impairment: A Mini Review on fMRI and ERP Studies. **Neurol Res Int**, v. 2012, p. 719056, 2012. ISSN 2090-1860. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1155/2012/719056> >.

ZHANG, H. Y. et al. Detection of PCC functional connectivity characteristics in resting-state fMRI in mild Alzheimer's disease. **Behav Brain Res**, v. 197, n. 1, p. 103-8, Jan 30 2009. ISSN 0166-4328. Available at: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbr.2008.08.012> >.

ZIMMERMAN, B. et al. Cardiorespiratory fitness mediates the effects of aging on cerebral blood flow. **Front Aging Neurosci**, v. 6, p. 59, 2014. ISSN 1663-4365. Available at: < <http://dx.doi.org/10.3389/fnagi.2014.00059> >.

7. APÊNDICE

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) - para pacientes com sintomas clínicos de Comprometimento Cognitivo Leve – grupo aeróbio, página 1 de 5.

Projeto: Biomarcadores Inflamatórios e Funcionais em idosos com Comprometimento Cognitivo Leve: efeito de 24 semanas de treinamento aeróbio

Pesquisador responsável: Camila Vieira Ligo Teixeira

Data: _____

Prezado(a) Senhor(a):

Favor ler estas 5 (cinco) folhas cuidadosamente. Elas explicarão a você o presente estudo e o ajudará a decidir se quer tomar parte dele. Se precisar de qualquer informação adicional após, estaremos à sua disposição para responder as dúvidas que você possa ter.

Comprometimento Cognitivo Leve (CCL)

É o termo usado para pessoas que apresentam algum problema cognitivo (memória, linguagem, atenção, etc.) sem que isso não comprometa de forma significativa a independência da pessoa no dia-a-dia. Quem tem CCL tem chance aumentada de vir a desenvolver Doença de Alzheimer no futuro.

O Estudo

O estudo que estamos realizando tem por objetivo principal verificar a influência do treinamento aeróbio em pessoas com CCL, através de exames de sangue, líquido e ressonância magnética do cérebro. Esse tipo de estudo é importante para que se possa, além de melhorar o diagnóstico, tornar a prática de exercício físico supervisionado um tratamento não farmacológico mais efetivo. Sabe-se que a doença de Alzheimer está relacionada a alterações em algumas proteínas que se depositam no cérebro, como por exemplo, proteínas chamadas tau e beta-amiloide. Nesse projeto de pesquisa pretendemos fazer a dosagem dessas proteínas e relacioná-las com os sintomas de memória, entre outros, assim como com imagens do cérebro (por meio de exame de ressonância magnética) e a genética do paciente (presença ou não de um gene que pode aumentar o risco de desenvolvimento da doença de Alzheimer). Esse gene, entretanto, não dá certeza se a pessoa virá a ter essa doença, apenas mostra se ela/ele tem chance maior de vir a desenvolvê-la.

Esses exames são fundamentais para entendermos melhor as causas da doença. Eles serão comparados com os exames de voluntários sem queixa de memória e com outro grupo com queixa de memória que não praticará exercício aeróbio, como o Sr. (a).

Procedimentos: O paciente durante procedimento diagnóstico no ambulatório de neurologia da UNICAMP / HC será perguntado da autorização para coleta de 10ml do líquido (obtida pela

punção lombar) e 10ml do sangue para os estudos. Não é necessário estar em jejum e nem interromper medicações utilizadas.

O paciente que se dispuser a participar do estudo fará algumas consultas com o médico neurologista para avaliação do seu problema. Fará testes psicológicos (similares a testes psicotécnicos) e ressonância magnética cerebral. Estes exames não são invasivos e não causam danos ao paciente. O exame de Ressonância Magnética funcional não trás nenhum risco para o paciente. Não podem realizar esse exame apenas aqueles que possuem metal no corpo (como próteses, fios, secundários a cirurgias anteriores) ou têm medo ou pânico de locais fechados.

Serão também realizados um exame de ergoespirometria, exame que avaliará seu condicionamento físico, e avaliações motoras como resistência de força muscular e equilíbrio.

Além disso, o paciente que aceitar participar da pesquisa poderá participar de exercícios aeróbios, como caminhada, 3 vezes na semana por 6 meses.

Em todos os exames o voluntário deverá comparecer com um acompanhante, seja para responder perguntas sobre o dia-a-dia do voluntário, ou apenas para deixá-lo mais seguro e à vontade durante os exames.

Risco e Desconforto: A coleta do líquido será realizada nas costas (região lombar). A dor que acompanha a punção lombar é semelhante aquela da coleta de sangue. O desconforto será mínimo, pois será realizada com anestesia local por profissional treinado e devidamente habilitado para a realização de punção lombar. Após submeter-se a punção lombar, o paciente deverá permanecer em repouso em casa, por 24 horas, e aumentar a ingestão de líquidos. Este repouso é importante para evitar dor de cabeça após a punção, impossibilitando a realização das atividades habituais. Se houver dor, mesmo com o repouso, o paciente deverá permanecer por mais alguns dias sem atividades e ingerir a medicação prescrita pelo seu médico. Este tipo de dor de cabeça não traz qualquer prejuízo ao paciente, mas necessita de repouso para desaparecer.

O material é descartável e as agulhas atuais (modelo 22G x 3.5 = 70x7) são mais finas e de excelente qualidade. Caso ocorra qualquer desconforto após o procedimento, o paciente deverá contactar a equipe de atendimento do HC - UNICAMP e a equipe de pesquisa, que orientarão as medidas a serem tomadas para aliviar os sintomas, sem nenhum custo.

Ressonância Magnética: O procedimento de ressonância magnética é semelhante a uma tomografia. Um alto falante dentro do campo magnético possibilita a constante comunicação com as pessoas responsáveis pelo exame. Durante todo o tempo o pessoal médico e paramédico pode ver e ouvir a pessoa, que pode ser removida se for preciso. O procedimento pode durar entre 30 a 45 minutos. O exame de Ressonância Magnética funcional não traz nenhum risco para o paciente. Não podem realizar esse exame apenas aqueles que possuem metal no corpo (como próteses, fios, secundários a cirurgias anteriores) ou têm medo ou pânico de locais fechados. O único desconforto relacionado a este exame é o ruído

intermitente durante os primeiros 15 minutos. Depois disso o ruído será muito menor. O pessoal técnico providenciará tapa-ouvidos para que o exame seja mais confortável.

Exame de sangue – material genético:

Neste estudo, pretendemos avaliar a presença de variantes de um gene que, de acordo com pesquisas em populações de outros países, pode ser um fator de risco para o desenvolvimento de doença de Alzheimer. É o gene da apolipoproteína E, que pode apresentar 5 alelos, numerados de ϵ 1 a ϵ 5. A presença de alelos ϵ 4 pode conferir risco aumentado para desenvolver a doença, porém não significa que a pessoa irá necessariamente desenvolvê-la. Quaisquer dúvidas relacionadas a esse exame, favor contatar o Camila Vieira Ligo Teixeira. Se houver necessidade, os indivíduos poderão ser orientados no ambulatório de Neurogenética do HC Unicamp, sob supervisão da Prof^a. Dra. Íscia Lopes-Cendes.

O sr (a). tem o direito de ser informado sobre o resultado de seu exame: () desejo ser informado dos resultados do exame genético; () não desejo ser informado dos resultados do exame genético.

Ergoespirometria: É teste de esforço, no qual o senhor deve caminhar em uma esteira e estará conectado a um analisador metabólico computadorizado através de uma máscara que estará na sua boca, por onde o senhor ficará respirando. O comportamento e os batimentos de seu coração serão monitorados por eletrodos grudados no seu peito, e sua pressão arterial será monitorada a cada minuto. Este teste tem um tempo de 8 a 12 minutos.

Testes Motores: no teste de resistência muscular de membros inferiores o senhor deverá levantar e sentar em uma cadeira por 30 segundos, e para os membros superiores o senhor deverá flexionar e estender o cotovelo segurando um peso de no máximo 4 quilos por 30 segundos. O teste de equilíbrio resume-se a o senhor fazer algumas tarefas que avaliarão seu equilíbrio. Nenhum desses testes são invasivos e os riscos são mínimos.

Exercício Aeróbio: os riscos de sua participação no treinamento proposto pelo estudo são mínimos e semelhantes aos presentes no seu dia a dia, porque o treinamento é adequado para sua idade e condição física e os riscos são ainda menores pela presença de profissional de Educação Física que supervisionará as atividades, bem como serão utilizados equipamentos e instalações adequadas.

O sr (a). tem o direito de participar do treinamento de exercícios aeróbios: () desejo participar do treinamento; () não desejo participar do treinamento.

Benefícios: O diagnóstico precoce do comprometimento cognitivo trará um tratamento precoce para paciente, e um melhor desenvolvimento do exercício físico como intervenção não farmacológica.

Recusa ou descontinuação da participação: Durante o decorrer do estudo informaremos ao paciente o andamento da pesquisa, podendo este deixar de participar da pesquisa a qualquer

momento, sem prejuízo algum para ele, caso decida não colaborar com a equipe, pois a participação do paciente é voluntária.

Sigilo: As informações recebidas durante e depois do estudo e a privacidade dos pacientes serão mantidas em sigilo. Os resultados serão sempre analisados em grupo, estatisticamente, não sendo possível identificar de forma individual qualquer paciente.

Caso tenha alguma dúvida deverá procurar o pesquisador nos telefones (19) 3521- 7754 ou 3521-9217 e no email cateixeira98@yahoo.com.br

Armazenamento de Material Biológico: Após o estudo realizado, geralmente sobra alguma quantidade de líquido e soro, que tem a capacidade de ser avaliada em novas pesquisas futuras, sem a necessidade de realizar procedimentos de punção. Toda nova pesquisa a ser realizada com o material armazenado será submetida para aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Unicamp e, quando for o caso, da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP).

Eu:

concordo em participar do presente estudo, porém NÃO AUTORIZO o armazenamento do meu material biológico, devendo o mesmo ser descartado ao final desta pesquisa.

concordo em participar do presente estudo e AUTORIZO o armazenamento do meu material biológico, sendo necessário meu consentimento a cada nova pesquisa, que deverá ser aprovada pelo CEP institucional e, se for o caso, pela CONEP.

concordo em participar do presente estudo e AUTORIZO o armazenamento do meu material biológico, dispensando meu consentimento a cada nova pesquisa, que deverá ser aprovada pelo CEP institucional e, se for o caso, pela CONEP.

Eu confirmo que a pesquisadora Camila Vieira Ligo Teixeira me explicou o objetivo do estudo, os procedimentos aos quais serei submetido e os riscos, desconforto e possíveis vantagens advindas desse projeto de pesquisa. Eu li, e/ou me foi explicado, assim como compreendi e recebi uma cópia deste formulário de consentimento e estou de pleno acordo em participar do estudo.

Paciente/Responsável: _____ Idade: _____

RG: _____

Endereço: _____

Assinatura : _____

Responsabilidade do pesquisador.

Eu expliquei a _____ o objetivo do estudo, os procedimentos requeridos e os possíveis riscos e vantagens que poderão advir do estudo, usando o melhor do meu conhecimento. Eu me comprometo a fornecer uma cópia desse formulário de consentimento ao participante ou responsável.

Camila Vieira Ligo Teixeira

Email.: cateixeira98@yahoo.com.br Tel.: (19)
3521-7754/3521-9217

Outros Membros da Equipe e telefones:

1)

2)

3)

4)

5) Comitê de Ética em Pesquisa Tel: (19) 3521-8936

Email. cep@fcm.unicamp.br

Rua Tessália Vieira de Camargo, 126 – Caixa Postal 6111

13083-887 Campinas-SP

Qualquer intercorrências médicas, ligar para qualquer um dos membros da equipe.

8. ANEXO

FACULDADE DE CIÊNCIAS
MÉDICAS - UNICAMP
(CAMPUS CAMPINAS)



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Biomarcadores Inflamatórios e Funcionais em idosos com Comprometimento Cognitivo Leve: efeito de 24 semanas de treinamento aeróbio

Pesquisador: Camila Vieira Ligo Teixeira

Área Temática: Área 1. Genética Humana.

(Trata-se de pesquisa envolvendo genética humana não contemplada acima.);

Versão: 3

CAAE: 16932213.0.0000.5404

Instituição Proponente: Hospital de Clínicas da UNICAMP

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 398.964

Data da Relatoria: 12/09/2013

Apresentação do Projeto:

Comprometimento cognitivo leve (CCL) é caracterizado como o limite entre o envelhecimento normal e a demência. Diagnosticar e prevenir a progressão desse declínio cognitivo é importante para diminuir o risco de desenvolver demência. A prática de exercícios aeróbios parece aumentar a circulação sanguínea cerebral e a síntese de neurotransmissores, além de melhorar a conectividade funcional do cérebro. Assim o objetivo deste estudo foi dividido em duas partes. Parte 1: Comparar biomarcadores inflamatórios e funcionais em idosos preservados cognitivamente e em idosos com CCL. Parte 2: Analisar e correlacionar resultados de neuroimagem, os níveis séricos e LCR de biomarcadores, funções cognitivas e funcionalidade motora em idosos com CCL após 24 semanas de treinamento aeróbio. Para tanto, na Parte 1, participarão deste estudo 40 idosos, sendo 20 deles preservados cognitivamente e 20 idosos com CCL. Na Parte 2, somente os idosos com CCL participarão do protocolo de intervenção: 1) Grupo Treinamento Aeróbio (GT, n=15); 2) Grupo Controle (GC, n=15). Todos os idosos serão submetidos a um protocolo de avaliação, o qual consiste em avaliação cognitiva e motora, nível de atividade física, coleta sanguínea e de líquido cefalorraquidiano, teste de aptidão cardiorrespiratória e ressonância magnética.

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126
Bairro: Barão Geraldo CEP: 13.083-887
UF: SP Município: CAMPINAS
Telefone: (19)3521-8936 Fax: (19)3521-7187 E-mail: cep@fcm.unicamp.br

FACULDADE DE CIÊNCIAS
MÉDICAS - UNICAMP
(CAMPUS CAMPINAS)



Continuação do Parecer: 398.964

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

- Analisar possíveis efeitos de 24 semanas de treinamento aeróbio em idosos com CCL.

Objetivo Secundário:

- Analisar as diferenças entre idosos com CCL e idosos cognitivamente preservados.
- Analisar possíveis efeitos de outro treinamento , não aeróbio, em idosos com CCL.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

A coleta do líquido será realizada nas costas (região lombar). A dor que acompanha a punção lombar é semelhante àquela da coleta de sangue. O desconforto será mínimo, pois será realizada com anestesia local por profissional treinado e devidamente habilitado para a realização de punção lombar. Após submeter-se a punção lombar, o paciente deverá permanecer em repouso em casa, por 24 horas, e aumentar a ingestão de líquidos.

Este repouso é importante para evitar dor de cabeça após a punção, impossibilitando a realização das atividades habituais. Se houver dor, mesmo com o repouso, o paciente deverá permanecer por mais alguns dias sem atividades e ingerir a medicação prescrita pelo seu médico. Este tipo de dor de cabeça não traz qualquer prejuízo ao paciente, mas necessita de repouso para desaparecer. O exame de Ressonância Magnética funcional não traz nenhum risco para o paciente. Não podem realizar esse exame apenas aqueles que possuem metal no corpo (como próteses, fios, secundários a cirurgias anteriores) ou têm medo ou pânico de locais fechados. O único desconforto relacionado a este exame é o ruído intermitente durante os primeiros 15 minutos. Depois disso o ruído será muito menor. O pessoal técnico providenciará tapas ouvidos para que o exame seja mais confortável. Os riscos da participação no treinamento proposto pelo estudo são mínimos e semelhantes aos presentes no seu dia a dia, porque o treinamento é adequado para a idade e condição física e os riscos são ainda menores pela presença de profissional de Educação Física que supervisionará as atividades, bem como serão utilizados equipamentos instalações adequadas.

Benefícios:

O diagnóstico precoce do comprometimento cognitivo trará um tratamento precoce para paciente, e um melhor desenvolvimento do exercício físico como intervenção não farmacológica.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Projeto complementar ao já aprovado, porém os sujeitos não serão os mesmos do estudo anterior

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126
Bairro: Barão Geraldo CEP: 13.083-887
UF: SP Município: CAMPINAS
Telefone: (19)3521-8936 Fax: (19)3521-7187 E-mail: cep@fcm.unicamp.br

FACULDADE DE CIÊNCIAS
MÉDICAS - UNICAMP
(CAMPUS CAMPINAS)



Continuação do Parecer: 398.964

pois um grupo com CCL será submetido a exercício aeróbico e outro grupo a exercícios de alongamento. Serão comparados entre si e com o grupo de indivíduos normais.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

O projeto de pesquisa gerado pela Plataforma Brasil contém todos os itens adequadamente preenchidos, incluindo cronograma e orçamento detalhado, tendo como fonte de financiamento a FAPESP. A folha de rosto foi assinada pelo pesquisador principal e pelo responsável da proponente (superintendente do HC/Unicamp). Pesquisadores anexaram uma carta complementar de esclarecimento da FAPESP no que se refere ao "patrocinador" do estudo. Foram apresentados dois modelos de TCLE, um aos pacientes e outro aos indivíduos controle, com detalhamento do estudo. Faz parte de outro projeto já anteriormente aprovado por este CEP. (CAAE:09634412.5.0000.5404- Número do parecer:188.021 Data da Relatoria:19/12/2012)

Recomendações:

Pesquisadores deverão apresentar, oportunamente, relatório parcial e final das atividades relativas a este estudo.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Projeto aprovado, após resolução de pendências.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

CAMPINAS, 18 de Setembro de 2013

Assinador por:
Fátima Aparecida Bottcher Luiz
(Coordenador)

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126
Bairro: Barão Geraldo CEP: 13.083-887
UF: SP Município: CAMPINAS
Telefone: (19)3521-8938 Fax: (19)3521-7187 E-mail: cep@fcm.unicamp.br