



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

ANA LUCIA CRUZ FÜRSTENBERGER LEHMANN

**AVALIAÇÃO DE CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS,
ESPESSURA DA CAMADA MÉDIO-INTIMAL DA CARÓTIDA
E NÍVEIS PLASMÁTICOS DE BIOMARCADORES DA
COAGULAÇÃO, INFLAMAÇÃO E DISFUNÇÃO
ENDOTELIAL, COMO POTENCIAIS PREDITORES DO
DÉFICIT FUNCIONAL E MORTALIDADE EM PACIENTES
COM ACIDENTE VASCULAR CEREBRAL ISQUÊMICO
AGUDO**

ANA LUCIA CRUZ FÜRSTENBERGER LEHMANN

**AVALIAÇÃO DE CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS,
ESPESSURA DA CAMADA MÉDIO-INTIMAL DA CARÓTIDA
E NÍVEIS PLASMÁTICOS DE BIOMARCADORES DA
COAGULAÇÃO, INFLAMAÇÃO E DISFUNÇÃO
ENDOTELIAL, COMO POTENCIAIS PREDITORES DO
DÉFICIT FUNCIONAL E MORTALIDADE EM PACIENTES
COM ACIDENTE VASCULAR CEREBRAL ISQUÊMICO
AGUDO**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor.

Orientadora: Prof. Dra. Edna Maria Vissoci Reiche

Co-orientador: Prof. Dr. Damacio Ramón Kaimen-Maciel

Londrina
2020

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

- L523 Lehmann, Ana Lucia Cruz Fürstenberger.
Avaliação de características clínicas, espessura da camada médio-íntima da carótida e níveis plasmáticos de biomarcadores da coagulação, inflamação e disfunção endotelial como possíveis preditores do déficit funcional e mortalidade em pacientes com acidente vascular encefálico isquêmico agudo. / Ana Lucia Cruz Fürstenberger Lehmann. - Londrina, 2020.
164 f. : il.
- Orientador: Edna Maria Vissoci Reiche.
Coorientador: Damacio Ramón Kaimen-Maciel.
Tese (Doutorado em Ciências da Saúde) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, 2020.
Inclui bibliografia.
1. Acidente vascular cerebral isquêmico, incapacidade, mortalidade, NIHSS - Tese. I. Reiche, Edna Maria Vissoci. II. Kaimen-Maciel, Damacio Ramón. III. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências da Saúde. Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde. IV. Título.

CDU 61

ANA LUCIA CRUZ FÜRSTENBERGER LEHMANN

**AVALIAÇÃO DE CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS, ESPESSURA DA
CAMADA MÉDIO-INTIMAL DA CARÓTIDA E NÍVEIS
PLASMÁTICOS DE BIOMARCADORES DA COAGULAÇÃO,
INFLAMAÇÃO E DISFUNÇÃO ENDOTELIAL, COMO POTENCIAIS
PREDITORES DO DÉFICIT FUNCIONAL E MORTALIDADE EM
PACIENTES COM ACIDENTE VASCULAR CEREBRAL ISQUÊMICO
AGUDO**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor.

BANCA EXAMINADORA

Orientadora: Profa Dra. Edna Maria Vissoci Reiche
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Prof. Dr. Marcell A Batisti Lozovoy
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Prof. Dr. José Wander Breganó
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Profa. Dra. Monica Marcos de Souza
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Profa Dra. Daniela Frizon Alfieri
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Profa Dra. Andrea Name Colado Simão
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Profa Dra. Marla Karine Amarante
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Londrina, 30 de janeiro de 2020.

AGRADECIMENTOS

Ao meu esposo Márcio Francisco Lehmann, pelo carinho e apoio no trabalho e na vida.

Aos meus filhos Bruno e Caio pela compreensão e paciência.

Aos meus pais Rubens e Helena pelo exemplo na profissão docente.

À minha orientadora Professora Dra. Edna Maria Vissoci Reiche pela extrema dedicação, incentivo, empenho e confiança.

Ao meu co-orientador Dr. Damacio Ramón Kaimen-Maciel e Prof. Dra. Andrea Name Colado Simão

Aos professores Dr. Marcell Alysson Batisti Lozovoy, Dr José Wander Breganó, Dra. Daniela Frizon Alfieri e Dra. Monica Marcos de Souza pelas contribuições na avaliação do trabalho.

Aos alunos bolsistas de Iniciação Científica do Curso de Graduação em Medicina da Universidade Estadual de Londrina Emanuelle Roberto Trevisani, Maisa Rocha Nagao e Leonardo Bodner.

Aos médicos residentes de Neurocirurgia e Neurologia Clínica do Hospital Universitário de Londrina, em especial a Maria Caroline Martins de Araújo.

Aos funcionários dos Setores de Coleta, de Imunologia Clínica do Laboratório de Análises Clínicas e do Setor de Hemodinâmica do Hospital Universitário de Londrina.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Estadual de Londrina.

À Fundação Araucária pelo auxílio financeiro.

Aos pacientes e seus familiares por permitirem a participação no estudo.

A todos os meus atuais e ex-alunos que foram e continuam sendo o propósito para tudo isto.

LEHMANN, Ana Lucia Cruz Fürstenberger. **Avaliação de características clínicas, espessura da camada médio-intimal da carótida e níveis plasmáticos de biomarcadores da coagulação, inflamação e disfunção endotelial como possíveis preditores do déficit funcional e mortalidade em pacientes com acidente vascular encefálico isquêmico agudo.** Tese de Doutorado. 164 f. Universidade Estadual de Londrina. Londrina, 2020.

RESUMO

Introdução: O acidente vascular cerebral isquêmico (AVCI) agudo é uma das principais causas de morbimortalidade em todo o mundo e está associado a uma importante incapacidade funcional a curto e longo prazo. Diferentes variáveis demográficas, clínicas, de imagem e laboratoriais foram propostas como potenciais biomarcadores para predição do desfecho do AVCI. No entanto, a maioria dos estudos avaliou biomarcadores isoladamente e apresentaram resultados conflitantes. **Objetivo:** Avaliar um conjunto de variáveis demográficas, clínicas, de imagem e biomarcadores laboratoriais como potenciais preditores de incapacidade e mortalidade a curto prazo, bem como mortalidade a longo prazo em pacientes com AVCI. **Métodos:** O estudo envolveu 153 pacientes com AVCI inseridos consecutivamente. Variáveis demográficas, antropométricas, fatores de risco para AVCI, informações clínicas, a gravidade do AVCI usando a *National Institute of Health Stroke Scale* (NIHSS) e amostras de sangue foram obtidas dentro de 24 horas da admissão. A gravidade foi categorizada em leve (NIHSS 0-4), moderada (NIHSS 5-14) e grave (NIHSS ≥ 15). A espessura médio-intimal da carótida (cIMT) e a estenose carotídea foram visualizadas por ultrassonografia com *doppler* realizada durante a hospitalização do paciente. A cIMT foi categorizada em $< 1,0$ mm e $\geq 1,0$ e o grau de estenose em $< 50\%$ e $\geq 50\%$. O desfecho a curto prazo foi avaliado pela escala de Rankin modificada (mRS) três após a admissão e caracterizado como incapacidade leve (mRS <3), incapacidade moderada/grave (mRS ≥ 3) ou óbito (mRS=6). O desfecho a longo prazo foi caracterizado como sobrevida e não sobrevida após 12 meses após a admissão. Os biomarcadores laboratoriais incluíram moléculas de diferentes vias, tais como resposta inflamatória, coagulação e disfunção endotelial. **Resultados:** Os resultados foram apresentados em dois artigos originais: no primeiro artigo, incluímos 106 pacientes com AVCI, a mediana da idade foi de 66 anos e os fatores de risco modificáveis mais frequentes para o AVCI foram hipertensão arterial sistêmica (71,2%), dislipidemia (48,1%) e diabetes mellitus tipo dois (DMT2) (30,8%). Estenose carotídea $\geq 50\%$ (p=0,032), DMT2 (p=0,016) e NIHSS (p<0,001) foram preditores de incapacidade moderada/grave a curto prazo; juntas, essas variáveis classificaram corretamente 85,2% de todos os casos (sensibilidade: 90,2%; especificidade: 81,8%). Somente o NIHSS previu a mortalidade a curto prazo e classificou corretamente 85,7% de todos os casos (sensibilidade: 95,8%, especificidade: 47,4%). Na análise de regressão de Cox, com a adição de possíveis variáveis confundidoras, os pacientes com AVCI com maior NIHSS apresentaram menor sobrevida após três meses de acompanhamento do que aqueles com menor NIHSS [*odds ratio* (OR): 4,35, 95% intervalo de confiança (IC): 1,46-116,0, p=0,029]. No segundo artigo, incluímos 104 pacientes com AVCI; 21,1% não sobreviveram após 12 meses de acompanhamento. Os que não sobreviveram, apresentaram maior NIHSS e cIMT, menores níveis de antitrombina e maiores níveis de fator VIII (FVIII), proteína C reativa ultrasensível (usPCR), interleucina (IL)-10 e molécula de adesão celular vascular solúvel 1 (sVCAM-1) do que os que sobreviveram (p<0,05). No entanto, apenas o NIHSS e os níveis de usPCR foram preditores independentes de mortalidade a longo prazo (OR: 1,15; intervalo de confiança de 95% IC de 1,04-1,28, p=0,007 e OR: 1,89, IC de 95%: 1,09-3,78, p=0,041,

respectivamente). O modelo combinado de NIHSS e níveis de usPCR apresentou melhor resultado [área sob a curva (AUC): 0,804, IC 95%: 0,679-0,927] do que os modelos NIHSS e usPCR isoladamente como preditores de mortalidade a longo prazo (AUC: 0,766, IC 95%: 0,663-0,890 para NIHSS e AUC: 0,669, IC 95%: 0,546-0,832 para usPCR). Juntos, o NIHSS e a usPCR classificaram corretamente 87,7% dos casos, com sensibilidade de 98,1%, especificidade de 46,2%, valor preditivo positivo de 81,2% e valor preditivo negativo de 89,2%. **Conclusão:** A presença de estenose carotídea $\geq 50\%$ e DMT2 juntamente com escore elevado de NIHSS na admissão hospitalar foram preditores de maior incapacidade e o NIHSS foi preditor de mortalidade aos três meses. Além disso, o NIHSS e os níveis de usPCR obtidos dentro de 24 horas após a internação dos pacientes com AVCI foram biomarcadores preditivos precoces de mortalidade a longo prazo. Portanto, o uso de um modelo combinado de biomarcadores, como NIHSS e usPCR, pode prever precocemente o prognóstico dos pacientes com AVCI.

Palavras-chaves: Acidente vascular cerebral isquêmico. Incapacidade. Mortalidade. NIHSS. Estenose carotídea. Proteína C-reativa. Biomarcadores inflamatórios. Moléculas de adesão.

LEHMANN, Ana Lucia Cruz Fürstenberger. **Evaluation of clinical characteristics, carotid intima-media thickness and plasmatic levels of coagulation, inflammation and endothelial dysfunction as possible predictors of functional deficit and mortality in patients with acute ischemic stroke.** 164 p. Doctoral Thesis. State University of Londrina. Londrina, 2020.

ABSTRACT

Background: Acute ischemic stroke (IS) is one of the leading causes of morbidity and mortality worldwide and it is associated with an important short-term and long-term functional disability. Demographic, clinical, imaging and laboratory biomarkers have been proposed as potential surrogate markers for IS outcome. However, most results have evaluated single biomarkers and have shown conflicting results. **Objective:** to evaluate a set of demographics, clinical, imaging variables, as well as laboratory biomarkers as potential predictors of short-term disability and mortality as well as long-term mortality in patients with IS. **Methods:** The study enrolled consecutively 153 patients with IS. Demographic and anthropometric variables, risk factors for IS, clinical information, the severity of IS using the National Institute of Health Stroke Scale (NIHSS) and peripheral blood samples were obtained within 24 h of admission. The IS severity was categorized as mild (NIHSS 0-4), moderate (NIHSS 5-14) and severe (NIHSS ≥ 15). Carotid intima-media thickness (cIMT) and carotid stenosis were visualized using ultrasonography with Doppler performed during the patient hospitalization. The cIMT was categorized as < 1.0 mm and ≥ 1.0 mm and the degree of stenosis as $< 50\%$ and $\geq 50\%$. Short-term outcome was measured using modified Rankin scale (mRS) three-months after admission. The short-term outcome was categorized as mild disability (mRS < 3), moderate/severe disability (mRS ≥ 3) or death (mRS = 6). The long-term outcome was categorized as survival and non-survival. The laboratory biomarkers included molecules from different pathways, such as inflammatory response, coagulation and endothelial dysfunction. **Results:** The results were shown in two original articles: In the first article, we included 106 IS patients, the median age was 66 years and the most frequent modifiable risk factors for IS were systemic arterial hypertension (71.2%), dyslipidemia (48.1%) and type 2 diabetes mellitus (T2DM) (30.8%). Carotid stenosis $\geq 50\%$ ($p=0.032$), T2DM ($p=0.016$) and NIHSS ($p<0.001$) were predictors of moderate/severe disability; together, these variables correctly classified 85.2% of all cases (sensitivity: 90.2%; specificity: 81.8%). Only NIHSS predicted short-term mortality and correctly classified 85.7% of all cases (sensitivity: 95.8%, specificity: 47.4%). In the Cox regression analysis with adding possible confounder variables, IS patients with higher NIHSS showed lower survival after three-month follow-up than those with lower NIHSS [odds ratio (OR): 41.35, 95% confidence interval (CI): 1.46-116.0, $p=0.029$]. In the second article, we included 104 IS patients; of them, 21.1% were non-survivors after 12 month-follow-up. The non-survivors showed higher NIHSS and cIMT, lower levels of antithrombin and higher levels of Factor VIII, sensitivity C-reactive protein (hsCRP), interleukin (IL)-10, and soluble vascular cellular adhesion molecule 1 (sVCAM-1) than survivors. However, only NIHSS and the levels of hsCRP were independent predictors of long-term mortality (OR: 1.15, 95% CI: 1.04-1.28, $p=0.007$ and OR: 1.89, 95% CI: 1.09-3.78, $p=0.041$, respectively). The combined model of NIHSS and hsCRP showed better result [area under curve (AUC): 0.804, 95% CI: 0.679-0.927] than NIHSS and hsCRP isolated models for predicting long-term mortality (AUC: 0.766, 95% CI: 0.643-0.890 for NIHSS and AUC: 0.689, 95% CI: 0.546-0.832 for hsCRP). Together, NIHSS and hsCRP correctly classified 87.7% of cases, with sensitivity of 98.1%,

specificity of 46.2%, positive predictive value of 81.2% and negative predictive value of 89.2%. **Conclusion:** Carotid stenosis $\geq 50\%$, T2DM and high NIHSS were predictors of moderate/severe disability and NIHSS was predictor of mortality after three-month follow-up. Moreover, the combined model of NIHSS and hsCRP obtained within 24 hours after hospital admission of IS patients were predictive biomarkers of long-term mortality. Therefore, the use of a combined model of biomarkers, such as NIHSS and hsCRP, may early predict the outcome of the IS patients.

Keywords: Ischemic stroke. Disability. Mortality. NIHSS. Carotid stenosis. C-reactive protein. Inflammatory biomarkers. Adhesion molecules.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Bifurcação carotídea vista no exame de ultrassonografia com <i>Doppler</i> (USGD) colorido	27
Figura 2 – Espessura da camada médiointimal da artéria carótida comum (ACC)	29
Figura 3 – Espessura médiointimal da carótida (cIMT) medida de forma manual (A) e automática (B) no corte longitudinal	31
Figura 4 – Medida da porcentagem do grau de estenose no exame de ultrassonografia com <i>Doppler</i> (USGD) no modo B	33
Figura 5 – Principais mecanismos de resposta inflamatória no acidente vascular cerebral isquêmico	37
Figura 6 – Revisão esquemática dos mecanismos fisiopatológicos, células e moléculas envolvidos na aterosclerose	40
Figura 7 – Principais alterações da resposta inflamatória e estresse oxidativo e nitrosativo observadas após o acidente vascular cerebral isquêmico agudo	42
Figura 8 – Mecanismos neuroinflamatórios envolvidos no agravamento da lesão cerebral após o acidente vascular cerebral isquêmico em condições de diabetes mellitus tipo 2 (hiperglicemia e hipoglicemia).....	43

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AIT	Acidente isquêmico transitório
ALCAM	<i>Activated leukocyte-cell adhesion molecule</i> – Molécula de adesão de células leucocitárias ativadas
ANOVA	Análise de variância
AVC	Acidente vascular cerebral
AVCH	Acidente vascular cerebral hemorrágico
AVCI	Acidente vascular cerebral isquêmico
AUC	<i>Area under curve</i> – Área sob a curva
BHE	Barreira hematoencefálica
CADASIL	<i>Cerebral Autosomal Dominant Arteriopathy with Subcortical Infarcts and Leukoencephalopathy</i> – Arteriopatia Cerebral Autossômica Dominante com Infartos Subcorticais e Leucoencefalopatia
CC	Carótida comum
CE	Carótida externa
CEI	<i>Cardioembolic Infarct</i> - Infarto cardioembólico
CI	Carótida interna
CI	<i>Confidence interval</i>
cIMT	<i>Carotid intima-media thickness</i> – Espessura médiointimal da carótida
DMT2	Diabetes <i>mellitus</i> tipo 2
DCV	Doença cardiovascular
EGF	<i>Epidermal growth factor</i> – Fator de crescimento epidérmico
EPM	Erro padrão da média
ERO	Espécies reativas de oxigênio
ESH	<i>European Society of Hypertension</i> – Sociedade Européia de Hipertensão
ESC	<i>European Society of Cardiology</i> – Sociedade Européia de Cardiologia
EUA	Estados Unidos da América
FA	Fibrilação Atrial
FLT3LG	<i>Fms-related tyrosine kinase 3 ligand</i> – Ligante de tirosina quinase 3 relacionado com Fms
FvW	Fator von Willebrand

FVIII	Fator VIII
G-CSF	<i>Granulocyte colony stimulator factor</i> – Fator estimulador de colônias de granulócitos
GM-CSF	<i>Granulocyte and monocyte colony stimulator factor</i> – Fator estimulador de colônias de granulócitos e monócitos
GLM	<i>General linear models</i> – Modelos lineares generalizados
HBV	<i>Hepatitis B virus</i> - Vírus da hepatite B
HCV	<i>Hepatitis C virus</i> - Vírus da hepatite C
HDL	<i>High-density lipoprotein</i> - Lipoproteína de alta densidade
HU	Hospital Universitário
IC	Intervalo de confiança
IDH	Índice de Desenvolvimento Humano
IFN	<i>Interferon</i> – Interferon
IL	<i>Interleukin</i> – Interleucina
IAM	Infarto agudo do miocárdio
ICAM-1	<i>Intercellular adhesion molecule 1</i> - Molécula de adesão intracelular 1
IMC	Índice de massa corpórea
IMT	<i>Intima-media thickness</i> - Espessura médio-intimal da carótida
IQR	Interquartil
LAAS	<i>Large artery atherosclerosis</i> - Aterosclerose de grandes artérias
LAC	<i>Lacunar infarct</i> - Infarto lacunar
LCR	Líquido cefalorraquidiano
LDL	<i>Low-density lipoprotein</i> – Lipoproteína de baixa densidade
LFA-1	<i>Lymphocyte function associated antigen 1</i> – Antígeno 1 associado a função linfócitos
Ln	Logarítmo natural
Mac-1	<i>Macrophage antigen 1</i> -Antígeno de macrófago 1
MCP-1	<i>Monocyte chemoattractant protein 1</i> - Proteína quimiatraente de monócitos 1
MIP-1 α	<i>Macrophage inflammatory protein 1</i> - Proteína inflamatória de macrófagos 1
MMP	<i>Matrix metalloproteinase</i> - Metaloproteinases de matriz
mRS	<i>modified Rankin Scale</i> – Escala modificada de Rankin
MTHFR	5,10-metilenotetrahidrofolato redutase

NF-κB	<i>Nuclear factor kappa B</i> - Fator nuclear <i>kappa B</i>
NIHSS	<i>The National Institute of Health Stroke Scale</i> – Escala de Acidente Vascular Encefálico do Instituto Nacional de Saúde
NOS	Óxido nítrico sintetase
ODE	<i>Other determined etiology</i> - AVCI de outra etiologia determinada
OMS	Organização Mundial da Saúde
OR	<i>Odds ratio</i> – razão de chance
PAD	Pressão arterial diastólica
PAI-1	Inibidor do ativador do plasmingênio 1
PAS	Pressão arterial sistólica
PCR	Proteína C-reativa
PECAM-1	<i>Platelet endothelial cell adhesion molecule 1</i> - Molécula de adesão de células endoteliais plaquetárias 1
PSGL-1	<i>P-selectin glycoprotein ligand 1</i> - Ligante 1 da glicoproteína P-selectina
RNM	Ressonância nuclear magnética
ROC	<i>Receiver operating characteristic curve</i> – Curva Característica de Operação do Receptor
SNC	Sistema nervoso central
sICAM-1	<i>Soluble intercellular adhesion molecule 1</i> - Molécula de adesão intracelular 1 solúvel
sVCAM-1	<i>Soluble vascular cellular adhesion molecule 1</i> – Molécula de adesão celular vascular 1 solúvel
TC	Tomografia computadorizada
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TLR	<i>Toll-like receptor</i> - Receptor semelhante ao <i>toll</i>
TNF	<i>Tumor necrosis factor</i> – Fator de necrose tumoral
TOAST	<i>Trial of Org in 10172 Acute Stroke Treatment</i>
tPA	Ativador do plasminogênio tecidual
UDE	<i>Undetermined etiology</i> - AVCI com etiologia indeterminada
UEL	Universidade Estadual de Londrina
USGD	Ultrasonografia com <i>doppler</i>
usPCR	Proteína C reativa por metodologia ultrasensível

VCAM-1	<i>Vascular cellular adhesion molecule 1</i> – Molécula de adesão celular vascular 1
VEGF	<i>Vascular epithelial growth factor</i> - Fator de crescimento endotelial vascular
VPN	Valor preditivo negativo
VPP	Valor preditivo positivo
VSMC	<i>Vascular smooth muscle cells</i> - Células musculares lisas vasculares

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
1.1	EPIDEMIOLOGIA DO AVC.....	16
1.2	FATORES DE RISCO PARA AVCI.....	19
1.3	SUBTIPOS DE AVC.....	23
1.4	AVALIAÇÃO DA GRAVIDADE DO AVCI E INCAPACIDADE FUNCIONAL DO PACIENTE.....	25
1.5	EXAMES DE IMAGEM NO AVCI.....	26
1.5.1	Ultrassonografia Com Doppler Colorido.....	26
1.5.2	Espessura Da Camada Médiointimal (cIMT) Da Carótida.....	27
1.5.3	Padronização Da cIMT.....	30
1.5.4	Grau De Estenose.....	33
1.5.5	Espessura Da cIMT, Grau De Estenose Da Carótida E O Prognóstico De AVC.....	34
1.6	FISIOPATOLOGIA DO AVCI.....	36
1.7	BIOMARCADORES NO AVCI.....	44
1.7.1	Biomarcadores Da Inflamação No AVCI.....	45
1.7.2	Biomarcadores Da Disfunção Endotelial.....	47
1.7.3	Biomarcadores Da Coagulação/Fibrinólise No AVCI.....	50
2	JUSTIFICATIVA	54
3	OBJETIVOS	56
3.1	OBJETIVO GERAL.....	56
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	56
4	METODOLOGIA	57
4.1	DELINEAMENTO.....	57
4.2	SUJEITOS.....	57
4.3	CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO.....	58
4.4	DADOS DEMOGRÁFICOS, ANTROPOMÉTRICOS, CLÍNICOS, DE IMAGEM E LABORATORIAIS.....	58
4.5	EXAME DE USGD.....	59

4.6	COLETA DE AMOSTRA BIOLÓGICA E EXAMES LABORATORIAIS	59
4.7	ANÁLISE ESTATÍSTICA	60
5	RESULTADOS	62
	Artigo 1	63
	Artigo 2	88
6	CONCLUSÕES	126
7	CONSIDERAÇÕES FINAIS	128
	AGRADECIMENTOS	129
	REFERÊNCIAS	130
	ANEXOS	147
	Anexo 1 – Parecer consubstancial do CEP	148
	Anexo 2 – National Institute of Health Stroke Scale (NIHHS)	153
	Anexo 3 – Escala de Rankin Modificada (mRS)	161
	APÊNDICE	162
	Apêndice 1 – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	162
	Apêndice 2 – Questionário para coleta de dados dos indivíduos	164

1 1 INTRODUÇÃO

2
3 O acidente vascular cerebral (AVC) é definido como uma perda súbita da função
4 cerebral com rápido desenvolvimento de sinais clínicos de distúrbios focais com a
5 apresentação de sintomas igual ou superior a 24 horas, conseqüentemente provocando
6 alterações nos planos cognitivo e sensório-motor (BRASIL, 2013).

7 Existem dois tipos de AVC: cerca de 85% são acidentes vasculares cerebrais
8 isquêmicos (AVCI) decorrentes de uma obstrução arterial encefálica, os 15% restantes são
9 acidentes vasculares cerebrais hemorrágicos (AVCH), dos quais cerca de 10% são decorrentes
10 de hemorragia intracerebral espontânea e 5% de hemorragia subaracnóidea (GO et al., 2014).

11 Quanto à etiologia, segundo os critérios definidos pelo *Trial of Org 10172 in Acute*
12 *Stroke Treatment* (TOAST), o AVCI é classificado em cinco subtipos dependendo dos dados
13 clínicos, dos exames laboratoriais e de imagem (ADAMS et al., 1993), sendo os mais
14 importantes os de doença aterosclerótica de grandes artérias (LAAS), infarto lacunar (LAC) e
15 infarto cardioembólico (CEI). Além desses, existem inúmeras outras causas, como vasculites,
16 trombofilias, anemia falciforme, dissecação arterial e doenças genéticas, caracterizando como
17 AVCI de outra etiologia determinada (ODE). Em até 30% dos casos, a etiologia não pode ser
18 definida, caracterizando o AVCI de etiologia indeterminada (UDE). Quanto ao AVCH as
19 principais causas relacionadas às hemorragias intracerebrais espontânea e subaracnóidea são,
20 respectivamente, hipertensão arterial sistêmica, aneurismas e malformações arteriovenosas
21 cerebrais (ROSAMOND et al., 2008).

22 23 1.1 EPIDEMIOLOGIA DO AVC

24
25 O AVCI agudo é uma das principais causas de morbimortalidade em todo o mundo
26 com forte impacto econômico e social, principalmente na população acima dos 55 anos de
27 idade (ALMEIDA; DAL PIZZOL, VALLER, 2012; PETROVIC-DJERGOVIC et al. 2016) e
28 está associado a uma importante incapacidade funcional a longo prazo. Um terço dos
29 indivíduos com AVCI morre dentro dos primeiros três meses do evento isquêmico ou de suas
30 complicações. Entre os pacientes que sobrevivem a um AVCI, 20% necessitam de cuidados
31 institucionais nos primeiros três meses após a lesão e 15% a 30% sofrem de incapacidade
32 permanente. Além disso, aproximadamente um terço dos pacientes não sobreviveu três anos
33 após o primeiro AVCI (FEIJIN et al., 2017).

1 A doença cardíaca isquêmica e AVC foram as maiores causas de morte no mundo nos
2 últimos 15 anos, somando 15,2 milhões de mortes em 2016 (WHO, 2018). As projeções
3 mostram que até 2030, 3,4 milhões de adultos nos Estados Unidos da América (EUA) com
4 idade ≥ 18 anos, representando 3,88% da população adulta, sofrerão um AVC, um aumento
5 de 20,5% na prevalência em relação a 2012. O maior aumento (29%) é projetado em homens
6 hispânicos brancos (OVBIAGELE et al., 2013).

7 O *Nacional Health and Nutrition Examination Survey* indica que 6,8 milhões de
8 Norte-Americanos (2,8% da população) maiores de 20 anos têm diagnóstico relacionado ao
9 AVC. Cerca de 15% dos casos de AVC foram precedidos de um acidente isquêmico
10 transitório (AIT) (GO et al., 2014).

11 Existem variações internacionais substanciais da mortalidade por AVCI (SARTI et al.,
12 2000). Os resultados do Projeto de Monitoramento Multinacional de Tendências e
13 Determinantes da Doença Cardiovascular da Organização Mundial da Saúde (OMS
14 MONICA) mostraram que as tendências de 10 anos na mortalidade por AVC diferiram nas
15 populações estudadas de vários países (TRUELSEN et al., 2003). Estudos de mortalidade a
16 curto ou longo prazo após AVC e fatores prognósticos relacionados foram relatados em vários
17 locais em todo o mundo; como o Projeto WHO MONICA (TRUELSEN et al., 2003),
18 abrangendo países europeus (ERIKSSON et al., 2001), EUA (COLLINS et al., 2003; PETTY
19 et al., 2000; VERMINO et al., 2003) e Austrália (HANKEY et al., 2000). Embora a idade e
20 fatores de risco para o AVCI tenham sido os principais preditores de morte no seguimento de
21 um mês, as comorbidades e variáveis associadas à doença vascular aterosclerótica previram
22 mortalidade a longo prazo (KOTON et al., 2010). A morte pós-AVC de curto prazo (variando
23 de uma semana a três meses) foi prevista por febre, idade, níveis plasmáticos de glicose, AVC
24 prévio, gravidade de déficit neurológico e tamanho da lesão (KOTON et al., 2010; HENON et
25 al., 1995). Já os fatores de risco para morte dentro de três anos após um AVCI incluem idade
26 avançada, subtipos de AVCI gravidade inicial do AVCI, AVCI prévio / AIT, diabetes *mellitus*
27 tipo 2 (DMT2) e doença cardíaca (ERICKSSON et al., 2001; COLLINS et al., 2003; PETTY
28 et al., 2000; VERMINO et al., 2003; HANKEY et al., 2000).

29 Apesar nos declínios das taxas de mortalidade no Brasil, o AVC continua sendo a
30 primeira causa de morte e incapacidade no país. Dados do estudo prospectivo nacional
31 indicaram uma incidência anual de 108 casos por 100 mil habitantes (BRASIL, 2013).

32 No Brasil, o AVC ocorre com maior frequência na faixa etária superior a 50 anos,
33 sendo responsável por 10% do total de óbitos, 32,6% das mortes com causas vasculares e
34 40% das aposentadorias precoces no Brasil. O país está posicionado entre os dez primeiros

1 com maiores índices de mortalidade por AVC (ABRAMCZUK; VILLELA, 2009). Em 2010,
2 segundo dados do Ministério da Saúde, o AVC foi responsável por 52,3 óbitos em 100 mil
3 habitantes, representando 10% das internações em hospitais públicos (BRASIL, 2013a),
4 apresentando um alto custo para o Sistema Único de Saúde (BOTELHO et al., 2016).

5 Os óbitos por AVC de pessoas com idades entre 20 e 59 anos corresponderam a 31,1%
6 do total de óbitos captados pelo Sistema de Informações de Mortalidade em 2010, com maior
7 proporção de mortes entre homens e no grupo etário de 50 a 59 anos. Apesar disso, a
8 população desconhece a doença, os fatores de risco são mal controlados, poucos centros têm a
9 estrutura e a organização necessárias para atender e tratar, de maneira adequada, os pacientes
10 em fase aguda da doença e poucos locais oferecem reabilitação a estes pacientes (CABRAL,
11 2009).

12 Em 2015, Bensenor e colaboradores, estimaram que 2.231.000 pessoas tiveram o
13 diagnóstico de AVC e 568.000 pessoas com incapacidade por AVC no Brasil. A prevalência
14 pontual foi 1,6% em homens e 1,4% em mulheres, e a de incapacidade 29,5% em homens e de
15 21,5% em mulheres. A prevalência aumentou com a idade, nos menos escolarizados,
16 residentes da zona urbana, sem diferenças pela cor da pele autodeclarada. O grau de
17 incapacidade pós-AVC não foi estatisticamente diferente segundo sexo, raça, nível de
18 educação ou área de moradia. Embora os dados sejam alarmantes, o Brasil vem seguindo uma
19 tendência já observada nos países desenvolvidos de queda das taxas de mortalidade por AVC.
20 Assim como a incidência, a mortalidade, nos últimos 30 anos, em países desenvolvidos, tem
21 declinado, principalmente, no Japão, América do Norte e Europa Ocidental e, na última
22 década, também na Europa Oriental, porque são locais onde surgem e primeiro se disseminam
23 os novos métodos preventivos (ABRAMCZUK, VILLELA, 2009). As curvas das taxas de
24 mortalidade nos países em desenvolvimento, especialmente na América Latina, têm
25 diminuído, ainda que menos pronunciadamente do que nos EUA e Canadá. Utilizando dados
26 oficiais de atestados de óbitos, um estudo das taxas de mortalidade por AVC no Brasil,
27 comparando o início das décadas de 1980, 1990 e 2000, demonstrou um declínio de 68,2 para
28 40,9 por 100.000 habitantes no período, com variações regionais (CABRAL, 2009).

29 No entanto, o total de óbitos atribuídos ao AVC, em números absolutos, tem
30 aumentado nas três últimas décadas. A aparente contradição se deve ao aumento da
31 expectativa de vida da população. Como os idosos representam o grupo mais acometido pela
32 doença, o número total de óbitos por AVC cresce em paralelo com o fenômeno demográfico
33 (ABRAMCZUK, VILLELA, 2009).

1.2 FATORES DE RISCO PARA AVCI

Os fatores de risco para a ocorrência do AVCI são classificados como não modificáveis e incluem idade, sexo, etnia e variantes genéticas (GUIMARÃES; AZEVEDO, 2010; JICKLING et al., 2010); destes, a idade é o mais importante (ROSAMOND et al., 2008; ALMEIDA; DAL PIZZOL; VALLER, 2012), e modificáveis que incluem hipertensão arterial sistêmica, dislipidemia, DM2, obesidade, sedentarismo, tabagismo, etilismo, hipovitaminose D, fibrilação atrial, uso de contraceptivo oral, terapia hormonal pós-menopausa, estenose carotídea, AVCI e AIT prévios (GO et al., 2014; BENJAMIN et al., 2018). A incidência do AVCI está relacionada aos fatores de risco mencionados e também ao Índice de Desenvolvimento Humano (IDH) elaborado pela Organização das Nações Unidas, entre outros, enquanto a letalidade estaria associada à eficácia do tratamento instituído (CABRAL, 2009). O Quadro 1 sumariza os principais fatores de risco modificáveis e não modificáveis associados com AVCI agudo.

Alterações metabólicas têm sido implicadas na patogênese e no prognóstico do AVCI. A presença de obesidade central, resistência à insulina, hipertensão arterial sistêmica e dislipidemia são alguns dos critérios que definem a síndrome metabólica, uma constelação de fatores de risco ao dano vascular (HANCHAIPHIBOOLKUL et al., 2013). Nosso grupo de estudo avaliou se a presença de síndrome metabólica influenciaria a incapacidade funcional de curto prazo dos pacientes com AVCI agudo. Os resultados mostraram que o grau de incapacidade após três meses do evento isquêmico, avaliado pelo mRS, não diferiu entre os pacientes com síndrome metabólica e sem síndrome metabólica. Embora os pacientes com AVCI e síndrome metabólica apresentassem aumento dos biomarcadores de estresse oxidativo, não houve influência na incapacidade de curto prazo e na sobrevivência dos mesmos (SIMÃO et al., 2015).

1 **Quadro 1** Principais fatores de risco modificáveis e não modificáveis associados com
 2 acidente vascular cerebral isquêmico agudo

MODIFICÁVEIS	NÃO MODIFICÁVEIS
Hipertensão arterial sistêmica Aterosclerose Diabetes mellitus tipo 2 Dislipidemia Fibrilação Atrial Tabagismo Sedentarismo Etilismo Obesidade Uso de contraceptivo oral Terapia reposição hormonal Hipovitaminose D Estenose carotídea Uso de drogas (cocaína, anfetamina) Depressão Distúrbios do sono	Idade Sexo Etnia História familiar de AVC AVC ou AIT prévios Genéticos Fator V de Leiden Mutação no gene da protrombina Deficiência de Proteína C Deficiência de Proteína S Deficiência de antitrombina Mutação no gene <i>MTHFR</i> (hiperhomocistenemia) Anemia falciforme CADASIL Doença de Fabry

3
 4 AVC: acidente vascular cerebral; AIT: acidente isquêmico transitório; MTHFR: 5,10-
 5 metilenotetrahidrofolato-redutase; CADASIL: Arteriopatia Cerebral Autossômica Dominante com
 6 Infartos Subcorticais e Leucoencefalopatia.

7 Fonte: Adaptado de Benjamin et al (2018); Guimarães; Azevedo (2010).

8
 9 O DMT2 é um fator de risco importante para o AVCI e, dada sua crescente
 10 prevalência impulsionada pelo envelhecimento e pelo aumento das taxas de obesidade,
 11 espera-se que o DMT2 contribua mais para a carga global de AVC (BENJAMIN et al., 2018).
 12 Além disso, o AVCI em pacientes com DMT2 parece ser de maior gravidade e resultar em
 13 maiores taxas de dependência e mortalidade (HATZITOLIOS et al., 2009). Portanto, o DMT2
 14 também é um fator prognóstico para o AVCI. Muitas vias deletérias envolvidas no DMT2
 15 contribuem para a piora do AVCI. Tanto a hiperglicemia como a hipoglicemia estão
 16 envolvidas na lesão cerebral após o AVCI. Isso inclui disfunção endotelial vascular, aumento
 17 da permeabilidade da barreira hematoencefálica (BHE), disfunção mitocondrial, estresse

1 oxidativo e inflamação sistêmica (SHUKLA et al., 2018). Além disso, a glicose plasmática
2 pode atravessar a BHE e promover o estresse oxidativo, devido ao comprometimento das
3 funções de eliminação de radicais livres e do ciclo da glutathione, induzindo osmolaridade
4 aberrante nas células cerebrais e promovendo a glicação de proteínas com a formação de
5 produtos finais de glicação avançada (TOMLINSON; GARDINER, 2008). Além disso, a área
6 de infarto é maior em pacientes com hiperglicemia do que nos pacientes com glicemia
7 normal, e o tamanho da penumbra aumenta linearmente com a hiperglicemia (ROSSO et al.,
8 2011). Outro estudo mostrou que o DMT2 não parece afetar a gravidade do AVCI, mas está
9 independentemente associado a um pior resultado funcional na alta hospitalar (TZIOMALOS
10 et al., 2014). Além disso, o tratamento prévio com agentes antidiabéticos em pacientes que
11 sofrem de AVCI pode resultar em um evento isquêmico menos grave, melhor resultado
12 funcional e baixo risco de mortalidade (DARSALIA et al., 2013; LI et al., 2010; MAGKOU;
13 TZIOMALOS, 2014; TZIOMALOS et al., 2015).

14 Estudos da *American Heart Association* indicam que negros apresentam risco de
15 AVCI duas vezes maior que outras etnias (*AMERICAN HEART ASSOCIATION STROKE*
16 *COUNCIL*, 2009). Observa-se nítida relação entre o nível socioeconômico e a prevalência de
17 AVCI. As regiões periféricas e menos favorecidas das grandes cidades apresentam um
18 número significativamente maior de casos de AVCI, sugerindo que o impacto dessa doença
19 em áreas desprovidas de recursos pode ser ainda maior (GARRITANO et al., 2012).

20 Em relação entre a pressão arterial apresentada na admissão hospitalar, o desfecho é
21 controverso. Maior pressão arterial diastólica (PAD) na admissão prediz mortalidade intra-
22 hospitalar em pacientes com AVCI, enquanto a pressão arterial sistólica (PAS) na fase aguda
23 não está associada a resultados a curto prazo (TZIOMALOS et al., 2015).

24 As mulheres têm maior risco de AVCI ao longo da vida e apresentam eventos
25 recorrentes com mais frequência do que os homens. Com as mulheres vivendo mais que os
26 homens, elas apresentam não apenas uma maior incidência de AVCI, mas também piores
27 prognósticos (DEHLENDORFF et al., 2015). No entanto, é necessário ter cuidado na revisão
28 dos estudos de resultados devido à variedade de variáveis de confusão que podem estar
29 presentes (MOZAFFARIAN et al., 2016), como a idade (REEVES; LISABETH, 2010).

30 Ao avaliarem o índice de massa corpórea (IMC) como marcador de prognóstico do
31 AVCI, estudos de coorte mostraram resultados diferentes. Enquanto alguns estudos
32 mostraram que os riscos de morte e incapacidade funcional em pacientes com sobrepeso e
33 obesos não diferiram significativamente dos pacientes com peso normal, outros mostraram
34 que pacientes com baixo peso tiveram maus resultados após o AVCI (SUN et al., 2017). Cada

1 diminuição em uma unidade de IMC foi associada a um aumento de 3% no mau prognóstico e
2 um aumento de 6% na mortalidade (SAINI et al., 2014). Uma razão para esse efeito no
3 prognóstico ruim pode ser que o baixo IMC possa resultar em riscos para a saúde, como baixa
4 massa muscular, associada à piora do estado nutricional, falta de condicionamento físico,
5 inflamação e alteração do ambiente hormonal (CASAS-VARA et al., 2012).

6 Transtornos respiratórios do sono têm sido cada vez mais reconhecidos como fatores
7 de risco para AVC. Pacientes com AVC têm maior prevalência de apneia do sono que podem
8 ter precedida ou desenvolvida como resultado de um AVC (CULEBRAS, 2015). Apneia do
9 sono também tem sido associada com múltiplos fatores maiores de risco para AVC, como a
10 hipertensão arterial sistêmica e fibrilação atrial (FA) que respondem favoravelmente ao
11 tratamento da apneia do sono (CULEBRAS, 2015). A apneia do sono não tratada está
12 associada a pior prognóstico funcional após o AVC e o seu tratamento adequado melhora a
13 recuperação do paciente e reduz o risco de recorrência (DAVIS et al., 2013). Outro estudo
14 verificou que a apneia obstrutiva do sono está associada com menor estado funcional e
15 cognitivo em pacientes admitidos para reabilitação após AVC e a sugere como um provável
16 fator prognóstico nestes pacientes (AARONSON et al., 2014). Pacientes da população
17 brasileira com AVCI agudo apresentaram alta frequência de transtornos respiratórios do sono
18 e a apneia grave do sono foi associada a um mau resultado funcional a longo prazo. O NIHSS
19 e a apneia do sono grave foram independentemente associados à maior incapacidade (mRS>2)
20 aos seis meses, após o ajuste para fatores de confusão (CAMILO et al., 2016).

21 Por outro lado, Festic e colaboradores em 2018, relataram que, apesar de apresentarem
22 mais doenças cardiovasculares e fatores de risco, os pacientes com AVCI agudo e apneia do
23 sono apresentaram lesão neurológica menos grave e menor mortalidade hospitalar do que os
24 pacientes sem histórico de apneia do sono, sugerindo um efeito potencial do pré-
25 condicionamento isquêmico em pacientes idosos com hipóxia intermitente devido à apneia do
26 sono e doenças cardiovasculares, e um possível "efeito duplo" da apneia obstrutiva do sono
27 que precisa ser mais explorado. Como os distúrbios do sono estão associados a resultados de
28 curto e/ou longo prazo de AVC, a triagem e a intervenção nos problemas de sono de pacientes
29 com AVC podem melhorar seu resultado (KIM et al., 2017).

30 O controle dos fatores de risco, a prevenção primária e secundária das doenças
31 circulatórias e a melhoria das condições socioeconômicas da população podem levar a uma
32 queda da mortalidade. Além disso, procedimentos de alta tecnologia (como angioplastia),
33 maior número de equipamentos nos hospitais para o diagnóstico mais preciso, como
34 tomografia computadorizada (TC) do crânio e ressonância nuclear magnética (RNM) e

1 atendimentos mais rápidos também contribuem para a redução da mortalidade. No entanto,
2 pelas suas dimensões, no Brasil há uma grande desigualdade regional, além de os recursos
3 destinados à saúde pública serem escassos, não sendo possível que a população de algumas
4 localidades seja contemplada com esses procedimentos (GARRITANO et al., 2012).

5 Os principais fatores que explicam o pior prognóstico após o AVCI em termos de
6 incapacidade e mortalidade, como idade ou gravidade inicial do AVCI, não são modificáveis.
7 No entanto, várias circunstâncias podem ocorrer após o AVCI e contribuir para esse pior
8 desfecho clínico, representando uma oportunidade única para pesquisadores e clínicos
9 intervir, visando melhorar o resultado do AVCI. Exemplos incluem complicações
10 neurológicas, como edema ou convulsões cerebrais, e complicações sistêmicas, como
11 infecções ou eventos cardíacos. De fato, a modificação dessas circunstâncias, por detecção e
12 tratamento precoces ou profilaxia em pacientes de alto risco, pode resultar em um melhor
13 resultado do AVCI (BUSTAMANTE et al., 2016).

14 15 **1.3 SUBTIPOS DE AVC**

16
17 A classificação do AVCI em subtipos é fundamental para o diagnóstico, tratamento e
18 prevenção da doença. Do ponto de vista etiológico, a mais utilizada é definida pelo TOAST,
19 publicada em 1993 (ADAMS et al., 1993), que inclui cinco categorias baseadas nos dados
20 clínicos, dos exames laboratoriais e de imagem. Esta classificação merece destaque por sua
21 praticidade e utilidade nos estudos que buscam os fatores de riscos genéticos para a doença e
22 suas influências na evolução clínica.

23
24 1) *Large artery atherosclerosis (LAAS)* é caracterizada por estenose (>50%) ou oclusão de
25 uma artéria cerebral maior ou de um ramo cortical, presumivelmente, causada pela
26 aterosclerose;

27 2) *Cardioembolic infarct (CEI)*: caracterizado por oclusões causadas por êmbolos
28 provenientes do coração;

29 3) *Lacunar infarct (LAC)*: oclusão de pequeno vaso, identificado em pacientes diabéticos e
30 hipertensos clinicamente, síndromes lacunares, apresentando exames de imagem (TC ou
31 RNM) normais ou com lesões relevantes subcorticais hemisféricas ou no tronco cerebral com
32 diâmetro menor que 1,5 cm;

33 4) *Stroke of other determined etiology (ODE)*: engloba pacientes com causas raras de AVC,
34 como as vasculopatias não ateroscleróticas, estados de hipercoagulação ou desordens

1 hematológicas. Os pacientes devem ter achados clínicos e TC ou RMN de AVCI agudo
2 independentemente do tamanho ou localização;

3 5) *Stroke of undetermined etiology (UDE)*: em várias situações, a causa do AVC isquêmico
4 não pode ser determinada com algum grau de confiabilidade, a despeito de extensiva
5 investigação.

6 Diferentemente do TOAST, o *Causative Classification System (CCS)* atribui o
7 subtipo mais provável com base em estimativas atualizadas associados a doenças cardíacas
8 específicas ou parâmetros clínicos ou de imagem conhecidos por serem mais comumente
9 associados a ismos específicos de AVC. A classificação fenotípica ASCO (*A: atherosclerosis;*
10 *S: small-vessel disease; C: cardiac pathology; O: other causes*) atribui um nível graduado de
11 certeza (intervalo de 1 a 3) para a presença de cada uma das quatro categorias de mecanismos
12 de AVC: aterotrombose (A), doença de pequenos vasos (S), cardioembolia (C) e outras causas
13 (O) (MARNANE et al., 2010).

14 O AVCI pode também ser classificado ainda em quatro subtipos, dependendo dos
15 sinais neurológicos iniciais 1: síndromes lacunares; 2: síndromes da circulação anterior total;
16 3: síndromes da circulação anterior parcial; e 4: síndromes da circulação posterior
17 (ALMEIDA; DAL PIZZOL; VALLER, 2012).

18 A associação entre os subtipos de AVCI e o resultado do evento foi investigada, mas
19 resultados conflitantes foram relatados. Estudo anterior mostrou que o subtipo de AVCI de
20 acordo com os critérios do TOAST, era um preditor significativo de sobrevida a longo prazo e
21 os pacientes com o subtipo LAC tinham três vezes mais chances de estar vivos do que aqueles
22 com CEI; no entanto, o subtipo não foi um preditor significativo de recorrência a longo prazo
23 até dois anos, antes e depois do ajuste por idade e sexo (KOLOMINSKY-RABAS et al.,
24 2001).

25 Um estudo realizado por nosso grupo de pesquisa (LEHMANN et al., 2015)
26 demonstrou que pacientes com os subtipos LAAS, CEI e LAC, quando comparados a
27 controles saudáveis, mostraram maior contagem de leucócitos periféricos e níveis mais
28 elevados de proteína C reativa (PCR), interleucina 6 (IL-6), matriz de metaloproteinases
29 (MMP)-9, glicose e ferro e níveis menores de (*High Density Lipoprotein*) HDL-colesterol;
30 plaquetas, insulina, e resistência à insulina e homocisteína foram maiores nos pacientes com
31 LAC; ferritina foi maior nos pacientes com LAAS, e colesterol total foi menor nos pacientes
32 com LAAS e CEI. Quando os subtipos de AVCI foram comparados entre si, insulina foi mais
33 elevada entre os pacientes com LAAS *versus* CEI e nos pacientes com LAC *versus* CEI; além
34 disto, colesterol total foi menor nos pacientes com LAAS *versus* LAC. Os autores

1 demonstraram, também, que prognóstico e a taxa de mortalidade após três meses do AVCI
2 foram maiores nos pacientes com LAAS quando comparados com LAC.

3 Por outro lado, uma análise retrospectiva mostrou que os pacientes com a classificação
4 UDE apresentaram uma taxa de mortalidade significativamente maior do que aqueles com
5 LAC e LAAS (WEI et al., 2018). Além disso, esses autores também identificaram que certos
6 fatores de risco e mortalidade em três meses diferem significativamente entre os diferentes
7 subtipos de TOAST de AVCI. Enquanto idade, história de hipertensão arterial sistêmica,
8 glicemia alta, colesterol alto, ácido úrico alto gravidade do AVCI foram associados à
9 mortalidade em três meses em pacientes com LAAS, idade e colesterol alto foram associados
10 a esse resultado em pacientes com o subtipo LAC (WEI et al., 2018).

11 12 **1.4 AVALIAÇÃO DA GRAVIDADE DO AVCI E INCAPACIDADE FUNCIONAL DO PACIENTE**

13
14 A avaliação da gravidade do evento isquêmico pode ser realizada por meio de escalas
15 padronizadas. Uma das mais utilizadas para avaliação da gravidade e para acompanhamento
16 da evolução clínica do paciente com AVCI é *National Institute of Health Stroke Scale*
17 (NIHSS) que quantifica o déficit neurológico logo após a ocorrência do AVCI (BROTT et al.,
18 1989). O NIHSS foi a primeira escala validada usando dados de um ensaio clínico visando
19 efeito terapêutico positivo, em pacientes tratados com ativador de plasminogênio tecidual
20 (tPA) (LYDEN P et al.,1999). Esta escala enfatiza os mais importantes tópicos do exame
21 neurológico com o objetivo de uniformizar a linguagem dos profissionais de saúde e tem sido
22 relacionada com gravidade, definição de tratamento e prognóstico. Deve ser aplicada na
23 admissão do paciente e a cada hora nas primeiras seis horas; depois a cada seis horas nas
24 primeiras 18 horas (BROTT et al., 1989).

25 O NIHSS é uma escala para exame neurológico de 15 itens que avalia: consciência,
26 movimentos oculares, campos visuais, deficiências motoras e sensoriais, ataxia, fala, cognição
27 e desatenção. Cada item pontua uma habilidade específica entre 0 e 4. Para cada item, uma
28 pontuação 0 indica função normal nessa capacidade específica, enquanto uma pontuação mais
29 alta indica um certo nível de comprometimento (Anexo 1). Ao final, os pacientes são
30 pontuados de zero (sem déficit) a 42 (maior déficit) (BROTT et al., 1989). A gravidade do
31 AVCI tem sido definida com diferentes pontos de corte na literatura. Yaghi e colaboradores
32 2015, consideram que uma pontuação no NIHSS menor ou igual a 7 é indicativo de déficit
33 neurológico leve, entre 8 e 14 déficit neurológico moderado e igual ou acima de 15 pontos

1 déficit neurológico grave Pacientes com pontuação NIHSS ≥ 21 foram definidos como tendo
2 um resultado ruim, caso contrário, um bom resultado (HARRISON et al., 2013).

3 A avaliação do estado de incapacidade funcional é realizada pela escala de Rankin
4 modificada (mRS) que fornece informações sobre o padrão de recuperação da função motora
5 após o AVCI auxiliando na previsão do resultado individual dos pacientes sobreviventes um
6 mês e seis meses após o quadro isquêmico (BONITA; BEAGLEHOLE, 1988). A mRS avalia
7 o comprometimento funcional do paciente de 0 (assintomático) a 6 (morte) (Anexo 2).
8 Também há diferentes pontos de corte na literatura para categorizar os pacientes de acordo
9 com o mRS. Pacientes com uma pontuação na mRS < 3 foram considerados com bom
10 resultado e pacientes com uma pontuação na mRS ≥ 3 foram definidos como tendo um
11 resultado ruim (HARRISON et al., 2013). O tempo para aplicação desta escala para avaliação
12 dos resultados funcionais a longo prazo também é um fator que diverge entre os estudos
13 publicados, tendo variado de três a 15 meses (BUSTAMANTE et al., 2016).

15 1.5 EXAMES DE IMAGEM NO AVCI

17 1.5.1 Ultrassonografia com *Doppler* colorido

18 A ultrassonografia com *Doppler* colorido (USGD) é um método seguro, não invasivo,
19 preciso e que consome pouco tempo e recurso no diagnóstico da estenose carotídea (Figura 1).
20 A importância da USGD em pacientes com AVCI tem sido destacada, especialmente na
21 triagem e vigilância dos vários fatores de risco que predispõem a isquemia cerebral. Indica
22 uma tendência a triagem de rotina cada vez mais rigorosa para os pacientes de alto risco,
23 diminuindo a possibilidade da ocorrência de AVCI (HAQ et al., 2017).

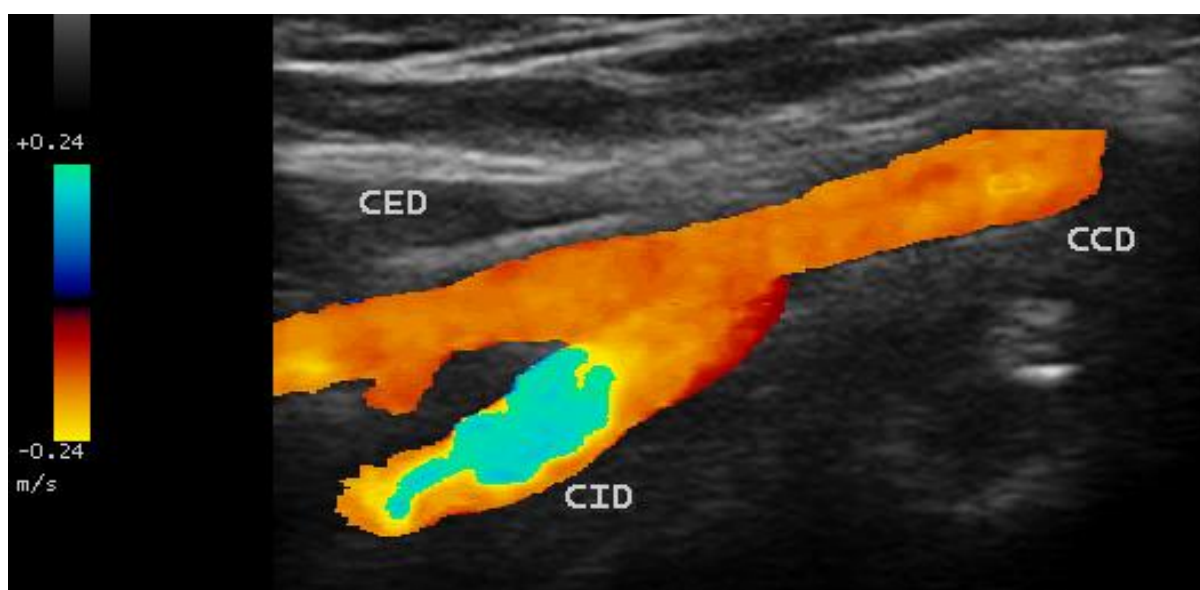
24 O exame de USGD das carótidas é uma ferramenta de diagnóstico confiável, com um
25 papel importante no diagnóstico e classificação da estenose carotídea, correlacionando-se bem
26 com a arteriografia (PETISCO et al., 2015). A triagem de rotina de pacientes assintomáticos
27 não parece necessária, mas nos pacientes com suspeita de estenose carotídea ou aterosclerose
28 conhecida em outro leito vascular, a identificação da estenose carotídea permite o tratamento
29 oportuno adequado e a prevenção do AVCI. Em pacientes após AIT ou AVCI, a
30 ultrassonografia carotídea ajuda a estabelecer sua etiologia, a escolha do melhor tratamento e
31 a evitar recorrência (LORENZOVÁ, 2016). Nos pacientes com alto risco de doença
32 aterosclerótica a triagem com USGD parece adequada. Também existem evidências
33 crescentes de que a triagem carotídea possa ser usada em conjunto com os escores de risco
34

1 tradicionais para prever com mais precisão o risco de doenças cardiovascular (MORTIMER et
2 al., 2017)

3 Fernandes e colaboradores (2016) relataram maior incidência de AVC na população
4 masculina dentro da faixa entre os 60 e os 69 anos. Os fatores de risco mais relevantes foram
5 hipertensão, diabetes mellitus, tabagismo e histórico familiar de AVC. Dos 50 pacientes
6 selecionados, 12 apresentavam estenose significativa (> 60%). Placas ateroscleróticas foram
7 observadas em 39 pacientes (78%). Os autores concluíram que a USGD é um método
8 econômico, seguro, reproduzível e adequado para estudo da insuficiência cerebrovascular
9 decorrente de lesões das porções extracranianas da artéria carótida, auxiliando a indicação
10 correta das modalidades de tratamento.

11

12 **Figura 1** Bifurcação carotídea vista no exame de ultrassonografia com *Doppler* (USGD)
13 colorido.



14

15 A velocidade (em m/s) é visualizada pelo exame de USGD colorido pelo gradiente de coloração.
16 Quanto mais alta a velocidade, mais clara a imagem é visualizada. CED: carótida externa direita; CID:
17 carótida interna direita; CCD: carótida comum direita.

18 Fonte: próprio autor (2018)

19

20 **1.5.2 Espessura da camada médio-intimal (cIMT) da carótida**

21

22 A cIMT da artéria carótida comum, conforme determinado pela USGD modo B de
23 alta resolução, é reconhecida como uma ferramenta útil para a identificação precoce da
24 aterosclerose sistêmica (LORENZ et al., 2007, 2012; POLAK; O'LEARY, 2016; SANTOS;

1 DOS SANTOS NETO; SANTOS, 2018). Sua espessura é um fenótipo intermediário de
2 aterosclerose precoce, cujas medidas ultrassônicas correlacionam-se bem com as histológicas
3 (PIGNOLI et al., 1986). A medida da cIMT é segura, por ser método não invasivo, facilmente
4 reproduzível, confiável e econômico, não submetendo o paciente a radiação, sendo adequado
5 para a prática de rotina para a avaliação da presença de aterosclerose subclínica (NEZU et al.,
6 2016). Casella e colaboradores, 2015, concluíram que avaliar a cIMT melhora a qualidade do
7 exame com pequeno aumento do tempo total do procedimento. A mensuração da cIMT tem
8 sido empregada para avaliar a aterosclerose sistêmica e o risco cardiovascular em adultos
9 (BALDASSARRE et al., 2000).

10 O USGD exhibe a parede vascular como um padrão regular que se correlaciona com as
11 camadas anatômicas. A porção médiointimal desse padrão é representada pela área de tecido
12 que começa na borda luminal da artéria e termina na fronteira entre a média e a adventícia.

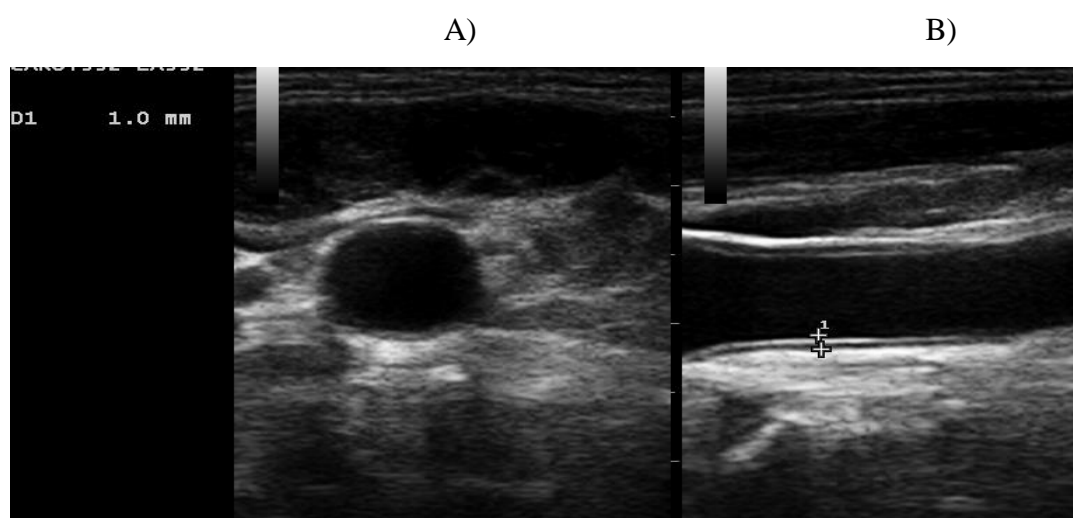
13 A cIMT é medida entre as interfaces lúmen-íntima e médio-adventícia da parede da
14 artéria carótida, representadas como uma densidade de linha dupla na imagem do ultrassom.
15 A precisão da medição da cIMT da parede posterior da artéria carótida comum (ACC) foi
16 validada confrontando amostras histológicas como representação verdadeira da espessura
17 biológica do vaso (PIGNOLI et al., 1986). Pelo menos três medições são realizadas na parede
18 posterior de cada segmento da ACC, 1 cm antes da bifurcação, sendo calculada a média de
19 ambos os lados para obter o cIMT médio. Quando a placa estava presente no segmento
20 utilizado para medir a média de IMT, a espessura da placa pode ser adicionada para a média na
21 mensuração da cIMT (IKEDA et al., 2001)

22 Com o aumento da idade, a cIMT mostrou espessamento uniforme em segmentos
23 arteriais, mais acentuado na presença de fatores de risco de aterosclerose. Fases posteriores da
24 aterosclerose (placa, estenose, oclusão) também podem ser identificadas por exames de
25 USGD, na ausência ou coincidentes do aumento da cIMT.

26 A medida da cIMT é realizada dentro de uma região livre de placa, em linha dupla
27 claramente identificada. 1) A cIMT deve ser medida preferencialmente na parede oposta da
28 ACC a pelo menos 5 mm abaixo de sua extremidade. 2) A cIMT pode ser medida na
29 bifurcação carotídea ou no bulbo da carótida interna (CI) em uma região livre de placa. 3) Ao
30 longo de 10 mm de comprimento de um segmento arterial reto, é necessária uma aquisição de
31 imagem de alta qualidade para medições seriadas reproduzíveis. Em caso de tortuosidade do
32 vaso, as medidas de cIMT só são possíveis em um segmento de vaso mais curto,
33 especialmente na bifurcação carotídea ou no bulbo da CI. 4) Para placa: espessura máxima
34 requer demonstração de dois ângulos diferentes, em vistas longitudinais e transversais.

1 Na caracterização pela USGD nota-se: 1) cIMT é um padrão de dupla linha paralela,
2 que consiste nas bordas principais de dois limites anatômicos: as interfaces lúmen-íntima e
3 média-adventícia (caracterizado na Figura 2); 2) a placa é uma estrutura focal que invade o
4 lúmen arterial de pelo menos 0,5 mm ou 50% do valor de cIMT circundante, ou demonstra
5 uma espessura de 1,5 mm como medido da interface média-adventícia para a interface íntimo
6 luminal (TOUBOUL et al., 2012).

7
8 **Figura 2** Espessura da camada médiointimal da artéria carótida comum (ACC).



11 Corte transversal (A) e corte longitudinal (B). Leitura do padrão de dupla linha paralela, que consiste
12 nas bordas principais de dois limites anatômicos: as interfaces lúmen-íntima e média-adventícia. Nesta
13 figura, a espessura médio-intimal foi 1,0 mm.

14 **Fonte:** próprio autor (2018)

15
16 A cIMT está associada a outras doenças crônicas como artrite reumatóide, arterite de
17 Takayasu e infecções crônicas, e a vários fatores como envelhecimento, alterações vasculares
18 e doença cardiovascular (KUMEDA et al., 2002; LEINONEN; SAIKKU, 2002; NUMANO
19 et al., 2000).

20 A mensuração da cIMT pode identificar indivíduos com risco de eventos
21 cardiovasculares futuros (POLAK; O'LEARY, 2016). Medidas aumentadas são associadas a
22 fatores de risco vasculares (CHAMBLESS et al., 1997) e a presença de aterosclerose mais
23 avançada, incluindo doença arterial coronariana (LORENZ et al., 2007; ROSVALL et al.,
24 2005).

25 O espessamento da íntima-média é acelerado e aumentado na presença de fatores de
26 risco de aterosclerose. Fases posteriores da aterosclerose (placa, estenose, oclusão) também

1 podem ser identificadas por exames de USGD, na ausência ou coincidentes do aumento da
2 cIMT.

3 A cIMT é considerada um marcador para doença cardiovascular aterosclerótica e seu
4 aumento proporcional é associado a um número de eventos cardiovasculares na população em
5 geral (EBRAHIM et al., 1999; O'LEARY et al., 1999), bem como risco de eventos
6 cardiovasculares, incluindo AVCI (KAWAI et al., 2003; YOON et al., 2017; ZHANG et al.,
7 2018).

8

9 **1.5.3 Padronização da cIMT**

10

11 A controvérsia em torno da utilidade da medição da cIMT na estratificação de risco
12 parece resultar da falta de metodologia uniforme usada nos estudos da cIMT. As medidas de
13 cIMT no bulbo carotídeo e na ACI são mais úteis que a ACC, tanto para classificação e
14 previsão de risco, provavelmente, porque espessamento íntimo e placas se formam no bulbo e
15 na ACI. A avaliação da espessura da placa é uma medida melhor da aterosclerose e do risco
16 cardiovascular do que uma simples avaliação da presença ou ausência de placas. A avaliação
17 combinada de cIMT e placa parecem melhor do que qualquer uma das medidas isoladamente.
18 A progressão e regressão da placa avaliada pelo exame de USG 3D podem servir como uma
19 ferramenta poderosa para avaliar o efeito da terapia em doenças cardiovasculares (NAQVI;
20 LEE, 2014).

21 A relação entre cIMT e eventos cardiovasculares é conhecida e determinar um
22 limiar para alto risco cardiovascular é bastante estudado. Embora um cIMT $>0,9$ mm tenha
23 sido considerado alterado e correlacionado com anormalidades existentes (MANCIA et al.,
24 2013; WILLIAMS et al., 2018), seu limite superior varia com a idade. Pode-se classificar
25 como normal a cIMT $<0,9$ mm e patológico a cIMT $\geq 0,9$ mm (WILLIAMS et al., 2018).
26 Outros autores consideram medições do IMT iguais ou superiores a 1,00 mm como anormais
27 (SALONEN, 1993).

28 Um protocolo para uma avaliação mais sensível da espessura das cIMT das
29 carótidas comuns foi realizado em 206 pacientes e 66,3% das artérias carótidas apresentavam
30 cIMT superior a 1 mm (CASELLA et al, 2008)

31 A definição de um cIMT anormal também difere entre os estudos. Alguns usam uma
32 definição de cIMT maior que o percentil 75 (STEIN et al., 2008; ALI et al., 2006). Outras
33 definições incluem um cIMT que é > 1 desvio padrão (DP) da média ou cIMT no quartil
34 superior ou no tercil superior, ou um valor absoluto de cIMT igual ou superior a 0,9 mm ou

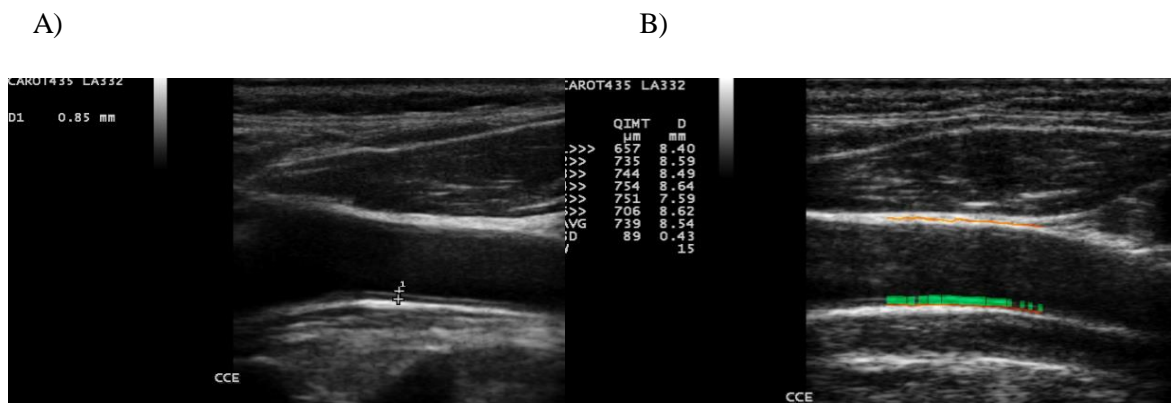
1 ≥ 1 mm (PRICE et al., 2007; CHAMBLESS et al., 1997.) O consenso da Sociedade
 2 Americana de Ecocardiografia recomenda o uso de cIMT maior que o percentil 75 para idade,
 3 etnia e sexo como anormais (STEIN et al., 2008).

4 A classificação dos achados do cIMT em valores saudáveis e patológicos varia
 5 consideravelmente dependendo do protocolo de medição cIMT. Portanto, é necessário tirar
 6 conclusões da cIMT medida, considerando o protocolo subjacente. Todo leitor deve prestar
 7 atenção que o mesmo valor de medição em dois estudos diferentes pode ser considerado
 8 normal por um e patológico por outro. Atualmente, existem duas possibilidades principais
 9 para a avaliação dos valores cIMT: a) utilização de valores de corte fixos ou b) distribuição de
 10 percentis. Para valores de corte fixos foi estabelecido um valor prognóstico para previsão de
 11 eventos cardiovasculares futuros.

12 Em uma coorte de 9.792 indivíduos com dados completos e medições da cIMT no
 13 Estudo Longitudinal de Saúde do Adulto (ELSA-Brasil); constatou-se que aumento de 60%
 14 da cIMT da ACC não foram explicadas por fatores de risco cardiovasculares demográficos e
 15 tradicionais, o que destaca a necessidade de estudar novos fatores de risco (SANTOS et al.,
 16 2015)

17 Originalmente, as medições de cIMT eram realizadas através de um método manual
 18 que podia ser integrado em sistemas de ultrassom ou por software adicional adquirido.
 19 Entretanto, nos últimos anos, foi possível demonstrar que o método manual está associado a
 20 uma maior subjetividade do leitor em comparação com o software de medição automática ou
 21 semiautomática (correção automática + manual), conforme ilustra a Figura 3 (KANTERS et
 22 al., 1997).

23
 24 **Figura 3** Espessura médiointimal da carótida (cIMT) medida de forma manual (A) e
 25 automática (B) no corte longitudinal



Fonte: próprio autor (2018)

1 Segundo alguns autores, a relação da cIMT com o risco cardiovascular é contínua e
2 dicotomizar esse parâmetro (isto é, determinar um valor limiar da cIMT) estaria incorreto. No
3 entanto, deve-se notar que nas últimas diretrizes da *European Society of Hypertension* (ESH) /
4 *European Society of Cardiology* (ESC) para hipertensão arterial, em 2013 (MANCIA et al.,
5 2013), a cIMT > 0,9 mm foi confirmada como um marcador de lesão de órgão assintomática,
6 embora tenha sido comprovado que em pacientes de meia idade e idosos, o limiar dos valores
7 que indicam alto risco cardiovascular é maior (O'LEARY et al, 1999; ZANCHETTI et al.,
8 2009).

9 Para alguns autores, medições de cIMT $\geq 1,00$ mm são aceitas como anormais
10 (SALONEN, SALONEN, 1993) e níveis de *cut-off*, cIMT $\geq 1,0$ mm foram considerados
11 patológicos (BONGIOVANNI et al., 2008), sendo fatores associados como idade, sexo
12 masculino, hipertrigliceridemia e aumento dos níveis de glicose. Pirs e colaboradores (2014)
13 consideraram como alterada cIMT >0,8 mm, com base em estudos prévios (O'LEARY et al.,
14 1999). Já para outros, valores de cIMT <0,9 mm são considerados valores normais e cIMT
15 $\geq 0,9$ mm são considerados patológicos (WILLIAMS et al., 2018). Segundo as diretrizes
16 brasileiras, o aumento da cIMT acima de 1,0 mm é considerado um dos fatores agravantes que
17 reclassificam os indivíduos em grupo de risco intermediário para alto risco (SIMÃO et al.,
18 2013).

19 Estudo argentino realizado com 1012 indivíduos de uma população saudável de 11 a
20 81 anos mediu as cIMT e definiu não valores absolutos, mas sim percentis de normalidade por
21 idade e sexo, para carótida comum direita e carótida comum esquerda (DIAZ et al., 2018).

22 A definição da placa utilizada em alguns estudos pode representar aumento da cIMT.
23 Alguns autores definem placas como cIMT >1,2 mm (HANDA et al., 1990). Outros,
24 subjetivamente, definem as placas como presentes ou ausentes (POLAK et al., 1993). Outros
25 autores definem a placa como um espessamento focal da média íntima > 1 mm, projetando-se
26 para o lúmen que é, pelo menos duas vezes mais espesso que a cIMT de ambos os lados
27 (BARNETT et al., 1997). Já o Consenso Europeu de Mannheim definiu a placa como um
28 espessamento focal que invade o lúmen em 0,5 mm ou 50% da cIMT circundante ou onde a
29 cIMT é > 1,5 mm (TOUBOUL et al., 2006).

30 A placa aterosclerótica é definida como qualquer medida de cIMT superior a 1,5 mm,
31 ou uma estrutura focal da parede interna do vaso mais espessa que 0,5 mm em comparação
32 com a cIMT circundante (PERK et al., 2012).

33 Yue e colaboradores (2016) estudaram a correlação da espessura íntimo-média da
34 carótida e a função cognitiva em uma população de AVC. Foi observada uma associação

1 positiva forte entre cIMT e comprometimento cognitivo em pacientes com AVC isquêmico
 2 agudo. Neste estudo o aumento da cIMT foi correlacionado com comprometimento cognitivo
 3 em pacientes com AVC acima de 18 anos, que foi independente de fatores de confusão
 4 conhecidos, como idade, sexo, parâmetros sanguíneos, escolaridade, estado civil, uso de
 5 álcool, uso de tabaco, atividade física, histórico de hipertensão arterial sistêmica, DMT2,
 6 hipercolesterolemia, FA, doença arterial coronariana, subtipos de AVC e pontuação no
 7 NIHSS. Seus dados foram consistentes com resultados publicados anteriormente em estudo
 8 realizado em Rotterdam, onde também se observou uma forte associação entre cIMT e risco
 9 de comprometimento cognitivo (HOFMAN et al., 2007)

10

11 **1.5.4 Grau de Estenose**

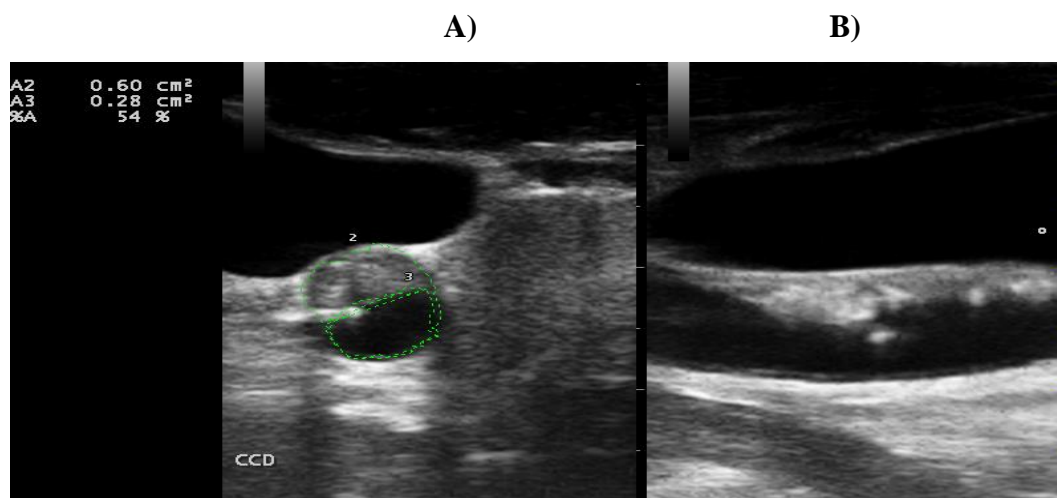
12

13 O bulbo carotídeo foi o local mais comum de formação de placas. Lesões
 14 ateroscleróticas predominam em áreas de baixa tensão de cisalhamento que geralmente
 15 dependem do fluxo sanguíneo como a bifurcação das carótidas. Esse processo promove
 16 aterosclerose por vários mecanismos como o comprometimento da função endotelial, aumento
 17 da absorção endotelial de lipoproteína de baixa densidade (LDL) e aumento da
 18 trombogenicidade da placa (BAKER et al., 2011). A Figura 4 ilustra a mensuração do grau de
 19 estenose pelo exame de USGD.

20

21 **Figura 4** Medida da porcentagem do grau de estenose no exame de ultrassonografia com
 22 *Doppler* (USGD) no modo B

23



24

25 A): corte transversal; B): placa longitudinal. Esta figura demonstra duas medidas da área da carótida
 26 comum direita (CCD): leitura A2: 0,60 cm²; leitura A3: 0,28 cm²; porcentagem de estenose: 54%.

27

Fonte: próprio autor (2018)

1 É de fundamental importância identificação das estenoses >50% em pacientes
2 sintomáticos e, em especial >70% nos assintomáticos, uma vez que esses pacientes podem ser
3 candidatos à intervenção cirúrgica ou endovascular. Em estudo conduzido por Campos e
4 colaboradores (2004), pacientes sintomáticos com estenose >70% tiveram clara indicação
5 para endarterectomia, enquanto pacientes sintomáticos com estenoses <50% não se
6 beneficiariam da cirurgia e receberam somente tratamento clínico. Para pacientes
7 assintomáticos, estenoses <60% mantiveram melhores resultados com tratamento clínico e
8 pacientes com estenoses >60% tiveram benefícios significativos com endarterectomia.

9 Segundo outros autores, o critério para realização da angioplastia em pacientes
10 assintomáticos é a identificação de estenose $\geq 80\%$ na artéria carótida interna ipsilateral; e no
11 grupo de pacientes sintomáticos, lesão $\geq 50\%$ (SANCHEZ et al, 2008).

12 Costa e colaboradores (2019) encontraram em uma amostra que a presença de estenose
13 $\geq 50\%$ foi o único fator de risco associado ao AVC; 27,3% dos pacientes com estenose $\geq 50\%$
14 desenvolveram AVCI em algum momento do período perioperatório, demonstrando forte
15 associação entre estenose e dano neurológico. No resultado deste estudo, a incidência de
16 AVCI foi de 4,56%, enquanto a incidência de estenose carotídea $\geq 50\%$ foi de 7,46%. O fator
17 de risco significativo para AVC perioperatório em cirurgia cardíaca foi estenose carotídea
18 $\geq 50\%$, enquanto os fatores associados à estenose $\geq 50\%$ foram arteriopatia extracardíaca,
19 infarto do miocárdio recente, DMT2, doença pulmonar obstrutiva crônica e maior
20 EuroSCORE II.

21 Em resumo, a USGD tem sido o exame diagnóstico de escolha na triagem da avaliação
22 da estenose da artéria carótida interna. Estudos randomizados demonstraram benefício da
23 endarterectomia de carótida em pacientes sintomáticos com estenose entre 70% e 99% e em
24 alguns com estenose entre 50% e 69%, assim como em pacientes assintomáticos com estenose
25 $\geq 60\%$ (NASCET, 1991; ECST COLLABORATIVE GROUP, 1991). Como as indicações
26 para endarterectomia em pacientes assintomáticos não são tão robustas, alguns autores
27 reservam intervenção para pacientes selecionados com estenose $\geq 80\%$ (FARIES et al., 2006).

29 **1.5.5 Espessura da cIMT, grau de estenose da carótida e o prognóstico de AVC**

30
31 Tanto a cIMT quanto a estenose carotídea têm sido usadas para prever o risco
32 cardiovascular, com um valor preditivo significativo para AVCI e infarto do miocárdio,
33 independente dos fatores de risco cardiovascular tradicionais (SEHESTEDT et al., 2010;
34 NAMBI et al., 2010). No entanto, seu papel potencial na previsão do resultado de pacientes

1 com AVCI não foi extensivamente avaliado. Estenose de alto grau da artéria carótida foi
2 encontrada em um quarto dos pacientes com AVCI e FA não valvar e estava relacionada a
3 mais infarto cortical e pior resultado clínico (CHANG et al., 2002). Ambos os biomarcadores
4 de imagem, placa carotídea e cIMT, mostraram apenas tendências não significativas de maior
5 risco de mortalidade após o ajuste para fatores de risco tradicionais (KAWAI et al., 2003).
6 Outro estudo mostrou uma associação entre o número da placa carotídea e o prognóstico a
7 longo prazo em pacientes com AVCI, mas com fibrilação atrial (PARK et al., 2019).

8

9

1 1.6 FISIOPATOLOGIA DO AVCI

2

3 O AVCI é orquestrado pela interação complexa entre muitos tipos celulares, incluindo
4 células endoteliais, a BHE, a matriz extracelular e o sistema imunológico (FU et al., 2015). A
5 inflamação predispõe ao AVCI e pode dirigir diretamente muitos aspectos patogênicos da
6 isquemia. Várias revisões excelentes descreveram as associações entre inflamação e AVCI
7 (FU et al., 2015; HAGBERG et al., 2015; JIN et al., 2010).

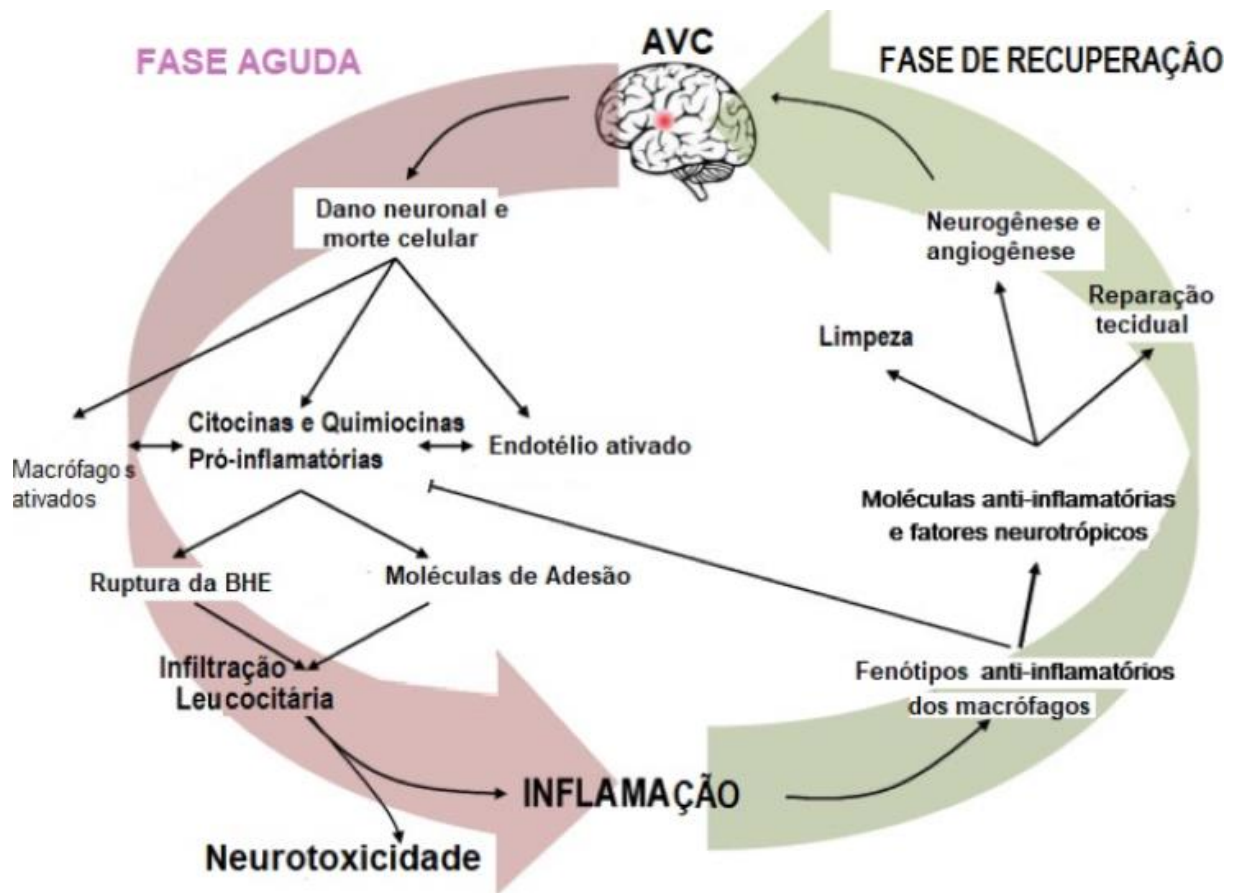
8 O processo inflamatório após um AVCI ocorre em três fases de duração cada vez
9 maior: iniciação (horas), propagação (dias) e resolução (semanas). Cada fase está associada a
10 um padrão distinto de resposta da célula imune e moléculas de sinalização extracelular. Como
11 esperado, a imunidade adaptativa é ativada durante a fase de propagação após uma resposta
12 imune inata inicial. Em teoria, qualquer uma das três fases pode ser direcionada clinicamente;
13 no entanto, limitar a extensão da inflamação ou a sua duração durante a fase de propagação é
14 mais prático (PETROVIC-DJERGOVIC et al., 2016; RAYASAM et al., 2017). A Figura 5
15 demonstra os principais mecanismos da resposta inflamatória envolvidos nas fases aguda e de
16 recuperação após o AVCI.

17 O AVCI desencadeia essa resposta inflamatória, como resultado de vários fatores,
18 como células e detritos necróticos e espécies reativas de oxigênio (ERO). Esses fatores
19 desencadeantes levam à ativação microglial com a geração de citocinas e indução de
20 moléculas de adesão na vasculatura cerebral, tudo dentro de 24 horas após o insulto isquêmico
21 (BECKER, 1998). A regulação positiva de quimiocinas estimula a quimiotaxia de células
22 inflamatórias no cérebro isquêmico, especialmente ao redor da penumbra ou na borda do
23 infarto. As moléculas de adesão nos endotélios ativados, por sua vez, levam à adesão de
24 leucócitos circulantes, causando oclusão microvascular e infiltração de células imunes no
25 parênquima cerebral (HALLENBECK, 1996). As células inflamatórias ativadas elaboram
26 uma variedade de moléculas citotóxicas, como citocinas pró-inflamatórias, MMPs, óxido
27 nítrico e mais ERO. Essas moléculas, por sua vez, potencializam danos às células cerebrais,
28 incluindo rompimento da BHE e matrix extracelular (DANTON; DIETRICH, 2003).

29

30

1 **Figura 5** Principais mecanismos de resposta inflamatória no acidente vascular cerebral
 2 isquêmico



3

4

5

6 AVC : acidente vascular cerebral; BHE : barreira hematoencefálica;

7 **Fonte :** Adaptado de SIMATS *et al.* (2016)

8

9

10 Sob condições inflamatórias como AVCI, a BHE perde parte de suas propriedades de
 11 barreira mediadas por leucócitos, induzindo a expressão de selectinas e integrinas pelas
 12 células endoteliais e secreção de mediadores pró-inflamatórios como fator de necrose tumoral
 13 (TNF)- α , interleucina (IL)-1 β , IL-6, proteína quimioatraente de monócito 1 (MCP-1),
 14 quimioatraente de neutrófilo induzido por citocinas e prostaglandinas (JIN *et al.*, 2010). A
 15 maioria das citocinas pró-inflamatórias como TNF- α , IL-1 e IL-6 que foram detectadas no
 16 cérebro, no líquido cefalorraquidiano (LCR) e em amostras de sangue periférico de pacientes
 17 que sofrem de AVCI agudo são responsáveis pela extensão da zona de infarto em modelos
 18 animais (LAMBERTSEN *et al.*, 2012).

1 O TNF- α possui um papel duplo: pode exacerbar e reduzir a evolução do infarto. O
2 bloqueio do TNF- α com anticorpos monoclonais específicos confere neuroproteção
3 (LAMBERTSEN et al., 2012). Por outro lado, o TNF- α produzido pelas células microgliais
4 pode exercer efeito protetor nos neurônios isquêmicos (LAMBERTSEN et al., 2009).

5 A IL-1 é uma citocina pró-inflamatória, que existe em duas formas, IL-1 α e IL-1 β .
6 Ambas as formas sinalizam através do receptor de IL-1 tipo I, que pode ser bloqueado
7 competitivamente pelo antagonista do receptor (IL-1Ra) (MURRAY et al., 2015). Os níveis
8 de IL-1 α e IL-1 β são elevados nas primeiras horas após um AVCI. IL-1 α é secretada
9 principalmente pela micróglia (LUHESHI et al., 2011). A IL-1 não é diretamente tóxica, mas
10 é capaz de ativar astrócitos e endotélio favorecendo a astrogliose, liberação de quimiocinas,
11 ativação da MMP-9 e liberação de molécula de adesão celular vascular 1 (VCAM-1) e
12 molécula de adesão intercelular 1 (ICAM-1) (THORNTON et al., 2008; HERX; YONG,
13 2011; ALLEN et al., 2012).

14 Um estudo realizado pelo nosso grupo de pesquisa (DE SOUZA PARREIRA et al.,
15 2015) demonstrou uma interação de fatores genéticos e resposta inflamatória na ocorrência de
16 AVCI, e, que pacientes com AVCI apresentaram maiores níveis de TNF- α desde que fossem
17 homozigotos para o alelo TNFB2 da variante genética *TNFB NcoI G>A* (rs909253). Em outro
18 estudo, demonstramos que a ativação da resposta imune-inflamatória periférica, associado ao
19 estresse oxidativo e alterações bioquímicas foram associados com a mortalidade após três
20 meses em pacientes com AVCI. Neste estudo, níveis plasmáticos elevados de IL-6, glicose,
21 hidroperóxidos e níveis diminuídos de 25- hidroxivitamina D foram os melhores preditores de
22 mortalidade após três meses do AVCI (REICHE et al., 2019).

23 No entanto, a elevada heterogeneidade dos resultados nos níveis de citocinas
24 observada em estudos originais, de revisão sistemática ou meta-análise indica que a
25 inflamação sistêmica avaliada pelos níveis de citocinas tem um valor clínico pobre para
26 prever a evolução clínica do AVCI.

27 As células endoteliais ativadas expressam moléculas de adesão que fornecem uma
28 plataforma molecular para a entrada de leucócitos no tecido cerebral inflamado. Os
29 mecanismos moleculares subjacentes à quimiotaxia de leucócitos no cérebro começam com a
30 rolagem de leucócitos através de um mecanismo de amarração dependente das selectinas
31 endoteliais e de suas glicoproteínas sialiladas na superfície dos leucócitos (YILMAZ;
32 GRANGER, 2010). Durante a rolagem de leucócitos, os leucócitos são ativados, levando a
33 alterações morfológicas que resultam na transição de um estado de avidez baixa para alta. As
34 integrinas de alta avidez ativadas interagem com seus ligantes endoteliais correspondentes,

1 incluindo VCAM-1, ICAM-1 e molécula de adesão celular de leucócitos ativada (ALCAM).
2 A importância dessas vias é destacada por estudos que mostram que camundongos deficientes
3 em P-selectina, E-selectina e ICAM-1 são relativamente resistentes a danos cerebrais após
4 isquemia e reperfusão, confirmando o papel do tráfico de leucócitos e ativação endotelial na
5 fisiopatologia do AVCI (HUANG et al., 2000). Estudos mostraram que a depleção de
6 neutrófilos em camundongos deficientes em ICAM-1 é resistente a lesões de isquemia-
7 reperfusão cerebral (CONNOLLY et al., 1996).

8 A importância dos efeitos inflamatórios mediados por plaquetas no AVCI é
9 confirmada por evidências de que muitas terapêuticas antiplaquetárias clinicamente
10 comprovadas têm efeitos anti-inflamatórios. As plaquetas são um dos primeiros tipos de
11 células a chegar à vasculatura lesada (MASSBERG et al., 2002). O acúmulo de plaquetas na
12 vasculatura do cérebro isquêmico de camundongos tem sido associado à ativação endotelial e
13 de células imunes através da liberação de mediadores inflamatórios como a IL-1 α ; A IL-1 α
14 plaquetária pode desencadear a regulação positiva endotelial de ICAM-1 e VCAM-1 e a
15 liberação de quimiocinas que amplificam o recrutamento de células imunes durante lesão
16 cerebral isquêmica (THORNTON et al., 2010).

17 A Figura 6 sumariza os principais mecanismos fisiopatológicos, células e moléculas
18 envolvidos na formação e ruptura da placa de aterosclerose. A Figura 7 apresenta as principais
19 alterações da resposta inflamatória e estresse oxidativo e nitrosativo observadas após o AVCI
20 agudo. A Figura 8 sumariza os mecanismos neuroinflamatórios envolvidos no agravamento
21 da lesão cerebral após o AVCI em condições de hiperglicemia ou hipoglicemia que são
22 observados em pacientes com DMT2, segundo Shukla e colaboradores (2018).

23

24

25

26

27

28

29

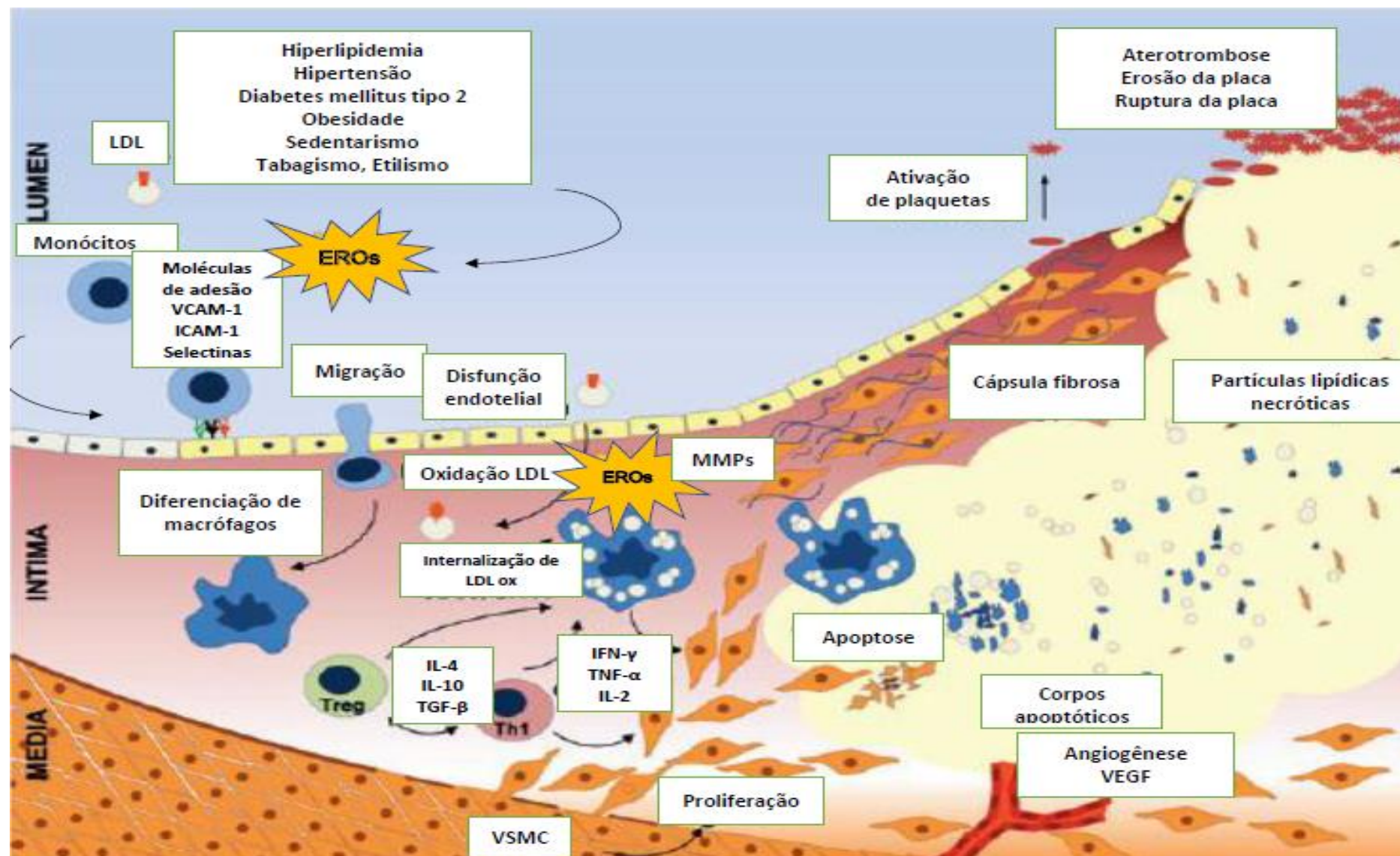
30

31

32

33

1 **Figura 6** Revisão esquemática dos mecanismos fisiopatológicos, células e moléculas envolvidos na aterosclerose



1 A exposição contínua aos fatores de risco causa inflamação com formação de espécies reativas de
2 oxigênio (EROs) e disfunção endotelial, levando à retenção de lipídios na camada íntima do vaso
3 sanguíneo, indução da expressão de moléculas de adesão intracelular 1 (ICAM-1), moléculas de
4 adesão intercelular vascular 1 (VCAM-1) e selectinas e a liberação de fatores quimiotáticos que
5 promovem o recrutamento e adesão e transmigração de leucócitos pela parede do vaso sanguíneo.
6 Monócitos se diferenciam em macrófagos e internalizam moléculas de lipoproteínas oxidadas
7 (LDLox), resultando na formação de células espumosas. Posteriormente, estas células espumosas
8 sofrem apoptose e liberam corpos apoptóticos. A interação dos macrófagos, células T helper 1 (Th1),
9 T regulatórias (Treg) e outros leucócitos contribuem para o processo de aterogênese pela liberação de
10 EROs. Linfócitos Th1 liberam citocinas inflamatórias como o interferon (IFN)- γ , fator de necrose
11 tumoral (TNF)- α e interleucina (IL)-2 que perpetuam a inflamação. Linfócitos Treg liberam citocinas
12 anti-inflamatórias como a IL-4, IL-10 e fator de transformação do crescimento (TGF)- β . Células
13 musculares lisas vasculares (VSMC) se diferenciam de um fenótipo contrátil para um fenótipo
14 proliferativo, migram da camada média para a íntima e secretam proteínas da matriz extracelular,
15 formando uma cápsula fibrosa, Apoptose de células residentes da placa leva a formação de centros
16 necróticos. A neovascularização induzida pela hipóxia e estimulada pelo fator de crescimento
17 endotelial vascular (VEGF) e a secreção de metaloproteinases de matriz (MMPs) pelos macrófagos
18 desestabilizam a placa fibrose e causam ruptura da mesma. A exposição do conteúdo da placa na
19 circulação resulta na ativação e agregação de plaquetas com a formação de trombos.

20

21 Fonte: adaptado de Wilck; Ludwig (2014)

22

23

24

25

26

27

28

29

30

31

32

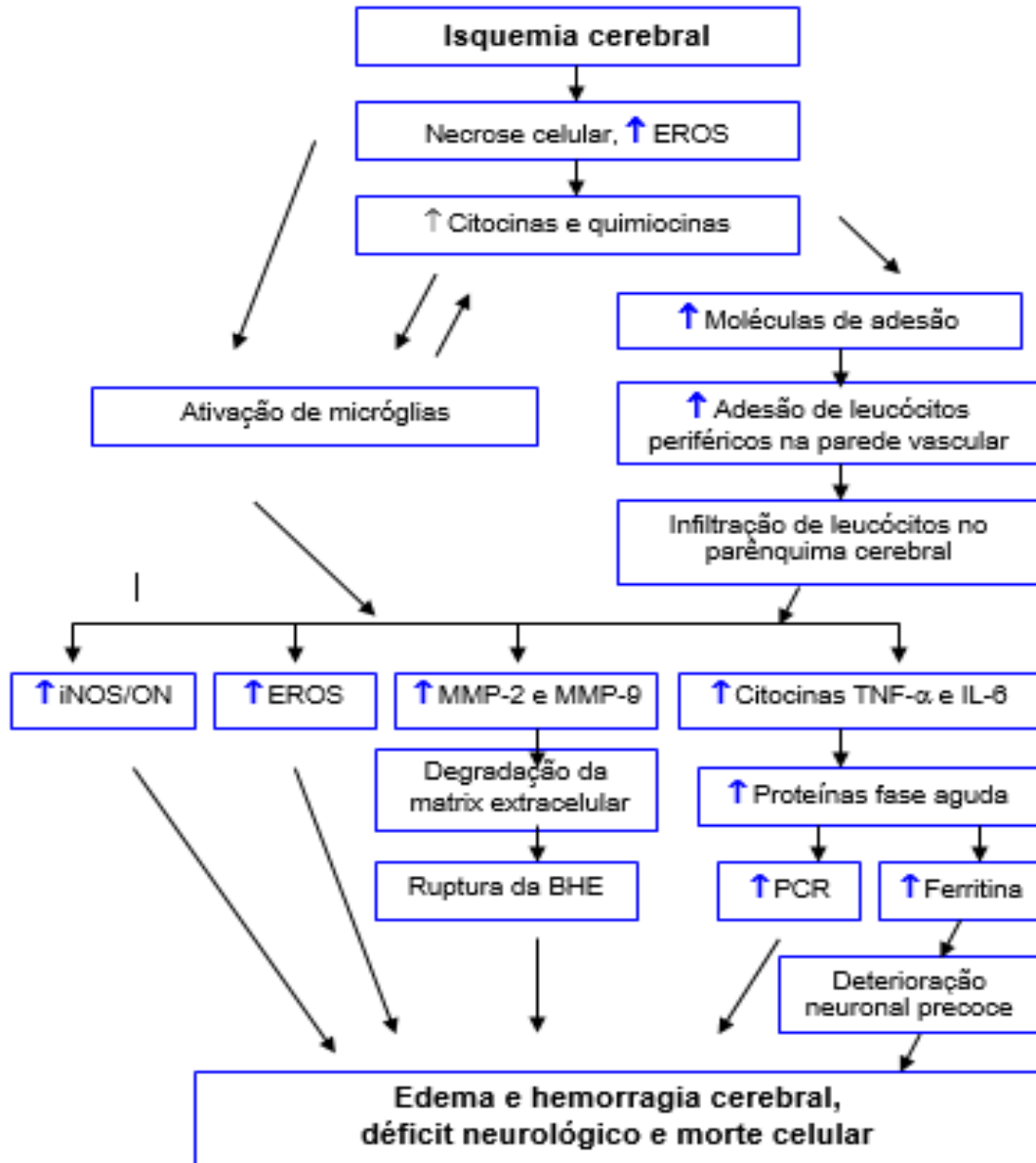
33

34

35

1 **Figura 7** Principais alterações da resposta inflamatória e estresse oxidativo e nitrosativo
 2 observadas após o acidente vascular cerebral isquêmico agudo

3



4

5

6

7 EROS: espécies reativas de oxigênio; iNOS: óxido nítrico sintetase induzível; ON: óxido nítrico;

8 MMP: metaloproteinases de matriz; TNF: fator de necrose tumoral; IL-interleucina; BHE: barreira

9 hematoencefálica; PCR: proteína C reativa; ↑: aumento

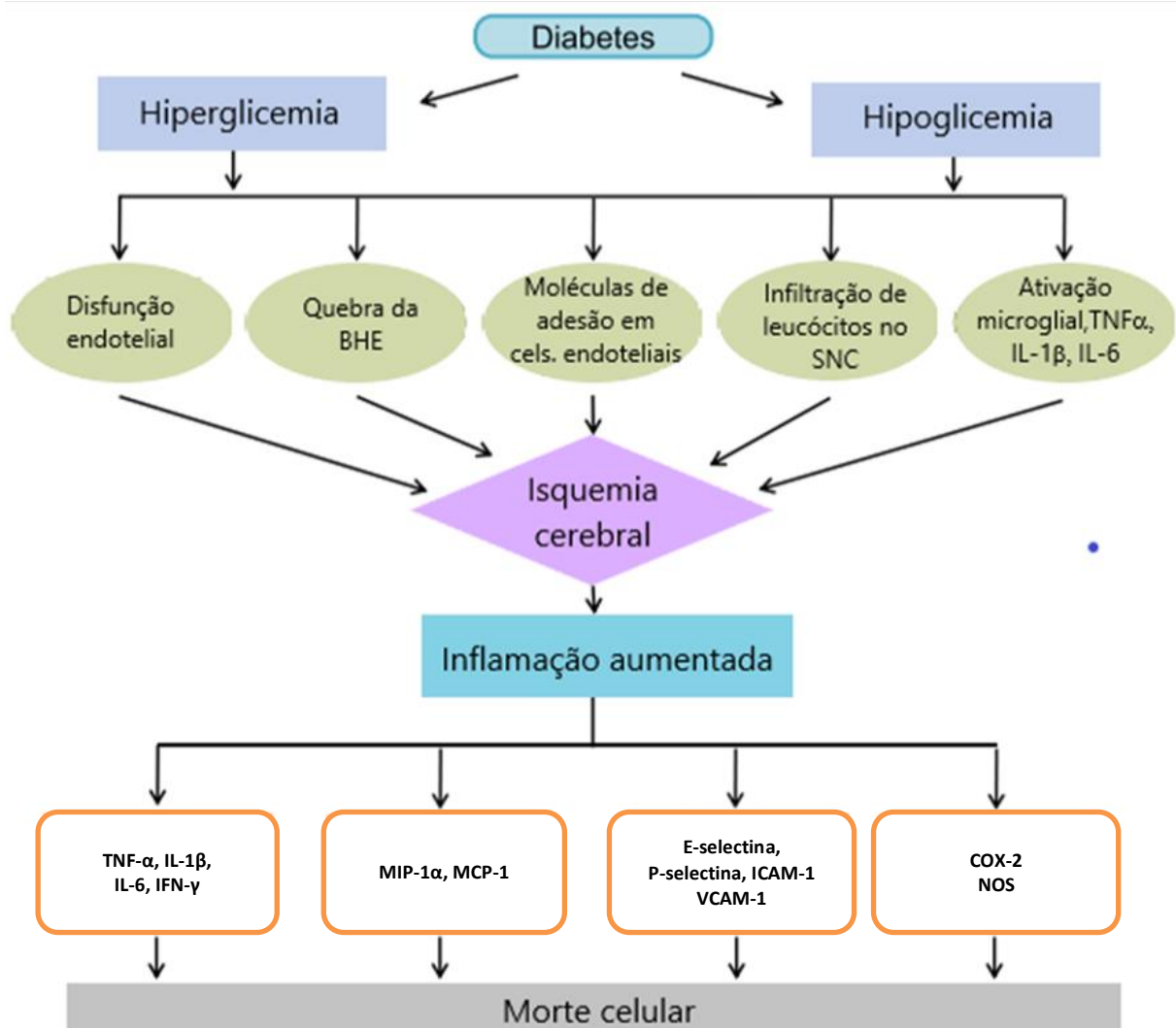
10 Fonte: Lehmann (2015)

11

12

1 **Figura 8** Mecanismos neuroinflamatórios envolvidos no agravamento da lesão cerebral após
 2 o acidente vascular cerebral isquêmico em condições de diabetes mellitus tipo 2
 3 (hiperglicemia e hipoglicemia)

4
5



6
7

8 BHE: barreira hematoencefálica; SNC: sistema nervoso central; TNF- α : Fator de necrose
 9 tumoral alfa; IL-1 β : interleucina 1 beta; IL-6: interleucina 6; IFN- γ : interferon gama; MIP-1 α :
 10 Proteína inflamatória de macrófagos 1 alfa; MCP-1: Proteína quimioatraente de monócitos 1;
 11 ICAM-1: Molécula de adesão intracelular 1; VCAM-1: Molécula de adesão celular vascular
 12 1; NOS: óxido nítrico sintetase; COX-2: Ciclo-oxigenase 2 .

13 Fonte: adaptado de Shukla e colaboradores (2018)

14

1 1.7 BIOMARCADORES NO AVCI

2
3 Enquanto a resposta imune começa localmente no parênquima cerebral com vasos
4 ocluídos ou hipoperfundidos, mediadores inflamatórios são gerados *in situ* e propagados pelo
5 organismo como um todo. Embora a inflamação contribua potencialmente para a destruição
6 do tecido cerebral durante o estágio do AVCI agudo, ela também implicou mesmo na fase de
7 isquemia-reperfusão, que pode resultar em lesão neuronal adicional. Consequentemente, a
8 inflamação existe em todos os estágios do AVCI agudo, desde o seu início até a progressão e
9 a reparação final dos tecidos cerebrais recuperáveis. O entendimento da inflamação no AVCI
10 agudo torna útil a aplicação de biomarcadores inflamatórios para expandir a investigação
11 sobre patogênese e prognóstico do AVCI, além de melhorar a terapêutica clínica. Níveis
12 elevados de marcadores durante a resposta inflamatória aguda após o AVCI estão associados
13 a piores resultados (HAKKENNES et al., 2011).

14 O Grupo de Trabalho de Definições de Biomarcadores descreve um biomarcador
15 como uma característica que pode ser objetivamente medida e avaliada como um indicador de
16 processos biológicos normais ou patológicos ou respostas farmacológicas a intervenções
17 terapêuticas. Os biomarcadores moleculares, detectáveis no sangue, na urina ou em outros
18 fluidos biológicos, podem representar indicadores mensuráveis para prever os estados
19 fisiológicos de uma doença. No entanto, apesar de muitos anos de pesquisa no campo,
20 nenhum biomarcador de sangue é atualmente usado na prática clínica de AVCI, embora o uso
21 de biomarcadores detectados em amostras de sangue periférico para prever o resultado do
22 AVCI pareça atraente para clínicos e pesquisadores, com várias revisões publicadas nos
23 últimos anos (WHITELEY et al., 2009; KATAN; ELKIND, 2011; BUSTAMANTE et al,
24 2014). No entanto, faltam ferramentas prognósticas na prática clínica para monitorar a
25 condição neurológica e prever o resultado final.

26 Como mostrado anteriormente, a neuroinflamação está relacionada a alguns dos
27 principais fatores relacionados ao desfecho do AVC, como a extensão da lesão cerebral
28 isquêmica (relacionada à gravidade do AVC) e complicações pós-AVC. Nesse sentido, seriam
29 esperadas associações entre os marcadores inflamatórios alterados na cascata isquêmica e o
30 desfecho do AVC. A questão permanece sobre como essas associações podem ser usadas
31 pelos médicos para melhorar os resultados do AVC (BUSTAMANTE et al., 2016).

32 De acordo com os processos fisiopatológicos envolvidos no AVCI, potenciais
33 biomarcadores inflamatórios podem ser classificados como liberado por: (i) ativação

1 astrogliar e lesão neuronal; (ii) resposta inflamatória sistêmica; (iii) disfunção endotelial
2 (revisados por BONAVENTURA et al., 2016).

3 Os biomarcadores do AVCI podem ser específicos do cérebro, liberados a partir de
4 tecidos danificados ou outros indicadores mais sistêmicos, como os resultantes da resposta
5 inflamatória no nível local ou periférico. Em qualquer caso, os níveis de marcadores
6 inflamatórios no sangue periférico geralmente refletem a resposta neuronal contra o AVCI. A
7 avaliação dos níveis plasmáticos de citocinas no AVCI agudo tem sido associada ao resultado
8 do AVCI, bem como à ocorrência de algumas complicações pós-AVCI. Além disso, o tempo
9 em que a medição é realizada também pode resultar em diferentes associações, pois alguns
10 biomarcadores mostraram estar associados a diferentes características em diferentes
11 momentos (BUSTAMANTE et al., 2016b).

12

13 **1.7.1 Biomarcadores da inflamação no AVCI**

14

15 Citocinas e proteínas de fase aguda positivas, como a PCR e ferritina, e negativas
16 como a albumina, têm sido amplamente investigadas em pacientes com AVCI, para avaliar suas
17 associações com a ocorrência e prognóstico do AVCI.

18 Um dos biomarcadores associados ao prognóstico do AVCI tem sido a albumina
19 (BABU et al. 2013; BALTANAS et al. 2009; BELAYEV et al. 2002). Alguns estudos
20 experimentais de AVCI sugeriram um efeito neuroprotetor da albumina, quer por redução do
21 edema cerebral (CHEN et al., 2013) ou por suas propriedades antioxidantes ou antiapoptóticas
22 (CIUFFETTI et al., 1988). Níveis adequados de albumina sérica levam a uma melhora no
23 fluxo micro circulatório, viscosidade do plasma e capacidade de transporte de oxigênio
24 (DEFAZIO et al., 2012). Lesões pequenas foram correlacionadas com níveis mais elevados de
25 albumina (BOSELLI et al., 2012). Por outro lado, níveis séricos diminuídos de albumina
26 durante a fase aguda do AVCI corresponderia a um pior estado neurológico como resultado
27 de uma área grande de isquemia com intenso processo catabólico (BIELEWICZ et al., 2016).
28 A liberação de hormônios, como glucagon, catecolaminas e corticosteroides, resulta em
29 intensificação de inúmeras vias catabólicas, incluindo proteólise. Esses processos estão
30 conectados à degradação da albumina sérica, o que leva a hipoalbuminemia (BIELEWICZ et
31 al., 2016).

32 Estudos extensos demonstraram que os níveis periféricos de leucócitos (KOTON et
33 al., 2010; SAPOSNIK et al., 2008; ANDERSEN et al., 2011), homocisteína (LIU et al., 2011;
34 JOHNSTON et al., 2009; SENE et al., 2006; GONZALES et al., 2008) e PCR (SENE et al.,

1 2006; DEN HERTOOG et al., 2009; SHANTIKUMAR et al., 2009; DI NAPOLI et al., 2001)
2 correlacionam-se fortemente com a gravidade do AVCI e predizem independentemente a
3 mortalidade e a recorrência do AVCI em pacientes com AVCI agudo.

4 Citocinas e PCR foram os marcadores mais explorados na literatura, portanto, as
5 informações sobre sua associação com o resultado do AVC deveriam ser mais robustas
6 (BUSTAMANTE et al., 2016b). Em uma revisão sistemática, verificou-se que a PCR foi um
7 preditor independente de resultados funcionais a longo prazo em 20 estudos, enquanto sete
8 deles encontraram associações que não eram mais independentes ao ajustar as covariáveis
9 clínicas e outros biomarcadores sanguíneos, havendo enorme variabilidade nos resultados,
10 com alguns estudos mostrando nenhuma associação adicional quando o ajuste por covariáveis
11 é realizado, ou mesmo nenhuma associação no nível univariado. (BUSTAMANTE et al.,
12 2016). Apesar da enorme quantidade de literatura sobre a associação de PCR e desfecho do
13 AVCI, resultados inconsistentes tem sido a regra para muitas das moléculas exploradas, como
14 é o caso da PCR e TNF- α . Estes autores concluíram que há incerteza sobre se os níveis de
15 PCR podem ser um preditor independente de pior prognóstico no AVCI e sugerem que a PCR
16 não é uma ferramenta útil na prática clínica para prever o resultado do AVCI, pelo menos
17 como um único biomarcador.

18 Um estudo (OZKAN et al., 2013) revelou que nem os níveis de PCR mensurada por
19 método ultrasensível (usPCR) nem ferritina podiam prever incapacidade funcional três meses
20 após o início do AVCI. Já os escores do NIHSS foram mais úteis na previsão do resultado
21 funcional três meses após o início do AVCI do que os marcadores laboratoriais avaliados
22 neste estudo; além disto, nenhuma correlação significativa foi encontrada entre os marcadores
23 laboratoriais e os escores do NIHSS na admissão e no seguimento de três meses. No entanto,
24 esses autores obtiveram as amostras dentro de 48 horas após o início do AVCI, o que dificulta
25 a comparação com outros estudos de prognóstico (OZKAN et al., 2013).

26 Nosso grupo de estudo verificou associações entre deficiência de vitamina D e níveis
27 elevados de usPCR e entre os níveis de 25, hidroxivitamina D e pior prognóstico a curto prazo
28 em pacientes com AVCI agudo e sugere o importante papel da vitamina D na modulação da
29 resposta inflamatória e na fisiopatologia desse evento isquêmico (ALFIERI et al., 2017).

30 A IL-6 é outro biomarcador muito explorado. Apesar da associação independente da
31 IL-6 com o pior desfecho, sua discriminação adicional sobre variáveis clínicas foi muito
32 modesta, fato que limita seu uso na prática clínica (BUSTAMANTE et al., 2014).

33 Li et al., 2019, demonstraram que os níveis das citocinas IL-1Ra, IL-1 β , IL-4, IL-5,
34 IL-6, IL-7, IL-9, IL-10, IL-13, IL-15, fator de crescimento epidérmico (EGF), fator

1 estimulador de colônias de granulócitos (G-CSF), ligante 3 da tirosina quinase Fms-
2 relacionada (Flt-3L), fator estimulador de colônias de granulócitos e monócitos (GM-CSF) e
3 fractalkina (ligante 1 de quimiocina) diminuíram significativamente em pacientes com AVCI
4 grave. Em particular, IL-1 β , IL-4, IL-5, IL-7, IL-9, IL-10, IL-15, G-CSF e GM-CSF foram
5 significativamente reduzidas em pacientes com AVCI com pior prognóstico, em comparação
6 com aqueles com bom prognóstico. A IL-6 foi notavelmente maior no grupo de pior
7 prognóstico. Apenas o nível de IL-9 diminuiu no grupo de grande volume de infarto. Após o
8 ajuste para fatores confundidores, os autores verificaram que a IL-5 era um fator protetor
9 independente para prognóstico em pacientes com AVCI, enquanto IL-6 era um preditor de
10 risco independente para pacientes com AVCI. Os autores sugerem que os níveis de citocinas
11 séricas estão relacionados à gravidade do AVCI, prognóstico a curto prazo e volume de
12 infarto cerebral em pacientes com AVCI (LI et al., 2019).

13

14 **1.7.2 Biomarcadores da disfunção endotelial**

15

16 Os biomarcadores de disfunção endotelial avaliados em pacientes com AVCI incluem
17 Fator de von Willebrand (FvW), homocisteína, E-selectina, P-selectina, ICAM-1 e VCAM-1.
18 Estudos com estas moléculas mostram que estão elevadas, mas são poucos ou com dados
19 conflitantes (WISEMAN et al., 2014).

20 O FvW tem um papel importante na adesão e agregação de plaquetas, bem como na
21 formação de trombos. É predominantemente liberado pelas células endoteliais e um nível
22 aumentado de FvW aponta para a disfunção endotelial (RUGGERI ZM, 2007). O dano ao
23 endotélio na aterosclerose aumenta a liberação de FvW, o que pode levar a uma formação
24 súbita de trombo nas artérias (CONLAN et al., 1993).

25 A justificativa para o FvW como um alvo potencial no AVCI vem de quatro
26 evidências: 1) modelos animais, que nos ajudam a entender a patogênese do AVCI e apontam
27 o papel do FvW no evento isquêmico; 2) dados epidemiológicos demonstrando que os níveis
28 plasmáticos de FvW predizem a ocorrência e recorrência de AVCI; 3) estudos genéticos que
29 estabelecem uma associação entre os níveis de FvW e o risco de AVCI nos níveis genômicos;
30 e 4) lições aprendidas de pacientes com distúrbios do FvW que mostraram o papel crucial do
31 FvW na aterotrombose e no AVCI. No entanto, ensaios clínicos randomizados com inibidores
32 de FvW são necessários para demonstrar a relevância do bloqueio do FvW na prevenção ou
33 tratamento de AVCI (BUCHTELE et al., 2018).

1 O FvW é um fator de risco potente e independente para AIT, AVCI menor e, por
2 extrapolação, AVCI em geral e doença cardíaca isquêmica (QIZILBASH, et al., 1997). Em
3 um estudo com 108 pacientes com AVCI, altos níveis de FvW foram associados a maior
4 gravidade do AVCI, bem como a um desfecho clínico ruim (MENIH et al., 2017).

5 Quanto às moléculas de adesão, estas podem ser classificadas com base em sua
6 estrutura ou de acordo com as células nas quais são expressas. De acordo com as
7 características e funções estruturais comuns, a maioria das moléculas de adesão pode ser
8 subdividida em cinco famílias principais: integrinas, superfamília do gene da imunoglobulina,
9 caderinas, selectinas e mucinas (revisadas por SCHMIDT et al., 2016).

10 A regulação positiva das moléculas de adesão inflamatória foi demonstrada em
11 pacientes com AVCI; no entanto, as evidências são contraditórias e as condições de análise
12 são muito heterogêneas, o que dificulta a comparação dos dados. Em nove estudos, as
13 moléculas de adesão circulantes foram medidas no sangue periférico em amostras colhidas 12
14 a 72 horas após o início do AVCI (SHYU et al., 1997; FASSBENDER et al., 1995; BITSCH
15 et al., 1998; BLANN et al., 1990; FRIJNS et al., 1997; CLARK et al., 1993; WU et al., 1993;
16 KIM et al., 1995; FISZER et al., 1998). Foram encontradas concentrações elevadas de
17 sICAM-1 em três estudos (SHYU et al., 1997; FASSBENDER et al., 1995; BITSCH et al.,
18 1998) de seis estudos analisados (SHYU et al., 1997; FASSBENDER et al., 1995; BITSCH et
19 al., 1998; BLANN et al., 1990; FRIJNS et al., 1997; CLARK et al., 1993), aumento de
20 sVCAM-1 em três estudos (FASSBENDER et al., 1995; BITSCH et al., 1998; BLANN et al.,
21 1990) de quatro estudos analisados (FASSBENDER et al., 1995; BITSCH et al., 1998;
22 BLANN et al., 1990; FRIJNS et al., 1997) e aumento de sE-selectina em três estudos
23 (FASSBENDER et al., 1995; BITSCH et al., 1998; FRIJNS et al., 1997) de cinco estudos
24 analisados (SHYU et al., 1997; FASSBENDER et al., 1995; BITSCH et al., 1998; BLANN et
25 al., 1990; FRIJNS et al., 1997).

26 As concentrações de sP-selectina (FRIJNS et al., 1997; WU et al., 1993) e expressão
27 de CD18 em leucócitos (KIM et al., 1995; FISZER et al., 1998) foram elevadas nos dois
28 estudos que avaliaram a presença dessas moléculas de adesão. As possíveis explicações para
29 esses resultados contraditórios são diferenças nos grupos de controle, em diferentes métodos
30 laboratoriais de mensuração ou no momento da coleta de sangue. Diferenças no uso de
31 medicamentos que influenciam a expressão de moléculas de adesão, por exemplo, aspirina,
32 corticosteróides ou anti-inflamatórios não esteroides, podem ser outra explicação. Além disso,
33 a presença de outras doenças, como: infecções, DMT2 ou doenças sistêmicas, pode ter
34 influenciado os resultados. Níveis elevados de sICAM-1 e sVCAM-1, mas níveis normais de

1 sE-selectina, foram relatados em pacientes com DMT2, especialmente naqueles com infarto
2 cerebral silencioso na RMN (KAWAMURA et al., 1998).

3 Pacientes com AVCI apresentaram níveis séricos de sICAM-1, obtidos na admissão
4 hospitalar, associados à deterioração neurológica (WANG et al., 2006). Outro estudo
5 demonstrou que níveis elevados de sICAM-1, na admissão hospitalar, foram associados à
6 morte precoce em pacientes com AVCI de meia-idade, sugerindo um papel patogênico da
7 inflamação na evolução do AVCI (RALLIDIS et al., 2009).

8 Como a adesão celular endotelial de leucócitos é uma etapa determinante da taxa no
9 recrutamento de leucócitos para o tecido cerebral pós-isquêmico, muita atenção tem sido
10 dedicada à definição da contribuição de diferentes moléculas de adesão, expressas em
11 leucócitos ou células endoteliais, para o recrutamento de leucócitos processo (YALMAZ;
12 GRANGER, 2008). Estudos revelaram uma importante contribuição de β 2-integrinas (CD11 /
13 CD18), ICAM-1 e P-selectina no recrutamento de leucócitos e plaquetas na microvasculatura
14 cerebral pós-isquêmica. A ICAM-1 (CD54) é uma molécula de adesão necessária para a
15 migração transendotelial de neutrófilos (YANG et al., 2005). Tanto a E-selectina quanto a P-
16 selectina estão envolvidas na rolagem e recrutamento de leucócitos e estão associadas à lesão
17 cerebral secundária, enquanto a L-selectina parece não estar relacionada ao AVCI (HUANG
18 et al., 2000). As moléculas de adesão facilitam a diapedese dos leucócitos através da parede
19 do vaso e, embora haja fortes evidências de que a ICAM-1 contribua para lesão cerebral
20 secundária, relatos sobre o papel da VCAM-1 na fisiopatologia do AVCI são controversos
21 (WANG et al., 1994; JUSTICIA et al., 2006).

22 Tsai et al (2009) examinaram prospectivamente alterações seriadas na expressão da P-
23 selectina glicoproteína ligante-1 (PSGL-1), macrófago antígeno-1 (Mac-1) e expressão do
24 antígeno-1 associado à função linfocitária (LFA-1) por subconjuntos de leucócitos usando
25 citometria de fluxo em vários momentos em 65 pacientes com AVCI agudo e 60 controles. A
26 expressão de PSGL-1 em neutrófilos e monócitos foi significativamente maior do dia 1 ao 90
27 após o AVCI em comparação com os indivíduos controles. A expressão do Mac-1 e LFA-1
28 também aumentou significativamente nos dias 1 e 7 após o AVCI do que nos controles. A
29 expressão de PSGL-1 pelos neutrófilos no dia 1 foi significativamente maior em pacientes
30 com deterioração neurológica precoce e a expressão de Mac-1 por monócitos correlacionou-se
31 positivamente com os escores de NIHSS na admissão. A presença de DMT2 e os escores
32 NIHSS na admissão foram associados de forma independente ao prognóstico de três meses.
33 Os autores concluem que as expressões das moléculas de adesão de leucócitos na admissão
34 aumentam significativamente em pacientes com AVCI agudo e que a expressão mais alta de

1 PSGL-1 por neutrófilos na admissão pode implicar um risco maior de deterioração
2 neurológica precoce que a expressão de Mac-1 pelos monócitos na admissão reflete a
3 gravidade do AVCI na admissão.

4 Em um estudo observacional prospectivo (RICHARD et al., 2015), os níveis de E-
5 selectina avaliados logo após o AVCI mostraram-se preditores independentes do pior
6 prognóstico, assim como os níveis de VCAM-1 quando avaliados na terceira semana após o
7 início do evento isquêmico.

8 O valor prognóstico da sICAM-1 e da sVCAM-1 foi avaliado na mortalidade
9 hospitalar em pacientes com AVCI. Altos níveis de sICAM-1 na admissão foram associados à
10 morte precoce em pacientes com AVCI de meia idade, sugerindo um papel patogénico da
11 inflamação na evolução do AVCI. Pacientes com AVCI agudo apresentaram níveis mais altos
12 de sICAM em comparação aos controles e os níveis de sICAM-1 e sVCAM-1 foram
13 significativamente maiores nos pacientes que morreram em comparação aos que
14 sobreviveram; no entanto, apenas os níveis de sICAM-1 foram independentemente associados
15 à morte precoce, após o ajuste para vários fatores confundidores. Para um aumento de 10
16 ng/ml nos níveis de sICAM-1, houve um risco 9% maior de morrer. A análise do ponto de
17 corte revelou que os níveis de sICAM-1 > 322 ng/ml foram os pontos ótimos que
18 discriminaram aqueles que morreram no restante dos pacientes (RADILLIS et al., 2009). No
19 entanto, ao se avaliar a ICAM-1 como alvo terapêutico, os resultados não foram promissores.
20 O *Enlimomab Acute Stroke Trial*, um estudo prospectivo, randomizado, cego, fase III, testou
21 os efeitos do anticorpo murino anti-ICAM-1 enlimomabe em pacientes AVCI agudo.
22 Inesperadamente, a administração durante cinco dias consecutivos aumentou a mortalidade, o
23 tamanho do infarto e os efeitos colaterais inespecíficos (*Enlimomab Acute Stroke Trial*
24 *Investigators*, 2001). A explicação mais provável para este resultado adverso é uma resposta
25 imunológica ao anticorpo murino (YILMAZ; GRANGER, 2008).

26

27 **1.7.3 Biomarcadores da coagulação/fibrinólise no AVCI**

28

29 Como doença aterotrombótica, tanto a cascata de coagulação / fibrinólise quanto à
30 disfunção endotelial podem contribuir para a fisiopatologia do AVCI. Entre as moléculas que
31 participam das vias da coagulação/fibrinólise, o dímero D, FvW, tPA, inibidor do ativador do
32 plasminogênio (PAI), FVIII e fibrinogênio têm sido investigados em pacientes com AVCI
33 (WISEMAN et al., 2014).

1 Wiseman e colaboradores (2014) realizaram uma revisão sistemática e estudo de meta-
2 análise e verificaram que os marcadores de coagulação/fibrinólise, como tPA, PAI,
3 fibrinogênio e dímero D foram mais elevados nos pacientes com AVC subtipo LAC do que
4 nos controles, embora o fibrinogênio não tenha sido diferente dos controles quando avaliado
5 no AVC na fase aguda. tPA e PAI não foram diferentes entre LAC e não-LAC. O
6 fibrinogênio e o dímero D foram significativamente menores no LAC. Os níveis de
7 homocisteína, FvW, E-selectina, P-selectina, ICAM-1, VCAM-1 foram mais elevados ou
8 apresentaram dados insuficientes ou conflitantes (P-selectina, VCAM-1) no LAC *versus*
9 controles. Comparado com outros subtipos de AVCI, a homocisteína não diferiu no LAC
10 enquanto o FvW foi significativamente menor no LAC de forma aguda. Segundo esta meta-
11 análise em comparação com outros subtipos de AVCI, o subtipo LAC foi caracterizado por
12 níveis mais elevados dos biomarcadores da coagulação/fibrinólise (t-PA, PAI-1 e D-dímero) e
13 menores níveis dos biomarcadores de disfunção endotelial (FvW, E- e P-selectinas, ICAM-1 e
14 VCAM-1).

15 Dois estudos demonstraram que os níveis de dímero D foram diferentes em cada
16 subtipo de AVCI com os níveis mais altos no subtipo CEI (LIU et al., 2015; YUAN; SHI,
17 2014). O dímero D, também, previu o subtipo CEI de forma independente (LIU et al., 2015) e
18 mostrou boa acurácia prognóstica como preditor de piora a curto e longo prazo (YUAN; SHI,
19 2014). Um estudo prospectivo demonstrou que os níveis de dímero D, no momento de
20 admissão, foram mais elevados em pacientes com pior prognóstico com alta precisão
21 prognóstica e foi preditor de mortalidade (YANG et al., 2014). Já em um estudo caso-
22 controle, o biomarcador dímero D foi efetivo na predição de um pior escore neurológico
23 (WANG et al., 2016).

24 O FVIII é uma proteína de fase aguda positiva, mais fortemente envolvida na
25 formação de coágulos. O FvW estabiliza e transporta o FVIII e o complexo FVIII-FvW
26 suporta a ligação com outros componentes da cascata de coagulação e medeia a ligação
27 plaquetária ao subendotélio danificado (SAKARIASSEN et al., 1979). Vários estudos apoiam
28 a associação entre elevação no FVIII ou no FvW e aumento do risco de trombose venosa e
29 eventos tromboembólicos recorrentes (CHANG et al, 2014; KOSTER et al, 1995;
30 SHAHSAVARZADEH et al, 2011; KYRLE et al., 2001). O FVIII elevado foi descrito como
31 um fator de risco para AVCI agudo e doença arterial coronariana (CHANG et al., 2014,
32 FOLSOM et al., 1997, 1999). Já outros autores não mostraram evidências para implicar o
33 FVIII e tPA como fatores de risco para AVCI (QIZILBASH, et al., 1997).

1 Samai et al. (2014) investigaram diferenças na gravidade do AVCI, complicações
2 hospitalares e resultados entre pacientes com valores séricos normais de FVIII e FvW e
3 aqueles com elevação singular em FVIII ou elevação combinada em FVIII e FvW. Além
4 disso, eles exploraram a relação de elevação singular no FvW com essas variáveis. E
5 concluíram que a elevação concomitante do FVIII e FvW prediz maiores chances de
6 complicações hospitalares, agravamento neurológico e piores resultados funcionais em
7 comparação com pacientes com níveis normais. Suas descobertas sugerem que os níveis de
8 FVIII e FvW podem servir como biomarcadores de AVCI clinicamente úteis, fornecendo
9 perfis de risco para estes pacientes.

10 Aumento dos níveis de fibrinogênio, IL-6 e usPCR são associados com mortalidade
11 entre indivíduos idosos (DANESH et al., 2005; HARRIS et al., 1999; STRANDBERG;
12 TILVIS et al., 2000). Níveis elevados de fibrinogênio após o AVCI durante um ano foram
13 associados com aumento da mortalidade (BEAMER et al., 1998).

14 Já Froyshov e colaboradores (2017) avaliaram os níveis de biomarcadores
15 inflamatórios, entre eles, a contagem de leucócitos periféricos, níveis de fibrinogênio,
16 usPCR, IL-6 em pacientes com AVCI que sobreviveram e em controles livres de AVCI,
17 durante 16 anos de seguimento. Os autores verificaram que nos pacientes que sobreviveram
18 após o AVCI, os níveis de fibrinogênio e IL-6 predisseram mortalidade por todas as causas
19 após ajuste pela idade, sexo, IMC, tabagismo, atividade física, comorbidades e uso de
20 estatinas. Já nos indivíduos sem AVCI, os níveis de usPCR predisseram mortalidade por todas
21 as causas após se considerar os níveis de colesterol, pressão sanguínea e uso de medicamentos
22 anti-hipertensivos.

23 As proteínas anticoagulantes naturais, incluindo antitrombina, inibidor da via do fator
24 tecidual e proteína C, suprimem os mediadores pró-inflamatórios. Por outro lado, a
25 inflamação diminui a atividade anticoagulante e, quando não controlada, promove a
26 coagulação sistêmica como as que ocorrem na coagulação intravascular disseminada e na
27 sepse grave. A deficiência adquirida de antitrombina, sendo mais comum e mais complexa,
28 geralmente resulta em estados trombóticos associados a um componente inflamatório.
29 Evidências crescentes de que a antitrombina possui notáveis propriedades anti-inflamatórias,
30 além de sua atividade anticoagulante, sugerem que o concentrado de antitrombina pode ter
31 potenciais aplicações terapêuticas em certos contextos clínicos associados à inflamação
32 (LEVY et al., 2016). O desequilíbrio da ativação da trombina em indivíduos com deficiência
33 de antitrombina pode contribuir para a formação e progressão de aterosclerose por meio de
34 vários mecanismos, incluindo ativação plaquetária, desregulação de células musculares lisas

1 endoteliais e vasculares e recrutamento de monócitos e macrófagos (MARTORELL et al.,
2 2008; BORISSOFF et al., 2009).

3 As trombofilias hereditárias, como o Fator V de Leiden, mutação G20210A da
4 protrombina, deficiência da Proteína C, deficiência da proteína S e deficiência da
5 antitrombina são fatores bem estabelecidos que predisõem a ocorrência tromboembolismo
6 venoso, mas seu papel nas tromboes arteriais como o AVCI ainda está incerto (MORRIS et
7 al., 2010). De fato, as diretrizes de prática clínica da *American Heart Association* de 2018 é
8 contra a recomendação do teste de trombofilia em pacientes com AVCI (POWERS et al.,
9 2018), embora esse teste continue sendo comum prática clínica (COX et al., 2017).

10 Haapaniemi et al. (2002) também não encontraram correlação entre os níveis dos
11 anticoagulantes naturais antitrombina, proteína S e proteína C com a etiologia do AVCI,
12 qualquer fator de risco de AVCI ou escores neurológicos, exceto que o nível de antitrombina
13 na admissão mostrou significante correlação com a gravidade do AVCI e incapacidade após
14 três meses. Além disso, segundo estes autores, os níveis naturais de anticoagulante não
15 puderam prever a recorrência de AVCI. Outro estudo demonstrou ausência de correlações
16 significativas entre antitrombina, proteína S, proteína C, agregação plaquetária ou viscosidade
17 sanguínea e prognóstico do AVCI (HASHEM et al., 2018). No entanto, os pacientes incluídos
18 neste estudo estavam acima de 46 anos de idade enquanto a deficiência natural de
19 anticoagulantes pode desempenhar papel no AVCI em adultos jovens. Mais recentemente, os
20 resultados de uma revisão sistemática e meta-análise sugerem que estas trombofilias
21 hereditárias estão associadas a um aumento significativo, porém pequeno, do risco de AVCI
22 arterial em adultos, particularmente em jovens pacientes (CHIASAKUL et al., 2019).

1 2 JUSTIFICATIVA

2

3 Embora o AVCI continue sendo a principal causa de morbidade, mortalidade e
4 incapacidade em todo o mundo, faltam ferramentas prognósticas na prática clínica para
5 monitorar a condição neurológica e prever o resultado final. Diferentes biomarcadores de
6 imagem, clínicos e mensurados no sangue periférico têm sido propostos e estudados nesta
7 indicação; no entanto, nenhum biomarcador é atualmente utilizado na prática clínica.

8 Embora os exames de imagem continuem sendo os pilares da detecção da placa de
9 aterosclerose vulnerável e de ser um procedimento de custo acessível, os mesmos podem não
10 estar disponível em todos os serviços de saúde que atendem pacientes com AVCI.

11 Nosso grupo de pesquisa tem investigado diferentes biomarcadores genéticos,
12 inflamatórios e metabólicos associados ao AVCI agudo, com importante associação com os
13 subtipos de AVCI e seu desfecho a curto prazo que podem ser utilizados na avaliação inicial
14 do paciente com AVCI para a identificação dos pacientes que podem se beneficiar com
15 estratégias terapêuticas individualizadas que levem em consideração diferentes perfis
16 inflamatórios e metabólicos (DE SOUSA PARREIRA et al., 2015; LEHMANN et al., 2015;
17 ALFIERI et al., 2017; REICHE et al., 2019).

18 No entanto, poucos estudos examinam a relação entre biomarcadores sistêmicos que
19 participam de diferentes mecanismos envolvidos na fisiopatologia do AVCI como a resposta
20 inflamatória, coagulação e disfunção endotelial com os biomarcadores de imagem obtidos no
21 USGD, como a cIMT e o grau de estenose da carótida e, ainda assim, apresentam resultados
22 conflitantes (KABLAK-ZIEMBICKA et al., 2011).

23 As informações disponíveis sobre o resultado funcional ou sobrevida após o AVCI em
24 pacientes atendidos na população brasileira são insuficientes (CARVALHO et al., 2011). Um
25 estudo avaliou o desempenho de quatro escalas prognósticas do AVCI em uma população
26 brasileira, incluindo o NIHSS. Embora as quatro escalas tenham sido um resultado funcional
27 significativamente e independentemente associado, nenhuma delas demonstrou boa ou
28 excelente capacidade de prever mortalidade hospitalar e resultado funcional (KUSTER et al.,
29 2016).

30 A identificação de um conjunto de biomarcadores que possam prever precocemente
31 o resultado funcional e a mortalidade dos pacientes que sofreram AVCI pode ser clinicamente
32 útil na prática clínica ao serem propostos como uma ferramenta de análise complementar de
33 indicativo de gravidade e prognóstico para auxílio em decisões terapêuticas de urgência.

1 Não encontramos em nenhum dos artigos revisados neste estudo, realizados tanto na
2 população mundial como na população brasileira, a avaliação do papel potencial de diferentes
3 variáveis demográficas, clínicas e de imagem em conjunto com biomarcadores laboratoriais
4 da resposta inflamatória, coagulação e disfunção endotelial no prognóstico a curto e longo
5 prazo em pacientes que sofreram AVCI agudo.

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

19

20

21

22

23

24

25

1 **3 OBJETIVOS**

2

3 **3.1 OBJETIVO GERAL**

4

5 Avaliar um painel de variáveis demográficas, clínicas, de imagem e laboratoriais como
6 potenciais biomarcadores preditores de incapacidade funcional e mortalidade a curto prazo,
7 bem como de mortalidade a longo prazo em pacientes com AVCI agudo atendidos em um
8 hospital universitário.

9

10 **3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

11

- 12 • Descrever as características clínicas e fatores de risco associados ao AVCI em pacientes
- 13 com AVCI agudo;
- 14 • Determinar os subtipos e gravidade do AVCI agudo na admissão do paciente e o desfecho
- 15 clínico após três e 12 meses do evento isquêmico;
- 16 • Determinar a cIMT da carótida e grau de estenose da placa de aterosclerose em pacientes
- 17 com AVCI agudo;
- 18 • Determinar os níveis plasmáticos de biomarcadores inflamatórios, da coagulação e de
- 19 disfunção endotelial em pacientes com AVCI agudo;
- 20 • Determinar quais variáveis e biomarcadores podem ser preditores da incapacidade
- 21 funcional e mortalidade após três e da mortalidade após 12 meses do AVCI.

22

23

24

25

26

27

28

29

30

31

32

1 4 METODOLOGIA

2

3 4.1 DELINEAMENTO

4 Foi realizado um estudo longitudinal prospectivo para avaliação do papel das variáveis
5 demográficas, clínicas, de imagem e laboratoriais na predição da incapacidade funcional e
6 mortalidade dos pacientes com AVCI após três e mortalidade após 12 meses do evento
7 isquêmico. O protocolo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Institucional da
8 Universidade Estadual de Londrina, Paraná, Brasil (CAAE: 61361416.9.0000.5231, nº
9 1.816.305) (Anexo 1).

10

11 4.2 SUJEITOS

12 Trata-se de uma amostra consecutiva, de conveniência de tempo e local, com a
13 inclusão, prospectiva de 153 pacientes atendidos no Pronto Socorro do HU/UEL, com
14 suspeita de AVCI agudo no período de março de 2017 a março de 2018. Foram incluídos
15 pacientes adultos, de ambos os sexos e que consentiram previamente sua participação
16 voluntária no estudo e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)
17 (Apêndice 1). Na impossibilidade de o paciente manifestar seu consentimento, sua
18 participação foi autorizada pelos seus responsáveis por meio da assinatura do TCLE. O AVCI
19 agudo foi diagnosticado como déficit focal ao exame neurológico, com ou sem distúrbio de
20 consciência; início súbito agudo ou rapidamente progressivo que persistiu por > 24 horas,
21 confirmado por TC de crânio e/ou RNM. Os subtipos de AVCI foram classificados segundo
22 os critérios definidos pelo TOAST (ADAMS et al., 1993). A gravidade inicial do AVCI foi
23 avaliada com o escore da NIHSS (Anexo 2) (BROTT et al., 1989) obtido dentro de 24 horas
24 após a internação do paciente por dois neurologistas.

25 Dois desfechos do AVCI foram avaliados: incapacidade e mortalidade após três meses
26 e mortalidade após 12 meses da admissão hospitalar do paciente. A avaliação do estado de
27 incapacidade funcional foi realizada pela escala mRS (Anexo 3) (BONITA, BEAGLEHOLE,
28 1988). Todos os pacientes foram acompanhados por até 12 meses após o evento isquêmico,
29 com uma avaliação clínica agendada no Ambulatório de Neurologia do Ambulatório de
30 Especialidades do HU da UEL ou por meio de uma entrevista por telefone com o paciente ou
31 o mais próximo dele ou responsável, quando apropriado (WANG et al., 2014). Neste
32 momento, foram coletados dados sobre o estado funcional e mortalidade após três meses e
33 mortalidade após 12 meses do AVCI.

1 Dois desfechos funcionais foram avaliados: incapacidade e mortalidade após três
2 meses e mortalidade após 12 meses. Para o primeiro desfecho, os pacientes foram
3 categorizados como incapacidade leve ($mRS < 3$), incapacidade moderada/grave ($mRS \geq 3$) e
4 óbito ($mRS = 6$) (PARK et al., 2015). Os casos de morte também foram incluídos no grupo de
5 pacientes com $mRS \geq 3$ para garantir que usamos uma amostra de estudo não restrita que
6 reflete o resultado geral do prognóstico. Para o segundo desfecho, os pacientes foram
7 categorizados como sobreviventes e não sobreviventes no seguimento de 12 meses (KIM et
8 al., 2012; HUYBRECHTS et al., 2007; PARK et al., 2015). No caso de óbito, o avaliador
9 solicitou a data do mesmo. Esses desfechos de mortalidade foram definidos como qualquer
10 causa de morte, com exceção da morte acidental (WEI et al., 2018).

11

12 **4.3 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO**

13 Dos 153 pacientes inseridos inicialmente, 47 (30,7%) foram excluídos de acordo com
14 os seguintes critérios de exclusão: AVCH, AIT, doenças infecciosas e inflamatórias crônicas
15 como vírus da imunodeficiência humana tipo 1, infecções por vírus da hepatite B e vírus da
16 hepatite C, artrite reumatóide, lúpus eritematoso sistêmico, doença inflamatória intestinal,
17 insuficiência renal ou hepática, doenças inflamatórias agudas, como pneumonia e infecção do
18 trato urinário, história recente de febre nos últimos sete dias antes do início dos sintomas do
19 AVCI, história de infarto agudo do miocárdio, cirurgia nos últimos 30 dias, angiografia nos
20 últimos sete dias, trauma nos últimos 30 dias, doenças malignas, terapias anti-inflamatórias
21 esteróides ou não esteróides e uso de drogas imunossupressoras, além de dados incompletos.

22

23 **4.4 DADOS DEMOGRÁFICOS, ANTROPOMÉTRICOS, CLÍNICOS, DE IMAGEM E** 24 **LABORATORIAIS**

25 Em até 24 horas da admissão, foram coletados dados demográficos (idade, sexo e
26 etnia), antropométricos (peso, altura e IMC), clínicos como fatores de risco associados ao
27 AVCI (hipertensão arterial sistêmica, tabagismo, dislipidemia e DMT2), uso de
28 medicamentos pré-morbidade, entre eles, hipolipemiantes, anti-hipertensivos,
29 hipoglicemiantes e anticoagulantes dos indivíduos inseridos no estudo. Os dados foram
30 coletados pela aplicação de um questionário padrão (Apêndice 2) respondido pelo paciente ou
31 por seus responsáveis. Os dados foram, também, obtidos por meio de consulta aos prontuários
32 médicos e à base de dados LABHOS do Laboratório de Análises Clínicas (LAC) do HU/Uel.

33 As medidas antropométricas avaliadas foram peso corporal (kg) e altura (m), obtidas,
34 por interrogatório, durante a aplicação do questionário. O IMC foi calculado como peso (kg)

1 dividido pela altura (m) ao quadrado e expresso em kg/m^2 . A etnia foi autorreferida como
2 caucasiana e não caucasiana. A pressão arterial sistólica basal (PAS) e a pressão arterial
3 diastólica (PAD) foram medidas duas vezes e a média foi usada na análise; consideramos
4 hipertensão arterial sistêmica quando a PAS era ≥ 140 mmHg ou a PAD era ≥ 90 mmHg após a
5 fase aguda do AVCI ou, ainda, pelo uso de medicação anti-hipertensiva (JAMES et al., 2014).
6 O DMT2 foi definido como glicemia sérica em jejum ≥ 126 mg/dL, glicemia sérica sem jejum
7 ≥ 200 mg/dL e/ou uso de medicamento antidiabético (AMERICAN DIABETES
8 ASSOCIATION, 2014); dislipidemia foi definida pela presença de um ou mais valores
9 anormais de lipídios séricos: colesterol total ≥ 200 mg/dL, LDL-colesterol ≥ 130 mg/dL;
10 HDL-colesterol < 40 mg/dL e triglicerídeos > 150 mg/dL (NECP, 2002).

11

12 **4.5 EXAME DE USGD**

13 O exame de USGD dos pacientes foi realizado com o equipamento *Doppler* em cores
14 Siemens Acuson X300 (Siemens, Alemanha). Todos os pacientes foram avaliados pelo
15 mesmo examinador, o autor deste estudo. A cIMT, expressa em mm, foi calculada como a
16 média de três medidas das artérias carótida esquerda e direita. Os pacientes foram
17 categorizados de acordo com cIMT $< 1,0$ mm e $\geq 1,0$ mm (VLACHOPOULOS et al., 2015),
18 grau de estenose ($< 50\%$ e $\geq 50\%$ e presença de placa ($\geq 1,5$ mm ou $\geq 50\%$) (TOUBOUL et al.,
19 2004; PRICE et al., 2007).

20

21 **4.6 COLETA DE AMOSTRA BIOLÓGICA E EXAMES LABORATORIAIS**

22 A coleta de amostra de sangue periférico foi realizada em até 24 horas após a
23 admissão do paciente em tubo de coleta a vácuo sem anticoagulante e com anticoagulantes
24 EDTA, citrato de sódio e fluoreto. O soro e plasma foram obtidos após centrifugação 10 min
25 2500 R.P.M. e armazenados a -80°C até o momento do uso.

26 Os biomarcadores inflamatórios foram leucócitos periféricos determinados por auto-
27 analisador hematológico (*Auto Hematology Analyzer Mindray BC6800, Shenzhen Mindray*
28 *Bio-Medical Electronics, Shenzhen, China*), PCR determinada por imunoturbidimetria de alta
29 sensibilidade (usPCR) (*Architect C8000, Abbott Laboratory, Abbott Park, IL, EUA*) e níveis
30 plasmáticos de IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-12p70 e TNF- α determinados pelo método
31 imunofluorimétrico com imunoensaio multiplex de microesferas (*Novex Life Technologies,*
32 *Frederick, EUA*) para a plataforma Luminex no instrumento MAGPIX® (*Luminex Corp., TX,*
33 *EUA*).

1 Os biomarcadores de coagulação foram plaquetas, também determinadas pelo auto-
2 analisador hematológico (*Auto Hematology Analyzer Mindray BC6800, Shenzhen Mindray*
3 *Bio-Medical Electronics, Shenzhen, China*). O fibrinogênio foi determinado pelo método
4 Clauss, a proteína C e antitrombina pelo ensaio cromogênico, a proteína S pelo imunoensaio
5 ao látex e o FVIII pelo método coagulométrico o FvW pelo imunoensaio ao látex. Todos
6 esses biomarcadores foram determinados usando o coagulômetro automatizado (*ACL TOP*
7 *300; Instrumentation Laboratory, Lexington, Massachusetts, EUA*), de acordo com as
8 recomendações do fabricante.

9 Os biomarcadores de disfunção endotelial foram os níveis plasmáticos de sICAM-1,
10 sVCAM-1, molécula de adesão de células endoteliais plaquetárias 1 solúvel (sPECAM-1), E-
11 selectina solúvel (sE-selectina) e P-selectina solúvel (sP-selectina) determinadas pelo método
12 imunofluorimétrico com imunoensaio múltiplo de microesferas (*Novex Life Technologies,*
13 *Frederick, EUA*) para a plataforma Luminex no instrumento MAGPIX® (*Luminex Corp., TX,*
14 *EUA*).

16 4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

17 Os resultados das variáveis categóricas foram expressos como número absoluto (n) e
18 porcentagem (%) e das variáveis contínuas como média \pm erro padrão da média (EPM). Os
19 dados contínuos que não apresentaram distribuição normal também foram apresentados em
20 mediana e intervalo interquartil (IQR) de 25% e 75%.

21 Para o **artigo 1**, análises de tabelas de contingência (teste do χ^2) foram empregadas
22 para verificar as associações entre variáveis categóricas e os resultados foram expressos em
23 número absoluto (n) e porcentagem (%). O teste de Kolmogorov-Smirnov foi utilizado para
24 avaliar a normalidade da distribuição e a heterogeneidade da variância, conforme avaliado
25 pelo teste de Levene. As diferenças nas variáveis contínuas entre os grupos foram avaliadas
26 pelo teste de Mann Whitney. Análises do modelo linear geral univariado foram usadas para
27 avaliar os efeitos multivariados de variáveis explicativas na linha de base do NIHSS e no
28 seguimento de três meses da mRS, analisados separadamente. Além disso; a associação entre
29 o grau de estenose ($\geq 50\%$) e o resultado (mRS) seguimento de três meses e óbito em três
30 meses; foi avaliada por meio de análise de regressão logística binária *stepwise* automática
31 controlada por covariáveis que possam confundir a associação de interesse. Os modelos foram
32 delineados com as variáveis clínicas mais significativas associadas ao resultado. Além disso, a
33 regressão de Cox foi usada para avaliar o resultado da sobrevida após três e 12 meses de
34 acompanhamento. Foram calculadas Odds Ratio (OR) e intervalo de confiança (IC). Todas as

1 análises estatísticas foram realizadas usando o IBM SPSS *Windows* versão 24. Os testes
2 foram bicaudais e um nível alfa de 0,05 indicou resultados estatisticamente significativos.

3 Para o **artigo 2**, análises de tabelas de contingência (teste do χ^2 ou teste exato de
4 Fisher) foram empregadas para verificar as associações entre variáveis categóricas e os grupos
5 de estudo. O teste de Kolmogorov-Smirnov foi utilizado para avaliar a normalidade da
6 distribuição. A transformação logarítmica (Ln) de dados contínuos foi utilizada na análise
7 quando as variáveis não estavam normalmente distribuídas ou quando havia heterogeneidade
8 de variância avaliada pelo teste de Levene. Avaliamos as diferenças nas variáveis contínuas
9 entre os grupos usando análises de variância (ANOVA). Além da análise univariada, a
10 associação com variáveis significativas ($p < 0,1$) no teste ANOVA entre os grupos
11 sobreviventes e não sobreviventes foi avaliada usando cinco modelos diferentes de análise de
12 regressão logística binária *stepwise* automática controlada por covariáveis que podem
13 confundir a associação de interesse.

14 Para avaliarmos as variáveis que foram independentemente associadas à mortalidade
15 após 12 meses de seguimento, a análise por regressão logística foi realizada em duas etapas.
16 Na primeira etapa, analisamos separadamente quatro modelos com o clínico (modelo nº 1),
17 coagulação (modelo nº 2), inflamação (modelo nº 3) e disfunção endotelial (modelo nº 4),
18 como variáveis explicativas e acompanhamento de 12 meses com a mortalidade como
19 variável dependente. Na segunda etapa, um modelo nº 5 foi testado com as variáveis
20 significativas obtidas na primeira etapa. Os resultados foram expressos como OR ajustado
21 com o correspondente IC de 95%.

22 Os melhores preditores para mortalidade em 12 meses foram avaliados usando a área
23 sob a curva operacional característica do receptor (AUC/ROC) como nossa medida de
24 discriminação. A curva AUC/ROC reflete a capacidade dos modelos de discriminar aqueles
25 com sobreviventes do que aqueles não sobreviventes. O valor preditivo positivo (VPP), o
26 valor preditivo negativo (VPN), a sensibilidade e a especificidade usando modelos
27 combinados também foram determinados. A discriminação foi avaliada pela AUC,
28 comparando as duas AUCs pelo teste de DeLong. A partir dos dados obtidos no presente
29 estudo, geramos aleatoriamente 1000 amostras de *bootstrap* do mesmo tamanho, obtidas por
30 reamostragem e substituição de cada amostra, para teste de validação. As análises estatísticas
31 foram realizadas usando (IBM SPSS, *Windows* versão 24 e ambiente R (*R Development Core*
32 *Team 2019*) com dois pacotes: *pROC* e *Optimal cut points*. Os testes foram bicaudais e um
33 nível alfa de 0,05 indicou resultados estatisticamente significativos

1 **5 RESULTADOS**

2

3 Os resultados serão apresentados e discutidos em dois artigos originais que serão
4 submetidos para publicação em revista internacional nas áreas de neurologia/
5 neuroinflamação/ neuroimunologia

6

7 **5.1 ARTIGO 1 - *Stroke severity, type 2 diabetes mellitus and carotid stenosis as potential***
8 ***predictors of short-term outcome in patients with acute ischemic stroke***

9

10 **5.2 ARTIGO 2 - *Elevated National Health Institute Stroke Scale combined with elevated***
11 ***serum levels of C-reactive protein predict long-term mortality in Brazilian patients with acute***
12 ***ischemic stroke***

13

14

15

16

17

18

19

20

21

22

23

24

25

26

27

28

29

30

31

32

33

34

1 **Article 1**

2 **Stroke severity, type 2 diabetes mellitus and carotid stenosis as potential predictors of**
3 **short-term outcome in patients with acute ischemic stroke**

4

5 Ana Lucia Cruz Fürstenberger Lehmann¹, Daniela Frizon Alfieri², Maria Carolina Martins de
6 Araújo³, Emanuelle Roberto Trevisani², Maisa Rocha Nago², Francisco Spessatto Pesente⁴,
7 Jair Roberto Gelinski², Leonardo Bodner de Freitas², Tamires Flauzino², Márcio Francisco
8 Lehmann⁵, Marcell Alysson Batisti Lozovoy^{2,6}, José Wander Breganó^{2,6}, Andréa Name
9 Colado Simão^{2,6}, Michael Maes^{7,8}, Edna Maria Vissoci Reiche^{2,6}

10

11 ¹ Department of Clinical Medicine, Health Sciences Center and Radiology Service of the
12 University Hospital, State University of Londrina, Paraná, Brazil;

13 ² Laboratory of Research in Applied Immunology, Health Sciences Center, State
14 University of Londrina, Paraná, Brazil;

15 ³ Clinical Neurology Postgraduate Program, University Hospital of State University of
16 Londrina, Paraná, Brazil;

17 ⁴ Surgery Neurology Postgraduate Program, University Hospital of State University of
18 Londrina, Paraná, Brazil;

19 ⁵ Department of Clinical Surgery, Health Sciences Center, and Neurosurgery Service of
20 the University Hospital, State University of Londrina, Paraná, Brazil;

21 ⁶ Department of Pathology, Clinical Analysis, and Toxicology, Health Sciences Center,
22 State University of Londrina, Paraná, Brazil;

23 ⁷ IMPACT Strategic Research Centre, School of Medicine, Deakin University, Geelong,
24 Victoria, Australia.

25 ⁸ Department of Psychiatry, King Chulalongkorn Memorial Hospital, Chulalongkorn,
26 Bangkok, Thailand

27

28 **Address for correspondence:** Edna Maria Vissoci Reiche, Department of Pathology,
29 Clinical Analysis and Toxicology, Health Sciences Center, Londrina State University,
30 Av. Robert Koch, 60, CEP 86.038-440, Londrina, Paraná, Brazil. Phone/FAX number:
31 +55-43-3371-2619. e-mail: reiche@sercomtel.com.br

32 ORCID: 0000-0001/6507-2839.

33

34

1 **Abstract**

2 **Background:** Acute ischemic stroke (IS) is one of the leading causes of morbidity and
3 mortality worldwide and it is associated with an important functional disability.

4 **Objective:** to evaluate a set of demographics, clinical and imaging variables as potential
5 predictors of short-term disability and mortality in patients with IS.

6 **Methods:** 106 consecutive patients with IS were enrolled. We analyzed demographic,
7 anthropometric, risk factors for IS, clinical information, the severity of IS using the National
8 Institutes of Health Stroke Scale (NIHSS) and peripheral blood samples obtained within 24 h
9 of admission. The severity was categorized as mild (NIHSS 0-4), moderate (NIHSS 5-14) and
10 severe (NIHSS ≥ 15). Carotid intima-media thickness (cIMT) and carotid stenosis were
11 visualized using ultrasonography with Doppler performed during the patient hospitalization.
12 The cIMT was categorized as < 1.0 mm and ≥ 1.0 mm and the degree of stenosis as $< 50\%$ and
13 $\geq 50\%$. Short-term outcome was measured using modified Rankin scale (mRS) three-months
14 after hospital admission. The short-term outcome was categorized as mild disability (mRS < 3),
15 moderate/severe disability (mRS ≥ 3) or death (mRS=6).

16 **Results:** Female IS patients were predominant (51.9%); the median age was 66.0 years and
17 the most frequent modifiable risk factors for IS were hypertension (71.2%), dyslipidemia
18 (48.1%) and type 2 diabetes mellitus (T2DM) (30.8%) and presence of carotid stenosis $\geq 50\%$
19 (27.3%). The presence of carotid stenosis $\geq 50\%$ (p=0.032), T2DM (p=0.016) and NIHSS
20 (p < 0.001) were predictors of poor prognosis; together, these variables classified correctly
21 85.2% of all cases (sensitivity: 90.2%; specificity: 81.8%). NIHSS predicted short-term
22 mortality and correctly classified 85.7% of all cases (sensitivity: 95.8%). In Cox regression
23 analysis, adjusted for possible confounder variables, IS patients with higher NIHSS showed
24 lower survival after three-month follow-up than those with lower NIHSS [odds ratio: 41.35,
25 95% confidence interval: 1.46-116.0, p=0.029].

26 **Conclusion:** Carotid stenosis $\geq 50\%$, T2DM and high NIHSS were predictors of poor
27 disability and NIHSS was predictor of short-term mortality. Therefore, high NIHSS at
28 admission may early predict short-term functional impairment as well as mortality in IS
29 patients, underscoring the importance of this measurement to early management of IS
30 patients.

31

32 **Keywords:** ischemic stroke, disability, mortality NIHSS, carotid stenosis, type 2 diabetes
33 mellitus

34

1 **Introduction**

2 Acute ischemic stroke (IS) is one of the leading causes of morbidity and mortality
3 worldwide and is associated with an important functional disability. One third of IS patients
4 will die within some months from the ischemic event or its complications (Feigin et al.,
5 2017). Among surviving IS patients, 20% require institutional care during the first three
6 months after the injury and 15% to 30% suffer from permanent disability (Saenger;
7 Christenson, 2010). Moreover, approximately one third of patients did not survive three years
8 after the first-ever IS. While age and markers of severe IS were the major predictors of death
9 at one-month follow-up, comorbidities and variables associated with atherosclerotic vascular
10 disease predicted long-term mortality (Koton et al., 2010).

11 There are substantial worldwide variations of IS mortality (Sarti et al., 2000) that
12 differed within study populations from several countries (Truelsen et al., 2003; Bronnum-
13 Hansen et al., 2001; Eriksson et al., 2001; Collins et al., 2003; Petty et al., 2000; Vernino et
14 al., 2003; Hankey et al., 2000). Risk factors for death within three years of an IS include
15 advanced age, IS subtypes, initial stroke severity, previous stroke/transient ischemic attack
16 (TIA), type 2 diabetes mellitus (T2DM) and cardiac disease (Eriksson et al., 2001; Collins et
17 al., 2003; Petty et al., 2000; Vernino et al., 2003; Hankey et al., 2000; Appelros et al., 2003;
18 Shukla et al., 2018). The association between IS subtypes and outcome has been investigated
19 but conflicting results have been reported (Kolominisky-Rabas et al., 2001; Wei et al., 2018).
20 Current classification models, based on IS etiology, are insufficient to predict functional
21 prognosis (Saenger; Christenson, 2010) and there is great interest in the stroke clinical
22 research community in developing a valid surrogate outcome measure (Thijs et al., 2000;
23 Makris et al., 2018).

24 Clinical information, including measures of neurological function and IS severity in
25 combination with computed tomography (CT) infarct volume has been evaluated as a
26 potential early outcome measure. However, its value as an early measure has been questioned
27 as a result of the weaker association between infarct volume and standard clinical outcome
28 measures (Saver et al., 1999). Age and initial IS severity measured using the National Institute
29 of Health Stroke Scale (NIHSS) were the main prognostic factors on long-term survival for
30 patients with IS (Adams et al., 1999; Petty et al., 2000; Hankey et al., 2000; Eriksson et al.,
31 2001; Appelros et al., 2003; Johnston et al., 2003; Vernino et al., 2003; Chang et al., 2010).
32 One of the biomarkers of inflammation is based on imaging of atherosclerosis (Bustamante et
33 al., 2016). The degree of stenosis $\geq 50\%$ has been associated with high risk of IS (Costa et al.,
34 2019), with the benefit for endarterectomy (Campos et al., 2004) and percutaneous carotid

1 intervention (Esteva et al., 2008); however, little is known about its role as predictor of
2 severity and mortality after an IS.

3 Carotid ultrasonography with doppler (USGD) is a single and noninvasive method that
4 is extensively used for evaluating atherosclerosis (Ebrahim et al., 1999) and carotid intima-
5 media thickness (cIMT) is traditionally associated with atherosclerotic lesions in the general
6 population and has been used as a marker for early cardiovascular events. The mean cIMT has
7 been shown strongly associated with cardiovascular diseases (O’Leary et al., 1999; Lorenz et
8 al., 2007). However, the mean cIMT and carotid plaque score showed a nonsignificant trend
9 of higher risk of mortality after adjustment for traditional risk factors for IS (Kawai et al.,
10 2013).

11 Age and sex, as well as body mass index (BMI), smoking, and hypertension are well-
12 recognized non-modifiable and modifiable, respectively, risk factors for IS (Benjamin et al.
13 2018). However, the potential role of these aforementioned risk factors in predicting the IS
14 outcome is conflicting (Tziomalos et al., 2015). On the other hand, T2DM is a major
15 modifiable risk factor for IS (Benjamin et al., 2018) and also a prognostic factor for IS (Jia et
16 al., 2014). IS in patients with T2DM appears to be more severe and to result in higher rates of
17 dependency and mortality than those without T2DM (Hatzitolios et al., 2009).

18 Currently, insufficient information is available regarding functional outcome or
19 survival after IS in patients attended from the Brazilian population (Carvalho et al., 2011). A
20 study assessed the performance of four IS prognostic scales in a Brazilian population,
21 including the NIHSS and, although the four scales were significantly and independently
22 associated functional outcome, none of them demonstrated good or excellent ability to predict
23 in-hospital mortality and functional outcome (Kuster et al, 2016).

24 At our knowledge, none of these aforementioned studies carried out worldwide and in
25 Brazilian population have evaluated the potential role of different demographic, clinical and
26 imaging variables as IS prognostic biomarkers. Thus, the purpose of this study was to
27 evaluate a panel of demographic, clinical and imaging variables as potential predictor
28 biomarkers of short-term functional disability and mortality in patients with IS.

30 **Methods**

31 The protocol was approved by the Institutional Research Ethic Committee of the State
32 University of Londrina, Paraná State, Brazil (CAAE: 61361416.9.0000.5231, n. 1.816.305)
33 and a written consent form was obtained from all of the individuals.

1 *Subjects*

2 A total of 153 patients with symptoms of IS, adults and both sexes, who were
3 consecutively admitted during March 2017 to March 2018 from the Emergency Room of the
4 University Hospital of State University of Londrina were invited to participate in the study.
5 Of them, 106 patients met the inclusion criteria of IS diagnosis with focal neurological signs
6 or symptoms thought to be of vascular origin that persisted for > 24 hours, confirmed by brain
7 CT and clinic examination in baseline conditions. The IS subtype was defined using the Trial
8 of ORG 10172 in Acute Stroke Treatment (TOAST) classification, such as large artery
9 atherosclerosis (LAAS), lacunar infarct (LAC), cardioembolic infarct (CEI), stroke of other
10 determined etiology (ODE), and stroke of undetermined etiology (UDE) (Adams et al., 1993).
11 All the IS patients were treated and managed using a standardized protocol adapted from
12 international guidelines for managing IS (Brazil, 2013).

13 The exclusion of 47 patients was made according to these criteria: hemorrhagic stroke,
14 TIA, chronic infectious and inflammatory conditions, such as human immunodeficiency virus
15 type 1 (HIV-1), hepatitis B and C infections, rheumatoid arthritis, systemic lupus
16 erythematosus, and inflammatory bowel disease; renal or liver failure; acute inflammatory
17 diseases; recent history of fever within last seven days prior to onset of stroke symptoms;
18 history of myocardial infarction, surgery within last 30 days, angiography within last seven
19 days, trauma within last 30 days, malignancies, steroid or non-steroidal anti-inflammatory
20 therapies and immunosuppressive drugs use, as well as incomplete data.

21 Demographic data, lifestyle factors and medical history were obtained at the time of
22 admission for subjects using clinical evaluation and a standard questionnaire. The
23 anthropometric measures were verified by body weight and height reported by the individuals,
24 when it was possible, or by the patient's family. BMI was calculated as weight (kg) divided
25 by height (m) squared. The ethnicity was self-reported as Caucasian and non-Caucasian.
26 Baseline systolic blood pressure (SBP) and diastolic blood pressure (DBP) were measured
27 twice and the mean of these two measurements was used in the analysis; we considered
28 systemic arterial hypertension when SBP was ≥ 140 mmHg or DBP was ≥ 90 mmHg after the
29 acute phase of IS. Moreover, use of antihypertensive medication was an indication of
30 systemic arterial hypertension (James et al., 2014). T2DM was defined as a fasting serum
31 glucose ≥ 126 mg/dL, a non-fasting serum glucose ≥ 200 mg/dL and/or use of antidiabetic
32 medication (American Diabetes Association, 2014); dyslipidemia was defined by the presence
33 of one or more than one of the abnormal serum lipid concentration: total cholesterol ≥ 200

1 mg/dL, low-density lipoprotein (LDL)-cholesterol ≥ 130 mg/dL; high-density lipoprotein
2 (HDL)-cholesterol < 40 mg/dL and triglycerides > 150 mg/dL (NECP, 2002).

3 4 *Stroke severity and outcome measures*

5 A baseline stroke severity was assessed with NIHSS score obtained after the hospital
6 admission of the patient and was categorized into three groups: mild (NIHSS 0-4), moderate
7 (NIHSS 5-14) and severe (NIHSS ≥ 15) (Brott et al., 1989). Two functional outcomes were
8 evaluated: disability and mortality after three-month follow-up using the modified Rankin
9 Scale (mRS) (Bonita and Beaglehole, 1998) applied through clinical examination or using
10 telephone interviews with the patients or their relatives (Wang et al., 2014). For the first
11 outcome, the patients were categorized with mild disability (mRS < 3), moderate/severe
12 (mRS ≥ 3), and death (mRS=6) (Park et al., 2015). The death cases were included in the group
13 of patients with mRS ≥ 3 to ensure that we use a non-restricted study sample reflecting overall
14 outcome. The mortality endpoint was defined as any cause of death, with the exception of
15 accidental death (Wei et al., 2018).

16 17 *Carotid intima-media thickness measurement*

18 The USGD examination was performed using the *Siemens Acuson X300 Color*
19 *Doppler Machine* (Siemens, Germany). All IS patients were evaluated by the same trained
20 examiner, the author of the present study. The cIMT (expressed in mm) was calculated as the
21 average of three measurements of the left and right carotid artery. The patients were
22 categorized according to cIMT < 1.0 mm and ≥ 1.0 mm (Vlachopoulos et al., 2015), degree of
23 stenosis ($< 50\%$ and $\geq 50\%$) (Touboul et al., 2004; Price et al., 2007).

24 25 *Statistical Analysis*

26 Analyzes of contingency tables (χ^2 test) were employed to check the associations
27 between categorical variables and the results were expressed as absolute number (n) and
28 percentage (%). The Kolmogorov-Smirnov test was used to assess normality of distribution
29 and heterogeneity of variance as assessed with the Levene test. The continuous data that did
30 not present normal distribution were presented in median and interquartile range (IQR) of
31 25% and 75% values. We assessed the differences in continuous variables between groups
32 using Mann Whitney test. Univariate general linear model (GLM) analysis was used to assess
33 the associations between explanatory variables (age, sex, ethnicity, BMI, smoking, stenosis,
34 LAAS, T2DM) on the baseline NIHSS and endpoint mRS values. We used two automatic

1 stepwise logistic regression analyses in order to delineate the best clinical predictors for the
2 outcome, and to verify the association between carotid stenosis $\geq 50\%$ and the different
3 outcome variables. In the Cox regression analysis, we added possible confounder variables
4 including age, sex, ethnicity, BMI, comorbidities and degree of stenosis. All statistical
5 analyses were performed using IBM SPSS windows version 24. Tests were 2-tailed and an
6 alpha level of 0.05 indicated statistically significant results.

8 RESULTS

9 The study included 106 patients with IS and females were predominant (n=55, 51.9%).
10 Median (IQR) age of patients was 66.0 (56.0-75.0) years. Systemic arterial hypertension was
11 noted in 74 patients (71.2%). The NIHSS at admission ranged from 0 to 32, with median of
12 8.0 (IQR: 3.0-16.0). The severity of IS was mild in 38/103 (36.9%) patients, moderate in
13 37/103 (35.9%) patients and severe in 28/103 (21.2%) patients. The degree of stenosis of
14 $<50\%$ was observed in 78/106 (72.6%) patients, 50-70% was observed in 18/106 (17.9%),
15 and $\geq 70\%$ was observed in 10/106 (9.4%). The cIMT ranged from 0.60 mm to ≥ 1.6 mm, with
16 median (IQR) of 1.00 mm (0.9-1.2). The prevalence of cIMT ≥ 1.0 mm was 42.5% (45/106
17 patients). The LAAS subtype was more frequent, observed among 33/106 (31.1%) patients.
18 TOAST subtypes were dichotomized as LAAS *versus* non LAAS for further analyses. Other
19 baseline characteristics of the IS patients are shown in Table 1.

20 In order to delineate which clinical explanatory variables contributed to the severity of
21 neurological damage at hospital admission using NIHSS, as well as at short-term disability
22 using mRS three-month follow-up, we performed a univariate linear model analysis with
23 these dependent variables separately, and demographic, anthropometric, and clinical data,
24 including IS subtype and degree of stenosis, as explanatory variable (Table 2).

25 We found that age (positively) (p=0.043) and BMI (negatively) (p=0.012) showed
26 significant effects explaining the variance in the NIHSS, although with a small effect size.
27 However, sex (p=0.893), ethnicity (p=0.072), current smoking (p=0.269), carotid stenosis \geq
28 50% (p=0.523) and LAAS subtype (p=0.216) had no significant effects on the NIHSS. The
29 presence of systemic arterial hypertension, T2DM and dyslipidemia were not significant (data
30 not shown). When we evaluated the mRS three-month follow-up, the NIHSS at baseline
31 showed a strong effect (partial eta square=0.504 p<0.001) on this short-term outcome,
32 whereas the presence of carotid stenosis $\geq 50\%$ showed a significant albeit weak effect (partial
33 eta square=0.056, p=0.043). Age (p=0.983), sex (p=0.309), ethnicity (p=0.793), BMI
34 (p=0.800), current smoking (p=0.973), LAAS subtype (p=0.593), and T2DM (p=0.079) had

1 no significant effects on mRS after three-month follow-up. The presence of systemic arterial
2 hypertension and dyslipidemia were also not significant. There were no significant two-way
3 interactions between stenosis and any of the categorical data included in the analysis as well
4 as use of hypoglycemic, hypolipemiant and antihypertensive drugs (data not shown).

5 In order to delineate the best clinical predictors for the outcome, and to verify the
6 association between carotid stenosis $\geq 50\%$ and the different outcome variables, we have
7 carried out two automatic stepwise logistic regression analyses as follows: #1 model: mRS ≥ 3
8 as dependent variable (and mRS < 3 as reference group); #2 model: death as dependent
9 variable (no death as reference group). All clinical variables describe above were entered in
10 this analysis (Table 3).

11 In #1 model regression, the results showed that carotid stenosis $\geq 50\%$, T2DM and
12 NIHSS at baseline were significant predictors of endpoint mRS ($\chi^2=64.95$, $df=3$, $p<0.001$,
13 pseudo- R^2 Nagelkerke=0.713); together, these three variables could classified correctly 85.2%
14 of all cases, with sensitivity of 90.2% and specificity of 81.8%. It is important to emphasize
15 that when we entered only carotid stenosis $\geq 50\%$ in the analysis, it showed a modest
16 prediction of endpoint mRS ($\chi^2=9.27$, $df=1$, $p=0.002$, pseudo- R^2 Nagelkerke=0.127) with an
17 accuracy of 62.4%, sensitivity of 86.0% and specificity of 40.0%. In #2 model regression,
18 only baseline NIHSS predicted death at three-month follow-up (OR: 1.209, $p<0.001$)
19 ($\chi^2=24.67$, $df=1$, $p<0.001$, R^2 Nagelkerke=0.370) whereby 85.7% of all cases were correctly
20 classified with a sensitivity of 95.8% and specificity of 47.4%. Forced entry of carotid
21 stenosis ($\geq 50\%$) in the analysis showed that this variable was not significant.

22 In the Cox regression analysis, we added possible confounder variables (age, sex,
23 ethnicity, BMI, comorbidities, degree of stenosis) and the results revealed that IS patients
24 with higher NIHSS scores (< 5 , 5-14 and ≥ 15) showed lower survival after three-month
25 follow-up then those with lower NIHSS scores. When the NIHSS categories were compared
26 with each other, IS patients with severe NIHSS scores showed low survival than those with
27 mild NIHSS scores (Hazard ratio: 41.35, 95% CI: 1.46-116.0, $p=0.029$) (Figure 1). Although
28 IS patients with stenosis $\geq 50\%$ showed lower survival compared with those with stenosis $<$
29 50%, the difference was not significant ($p=0.893$) (data not shown).

30
31
32
33
34
35

1 **Table 1** Baseline characteristics of patients with acute ischemic stroke attended at University Hospital
 2 during March 2017 to March 2018

Characteristic	Sample (n)	IS patient
Age (year) range/ Median (IQR)	106	34.0-89.0/66.0 (56.0-75.0)
Sex Female/Male n (%)	106	55 (51.9) / 51 (48.1)
Ethnicity Caucasian/non-Caucasian n (%)	105	68 (64.7) / 37 (35.2)
Body mass index (kg/m ²)	97	27.0 (24.2-30.1)
Current smoking (Yes/No)	102	22 (21.5) /80 (78.4)
Systemic arterial hypertension (Yes/No)	104	74 (71.1) /30 (28.8)
Type 2 diabetes mellitus (Yes/No)	104	32 (30.7) /72 (69.2)
Dyslipidemia (Yes/No)	104	50 (48.1) /54 (51.9)
Antihypertensive (Yes/No)	104	74 (71.2) /30 (28.8)
Hypoglycemiatic (Yes/No)	103	20 (19.4) /83 (80.6)
Hypolipemiant (Yes/No)	104	37 (35.6) /67 (64.4)
Degree of stenosis n (%)		
<50 %		78 (72.6)
50-69 %	106	18 (17.9)
≥70 %		10 (9.4)
cIMT range/ Median (IQR)		0.6-1.6/1.0 (0.9-1.2)
<1.0 / ≥1.0	106	45 (42.5) / 61 (57.5)
NIHSS range/ Median (IQR)	103	0-32.0/8.0 (3.0-16.0)
0-5/ >5-14/≥ 15		38 (36.9)/37 (35.9)/28 (21.2)
mRS three-month follow-up		
range/ Median (IQR)	93	0.0-6.0 /3 (1.0-5.0)
<3 / ≥3		43 (46.2) / 50 (53.8)
Death three-month follow-up	104	19 (18.3)
IS subtypes TOAST n (%)		
Large artery atherosclerosis stroke		33 (31.1)
Cardioembolic	106	27 (25.5)
Lacunar		26 (24.5)
Other determined etiology		5 (4.7)
Undetermined etiology		15 (14.1)

3 The continuous variables were expressed as marginal median (25-75% IQR: interquartile range)/ minimum-
 4 maximum; the categorical variables were expressed as number (n) and percentage (%). IS: acute ischemic stroke;
 5 cIMT: carotid intima-media thickness; NIHSS: National Institute of Health Stroke Scale; mRS: modified Rankin
 6 Scale; mRS <3: mild functional impairment; mRS ≥3: moderate/severe functional impairment

1 **Table 2** Results of univariate linear model analysis with baseline National Institute of Health
 2 Stroke Scale (NIHSS) and modified Rankin Scale (mRS) three-month follow-up as dependent
 3 variables and demographic, anthropometric, and clinical characteristics as explanatory
 4 variables

Dependent variable	Explanatory variables	df	F	P value	Eta partial square
Baseline NIHSS	Age (+)	10/81	4.22	0.043	0.050
	Sex	10/81	1.42	0.310	-
	Ethnicity	10/81	3.330	0.072	-
	BMI (-)	10/81	6.67	0.012	0.079
	Current smoking	10/81	1.24	0.269	-
	Stenosis \geq 50%	10/81	0.412	0.523	-
	LAAS X não LAAS	10/81	1.55	0.216	-
mRS three-month follow-up	Age (+)	11/71	0.018	0.893	-
	Sex	11/71	1.048	0.309	-
	Ethnicity	11/71	0.70	0.793	-
	BMI (-)	11/71	0.065	0.800	-
	Current smoking	11/71	0.001	0.973	-
	Stenosis \geq 50% (+)	11/71	4.24	0.043	0.056
	LAAS	11/71	0.288	0.593	-
	NIHSS (+)	11/71	72.20	<0.001	0.504
T2DM	11/71	3.168	0.079	-	

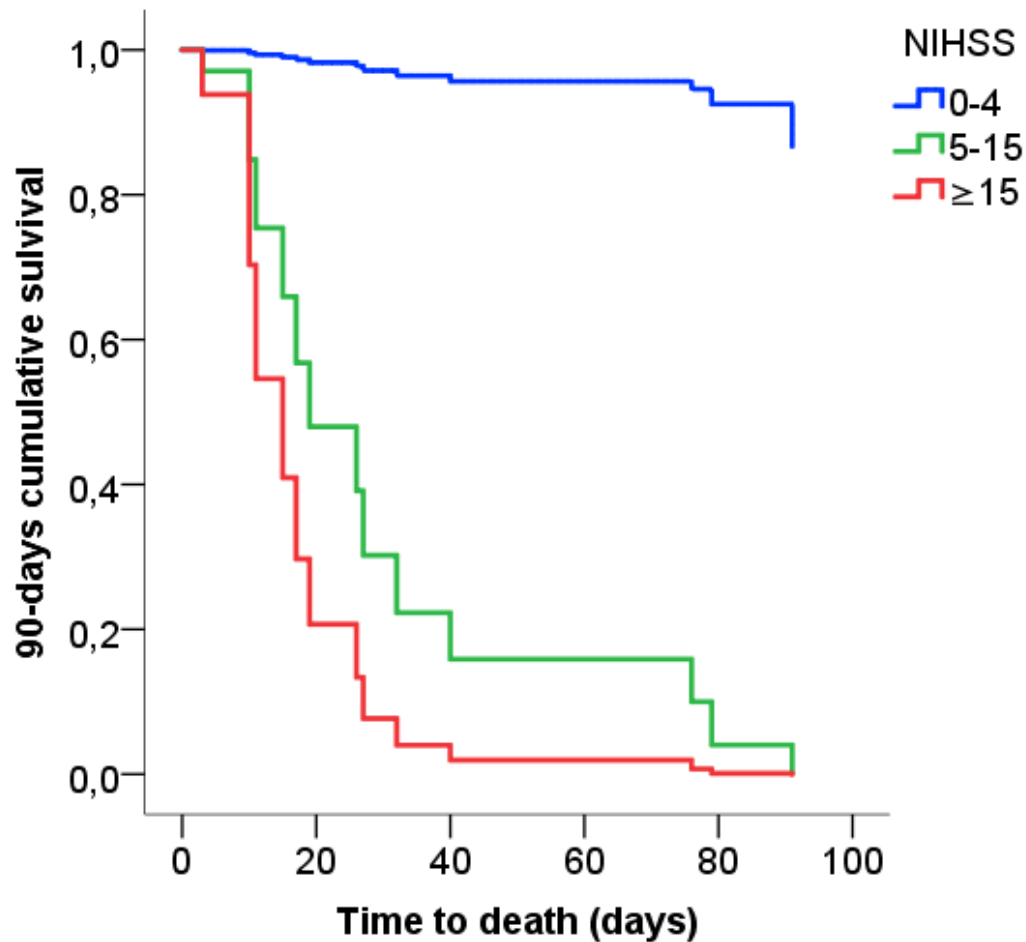
5 NIHSS: National Institute of Health Stroke Scale; mRS: modified Rankin Scale; BMI: body mass index; LAAS:
 6 large artery atherosclerosis stroke; T2DM: type 2 diabetes mellitus. Presence of hypertension, dyslipidemia,
 7 T2DM and current therapy did not alter the NIHSS and mRS three-month follow-up (data not shown). NIHSS
 8 and mRS three-month follow-up presented equality of variances ($p=0.633$ and $p=0.831$, respectively) (Levene
 9 test).

10

Table 3 Results of binary logistic regression analyses (forward stepwise) with outcome (mRS) and death after three-month follow-up as dependent variable

Model	Dependent variable	Explanatory variables	β (EP)	Wald	P value	Odds ratio (95% CI)	R ² Nagelkerke
#1	mRS three-month follow-up (<3 vs. ≥ 3)	Stenosis $\geq 50\%$	1.934 (0.90)	4.617	0.032	6.91 (1.18-40.34)	0.713
		T2DM	2.034 (0.84)	5.843	0.016	7.64 (1.46-39.77)	
		NIHSS	0.377 (0.08)	20.771	<0.001	1.45 (1.24-1.71)	
#2	Death 3-month follow-up	NIHSS	0.190 (0.05)	13.59	<0.001	1.209 (1.09-1.33)	0.370
		Stenosis $\geq 50\%$	0.839 (0.69)	1.472	0.225	2.313 (0.57-8.96)	

CI: confidence interval; T2DM: type 2 diabetes mellitus; NIHSS: National Institute of Health Stroke Scale; mRS: modified Rankin Scale; #1: $\chi^2=64.95$, $df=3$, $p<0.001$; together, these three variables classified correctly 85.2% of all cases, with sensitivity of 90.2% and specificity of 81.8%; #2: $\chi^2=24.67$, $df=1$, $p<0.001$, when 85.7% of all cases were correctly classified with sensitivity of 95.8% and specificity of 47.4%. Only the carotid stenosis $\geq 50\%$, showed a modest predictor of poor prognosis (OR: 4.46, $\chi^2=9.27$, $df=1$, $p=0.002$, R² Nagelkerke=0.127)



1

2

3 **Figure 1** Cox regression after three-month follow-up estimates by the baseline National
 4 Institute of Health Stroke Score (NIHSS). The severity was categorized as mild (0-4)
 5 moderate (5-14) and severe (≥ 15). Patients with acute ischemic stroke (IS) with severe NIHSS
 6 scores showed low survival than those with mild NIHSS scores [odds ratio (OR): 41.35, 95%
 7 confidence interval (CI): 1.46-116.0, $p=0.029$].

8

9

10

11

12

13

14

1 Discussion

2 The main finding of this study is that NIHSS, degree of stenosis and the presence of
3 T2DM can early predict IS functional disability and mortality within three months post-stroke
4 While high baseline NIHSS, the presence of high degree of stenosis and T2DM were
5 predictors of functional impairment at three-month follow-up, only baseline NIHSS served as
6 independent predictor of unfavorable outcome, such as mortality after three-month in patients
7 with IS.

8 This result underscores previous studies that high NIHSS predicted poor prognosis and
9 mortality. The prognostic power of 24 to 48 hours NIHSS was higher than baseline NIHSS
10 for one-month poor outcome (AUC 0.92 *versus* 0.75) and mortality (AUC 0.85 *versus* 0.72)
11 (Rangaraju et al., 2016). Therefore, the assessment of IS severity by NIHSS has been
12 recommended to be incorporated into routine clinical practice to allow early risk stratification
13 and short-term prognosis for IS victims (Chang et al., 2006; Liu et al., 2007).

14 NIHSS is known to be useful for both clinical prognosis and investigative research of
15 IS (Sucharew et al., 2013). Adams et al. (1999) have shown that patients with a baseline
16 NIHSS score >16 are more likely to die, whereas those with a score < 6 are more likely to
17 recover from stroke. IS severity and presence of complications were also predictors of death
18 at one-month and at one-year in a multicenter prospective cohort of IS patients (Abdo et al.,
19 2019). The NIHSS score at three-months follow-up was also suggested to be an excellent
20 estimate of dependence in situations when a clinically meaningful dichotomization is required
21 (Johnston et al., 2003). These authors found that an baseline NIHSS score of ≥ 15 resulted in
22 a 100% predictive positive value for identifying dependence and suggested that patients with
23 NIHSS scores of ≥ 15 at three months after the ischemic event are highly likely to be
24 dependent. The AUC demonstrated remarkably little degradation in the validation data set and
25 ranged from 0.75 to 0.89.

26 An apparent conflicting result with regard to the NIHSS score was obtained in a
27 Brazilian population (Kuster et al., 2016). The latter authors assessed the performance of four
28 IS prognostic scales, including NIHSS, Stroke Prognostication Using Age and NIHSS
29 (SPAN-100), Acute Stroke Registry and Analysis of Lausanne (ASTRAL), and Total
30 Health Risks in Vascular Events (THRIVE); among them, THRIVE and NIHSS were the
31 scales with better performance for functional outcome and THRIVE had the best performance
32 for mortality. However, these authors did not follow the patients after discharge, so there are
33 not data concerning three-month outcomes.

1 In our study, T2DM was present in 30.7% of the IS patients and was associated with
2 the three-month outcome. Our results are in agreement with previous studies (Tziomalos et
3 al., 2014; Tziomalos et al., 2015; Benjamin et al., 2018). T2DM is a risk factor for IS and
4 given its rising prevalence driven by ageing and increasing obesity rates, T2DM is expected to
5 contribute more to the global burden of stroke (Benjamin et al., 2018). Moreover, IS in
6 patients with T2DM appears to be more severe and to result in higher rates of dependency and
7 mortality (Hatzitolios et al., 2009). Hyperglycemia and hypoglycemia are involved in the
8 neuroinflammation after IS (Shukla et al., 2018) and, therefore, T2DM is also a prognostic
9 factor for IS (Jia et al., 2014). Moreover, blood glucose may cross the blood-brain barrier
10 (BBB) and may promote oxidative stress through the impairment of radical scavenging and
11 glutathione cycle functions, inducing aberrant osmolarity in brain cells and promoting protein
12 glycation with formation of advanced glycation end-products (Tomlinson and Gardiner,
13 2008). Another study showed that T2DM does not appear to affect IS severity but is
14 independently associated with a worse functional outcome at discharge (Tziomalos et al.,
15 2014). Furthermore, prior treatment with antidiabetic agents in patients who suffer an IS
16 might result in less severe stroke, better functional outcome and low mortality risk (Darsalia
17 et al., 2013; Li et al., 2010; Magkou and Tziomalos, 2014; Tziomalos et al., 2015).

18 In the present study, the IS severity was positively associated with age and negatively
19 associated with BMI, although these variables had a weak effect on the NIHSS. Age and sex,
20 as well as BMI, smoking, and hypertension are well-recognized, non-modifiable and
21 modifiable, respectively, risk factors for IS (Benjamin et al., 2018). However, the potential
22 role of these aforementioned risk factors in predicting the IS outcome is conflicting.

23 Regarding BMI, cohort studies have shown different results. While some studies
24 showed that the risks of death and functional disability in overweight and obese patients did
25 not differ significantly from normal-weight patients, others showed that underweight patients
26 had poor outcomes after IS (Sun et al., 2017). Each decrease in one unit of BMI was
27 associated with 3% increase in the poor prognosis and 6% increase in the mortality (Saini et
28 al., 2014). Obese patients with a BMI above 30 kg/m² showed a better long-term prognosis
29 than those with a BMI from 25 to 30 kg/m², 20 to 25 kg/m², and lower than 20 kg/m². The
30 obesity paradox was confirmed in this cohort of elderly patients with heart failure. Those with
31 higher BMI and improved survival had a better nutritional status than those with lower BMI,
32 which may explain the differences in survival. One reason for this effect in the poor prognosis
33 could be that low BMI can result in health risks, such as low muscle mass, which are

1 associated with worsening nutritional status, poor physical fitness, inflammation and
2 alteration of the hormonal environment (Casas-Vara et al., 2012).

3 Both cIMT and carotid stenosis have been used to predict cardiovascular risk with a
4 significant predictive value for both stroke and myocardial infarction, independent of
5 traditional cardiovascular risk factors (Sehestedt et al., 2010; Nambi et al., 2010). However,
6 their potential role in predicting the outcome of patients with IS has not been extensively
7 evaluated.

8 The mean cIMT from carotid ultrasonography has been widely proposed as a potential
9 surrogate outcome in different clinical trials (Johnston et al., 2002). cIMT represents the
10 degree of atherosclerosis and is a predictor of cardiovascular morbidity and mortality (Uthoff
11 et al., 2008) and is recognized as a useful tool for early identification of systemic
12 atherosclerosis (Lorenz et al., 2007; Lorenz et al., 2012; Polak and O'Leary, 2016; Santos et
13 al., 2018) as well as risk of cardiovascular events, including IS (Kawai et al., 2013; Yoon et
14 al., 2017; Zhang et al., 2018). Regarding the carotid stenosis, studies have associated the
15 presence of plaque score of stenosis $\geq 50\%$ with the occurrence of cardiovascular diseases
16 (Park et al., 2019; Costa et al., 2019; Kawai et al., 2013; Ebrahim et al., 1999) but the role of
17 this variable as potential prognosis of IS outcome is also limited. Both imaging markers
18 including carotid plaque and cIMT showed only nonsignificant trends toward higher risk of
19 mortality after adjustment for traditional risk factors and SBP (Kawai et al., 2013). High-
20 grade stenosis of the carotid artery was found in one fourth of IS patients with nonvalvular
21 atrial fibrillation and was related to more cortical infarction and worse clinical outcome
22 (Chang et al., 2002). An association between carotid plaque number and long-term prognosis
23 was observed in IS patients with atrial fibrillation (Park et al., 2019).

24 Limitations should be considered in the interpretation of our results. First, this is a
25 single hospital-based study, which included a relatively small number of patients with IS. In
26 addition, because the present study was conducted at a university medical hospital that is a
27 tertiary reference center in IS diagnosis and treatment and serves many high-risk patients who
28 are referred to the hospital from different health services, our study cohort consisted of high-
29 risk patients. However, the strength of the current study is that we combined different
30 variables as potential prognosis biomarkers thereby achieving a better prediction of outcome
31 variables. Other strength is that we used multivariate statistical analyses thereby adjusting for
32 many confounding variables including age, sex, ethnicity, BMI, smoking, and therapies that
33 were used before the IS. In the present study, we found that the effects of the biomarkers
34 predicting the outcome were not affected by use of hypoglycemic, hypolipemiant and

1 antihypertensive drugs. This result shows that in the clinical practice the predictive value of
2 the biomarkers is not substantially affected by these different confounding and extraneous
3 variables.

4 Functional prognosis in stroke patients is a subject of high interest to clinicians and
5 researchers. The ideal surrogate outcome measure would be determined early in recovery after
6 IS to be very useful for a personalized clinical management, and thus help to reduce mortality.
7 When functional assessment to stroke outcome, it is important to emphasize that no single
8 outcome measure can describe or predict all dimensions of recovery and disability after IS.

10 **Conclusion**

11 These data suggest that carotid stenosis $\geq 50\%$, T2DM and NIHSS were predictors of
12 poor functional disability at three-months and that NIHSS was predictor of mortality at three-
13 month. Therefore, high NIHSS at admission may early predict short-term functional
14 impairment as well as mortality in IS patients, underscoring the importance of this
15 measurement to early management of IS patients. Further large-scale prospective studies are
16 required to confirm the role of these biomarkers in the IS outcome.

18 **Compliance with ethical standards**

19 *Conflict of interest*

20 The authors declare that they have no conflict of interest.

22 *Ethical approval*

23 The protocol was approved by the Institutional Research Ethics Committees of
24 University of Londrina, Paraná, Brazil (CAAE: (CAAE 61361416.9.0000.5231) and all of the
25 individuals invited were informed in detail about the research and gave written Informed
26 Consent.

28 **Financial support**

29 The study was supported by grants from Coordination for the Improvement of Higher Level of
30 Education Personnel (CAPES) of Brazilian Ministry of Education: Finance Code 001; Institutional
31 Program for Scientific Initiation Scholarship (PIBIC) of the National Council for Scientific and
32 Technological Development (CNPq); and Araucaria Foundation.

1 **References**

- 2 Abdo R, Abboud H, Salameh P, El Hajj T, Hosseini H. Mortality and Predictors of Death Post
3 stroke: Data from a Multicenter Prospective Cohort of Lebanese Stroke Patients.
4 *J Stroke Cerebrovasc Dis* 2019;28(4):859-868.
5
- 6 Adams HP Jr, Bendixen BH, Kappelle JJ, Biller J, Love BB, Gordon DL, Marsh EE 3rd.
7 Classification of subtype of acute ischemic stroke. Definitions of use in a multicenter clinical
8 trial. TOAST. Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment. *Stroke* 1993; 24: 35-41.
9
- 10 Adams Jr HP, Davis PH, Leira EC, Chang KC, Bendixen BH, Clarke WR, et al. Baseline NIH
11 Stroke Scale score strongly predicts outcome after stroke: a report of the Trial of Org 10172
12 in Acute Stroke Treatment (TOAST). *Neurology* 1999; 53:126–31.
13
- 14 American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes--2014. *Diabetes Care*
15 2014; 37:, S14-80.
16
- 17 Appelros P, Nydevik I, Viitanen M. Poor outcome after first-ever stroke: predictors for death,
18 dependency, and recurrent stroke within the first year. *Stroke* 2003; 34:122–6.
19
- 20 Benjamin EJ, Virani SS, Callaway CW, Chamberlain AM, Chang AR, Cheng, S, et al. Heart
21 Disease and Stroke Statistics-2018 Update: A Report From the American Heart Association.
22 *Circulation* 2018; 137(12): 67–492.
23
- 24 Bonita R, Beaglehole R. Recovery of motor function after stroke. *Stroke; a journal of*
25 *cerebral circulation* 1998; (12): 1497–500.
26
- 27 Brazil. Guidelines for the rehabilitation of individual with cerebrovascular accident. Editor:
28 Ministry of Health. Brasília; Ministry of Health. 2013.
29
- 30 Brott T, Adams HP Jr, Olinger CP. Measurement of acute cerebral infarction: a clinical
31 examinations scale. *Stroke* 1989; 20:864-870.
32

- 1 Bronnum-Hansen H, Davidsen M, Thorvaldsen P, for the Danish MONICA Study Group.
2 Long-term survival and causes of death after stroke. *Stroke* 2001; 32:2131–2136.
3
- 4 Bustamante A, Garcia-Berrocoso T, Rodriguez N, Llombart V, Ribó M, Molina C, et al.
5 Ischemic stroke outcome: a review of the influence of post-stroke complications within the
6 different scenarios of stroke care. *Eur J Intern Med* 2016; 29: 9-21.
7
- 8 Campos BAG, Pereira Filho WC. Estenose de Carótida Extracraniana. *Arquivos Brasileiros*
9 *de Cardiologia*, 2004; 83 (6): 528-532.
10
- 11 Carvalho JJ, Alves MB, Viana GÁ, Machado CB, Santos BF, Kanamura AH, et al. Stroke
12 epidemiology, patterns of management, and outcomes in Fortaleza, Brazil: a hospital-based
13 multicenter prospective study. *Stroke* 2011; 42(12):3341-3346.
14
- 15 Casas-Vara A, Santolaria F, Fernández-Bereciartúa A, González-Reimers E, García-Ochoa A,
16 Martínez-Riera A. The obesity paradox in elderly patients with heart failure: Analysis of
17 nutritional status. *Nutrition* 2012; 28(6): 616–622.
18
- 19 Chang KC, Tseng MC, Tan TY, Liou CW. Predicting 3-month mortality among patients
20 hospitalized for first-ever acute ischemic stroke. *J Formos Med Assoc* 2006; 105:310–317.
21
- 22 Chang KC, Lee HC, Tseng MC, Huang YC. Three-year survival after first-ever ischemic
23 stroke is predicted by initial stroke severity: A hospital-based study. *Clinical Neurology and*
24 *Neurosurgery* 2010; 112(4): 296–301. doi:10.1016/j.clineuro.2009.12.016
25
- 26 Chang YJ, Ryu SJ, Lin SK. Carotid artery stenosis in ischemic stroke patients with
27 nonvalvular atrial fibrillation. *Cerebrovasc Dis* 2002; 13(1):16-20.
28
- 29 Collins TC, Petersen NJ, Menke TJ, Soucek J, Foster W, Ashton CM. Short-term,
30 intermediate-term, and long-term mortality in patients hospitalized for stroke. *J Clin*
31 *Epidemiol* 2003; 56:81–87.
32
- 33 Costa MACD, Nadal JP, Okamoto JM, Betero AL, Schafranski MD, Gomes RZ, Reis ESDS.
34 Prevalence of Carotid Stenosis and Incidence of Ischemic Stroke in Patients Undergoing Non-

- 1 Coronary Cardiac Surgery Braz. J. Cardiovasc. Surg 2019; doi: 10.21470/1678-9741-2018-
2 0127
3
- 4 Darsalia V, Ortsäter H, Olverling A, Darlöf E, Wolbert P, Nyström T, et al. The DPP-4
5 inhibitor linagliptin counteracts stroke in the normal and diabetic mouse brain: a comparison
6 with glimepiride. *Diabetes* 2013; 62: 1289–1296.
7
- 8 Das S, Chandra Ghosh K, Malhotra M, Yadav U, Sankar Kundu S, Kumar Gangopadhyay P.
9 Short term mortality predictors in acute stroke. *Ann Neurosci* 2012; 19(2):61-67
10
- 11 Ebrahim S, Papacosta O, Whincup P, Wannamethee G, Walker M, Nicolaidis AN, Dhanjil
12 S, Griffin M, Belcaro G, Rumley A, Lowe GD. Carotid plaque, intima media thickness,
13 cardiovascular risk factors, and prevalent cardiovascular disease in men and women: the
14 British Regional Heart Study. *Stroke* 1999; 30: 841–850.
15
- 16 Eriksson SE, Olsson JE. Survival and recurrent strokes in patients with different subtypes of
17 stroke: a fourteen-year follow-up study. *Cerebrovasc Dis* 2001; 12: 171–180.
18
- 19 Esteva AGS, Kambara AM, Moreira SM, Mendes A, Chavves AJ, Cano MU, et al. Influência
20 dos Sintomas Pré-Procedimento na Evolução Hospitalar e Tardia das Angioplastias
21 Carotídeas com Implante de Stent e Sistemas de Proteção Cerebral. *Rev Bras Cardiol Invas*
22 2008;16(2):211-217.
23
- 24 Feigin VL, Norrving B, Mensah GA. Global Burden of Stroke. *Circ Res* 2017; 120(3):439-
25 448.
26
- 27 Hankey GJ, Jamrozik K, Broadhurst RJ, Forbes S, Burvill PW, Anderson CS, et al. Five-year
28 survival after first-ever stroke and related prognostic factors in the Perth Community Stroke
29 Study. *Stroke* 2000; 31:2080–2086.
30
- 31 Hatzitolios AI, Didangelos TP, Zantidis AT, Tziomalos K, Giannakoulas GA, Karamitsos
32 DT. Diabetes mellitus and cerebrovascular disease: which are the actual data? *J Diabetes*
33 *Complications* 2009; 23: 283–296.
34

- 1 James PA, Oparil S, Carter BL, Cushman WC, Dennison-Himmelfarb C, Handler J., et al.
2 2014 evidence-based guideline for the management of high blood pressure in adults: report
3 from the panel members appointed to the Eighth Joint National Committee (JNC 8). *JAMA* :
4 the journal of the American Medical Association 2014; 311(5): 507–520.
5
- 6 Jia Q, Liu G, Zheng H, Zhao X, Wang C, Wang Y, et al. Impaired Glucose Regulation
7 Predicted 1-Year Mortality of Chinese Patients With Ischemic Stroke: Data From Abnormal
8 Glucose Regulation in Patients With Acute Stroke Across China. *Stroke* 2014; 45(5): 1498-
9 1500.
10
- 11 Johnston KC, Wagner DP. Relationship between 3-month National Institutes of Health Stroke
12 Scale score and dependence in ischemic stroke patients. *Neuroepidemiology* 2006; 27(2):96-
13 100.
14
- 15 Johnston KC, Wagner DP, Haley EC Jr, Connor AF Jr. Combined Clinical and Imaging
16 Information as an Early Stroke Outcome Measure. *Stroke* 2002; 33(2): 466–472.
17
- 18 Johnston KC, Connors Jr AF, Wagner DP, Haley Jr EC. Predicting outcome in ischemic
19 stroke: external validation of predictive risk models. *Stroke* 2003; 34:200–202.
20
- 21 Kawai T, Ohishi M, Takeya Y, Onishi M, Ito N, Oguro R, Yamamoto K, Kamide K, Rakugi
22 H. Carotid plaque score and intima media thickness as predictors of stroke and mortality in
23 hypertensive patients. *Hypertens Res* 2013; 36(10):902-9.
24
- 25 Kolominsky-Rabas PL, Weber M, Gefeller O, Neundoerfer B, Heuschmann PU.
26 Epidemiology of ischemic stroke subtypes according to TOAST criteria: incidence,
27 recurrence, and long-term survival in ischemic stroke subtypes: a population-based study.
28 *Stroke*. 2001; 1:32(12):2735-40.
29
- 30 Koton S, Tanne D, Green MS, Bornstein NM. Mortality and Predictors of Death 1 Month and
31 3 Years after First-Ever Ischemic Stroke: Data from the First National Acute Stroke Israeli
32 Survey (NASIS 2004). *Neuroepidemiology* 2010; 34(2):90-6.
33

- 1 Kuster GW, Dutra LA, Brasil IP, Pacheco EP, Arruda MJ, Volcov C, Domingues RB.
2 Performance of four ischemic stroke prognostic scores in a Brazilian population. *Arq*
3 *Neuropsiquiatr* 2016;74(2):133-7.
4
- 5 Li J, Benashski SE, Venna VR, McCullough LD. Effects of metformin in experimental stroke.
6 *Stroke* 2010; 41: 2645–2652.
7
- 8 Liu X, Lv Y, Wang B, Zhao G, Yan Y, Xu D. Prediction of functional outcome of ischemic
9 stroke patients in northwest China. *Clin Neurol Neurosurg* 2007; 109:571–577.
10
- 11 Lorenz MW, Markus HS, Bots ML, Rosvall M, Sitzer M. Prediction of clinical cardiovascular
12 events with carotid intima-media thickness: a systematic review and meta-analysis.
13 *Circulation* 2007; 115: 459–467.
14
- 15 Lorenz MW, Polak JF, Kavousi M, Mathiesen EB, Völzke H, Tuomainen TP, et al. Carotid
16 intima-media thickness progression to predict cardiovascular events in the general population
17 (the PROG-IMT collaborative project): A meta-analysis of individual participant data. *Lancet*
18 2012; 379(9831): 2053–2062.
19
- 20 Magkou D, Tziomalos K. Antidiabetic treatment, stroke severity and outcome. *World J*
21 *Diabetes* 2014; 5: 84–88.
22
- 23 Makris K, Haliassos A, Chondrogianni M, Tsiygoulis G. Blood biomarkers in ischemic
24 stroke: potential role and challenges in clinical practice and research. *Crit Rev Clin Lab Sci*
25 2018; 55(5), 294–328.
26
- 27 Nambi V, Chambless L, Folsom AR, He M, Hu Y, Mosley T, et al. Carotid intima-media
28 thickness and presence or absence of plaque improves prediction of coronary heart disease
29 risk: the ARIC (Atherosclerosis Risk in Communities) study. *J Am Coll Cardiol* 2010;
30 55:1600–1607.
31
- 32 National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and
33 Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). Third Report of
34 the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation

- 1 and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) final report.
2 *Circulation* 2012; 106: (25) 3143-3412.
- 3
- 4 O’Leary DH, Polak JF, Kronmal RA, Manolio TA, Burke GL, Wolfson Jr SK. Carotid-artery
5 intima and media thickness as a risk factor for myocardial infarction and stroke in older
6 adults. Cardiovascular Health Study Collaborative Research Group. *N Engl J Med* 1999; 340:
7 14–22.
- 8
- 9 Park KY, Chung PW, Kim YB, Moon HS, Suh BC, Won YS, et al. Serum Vitamin D Status
10 as a Predictor of Prognosis in Patients with Acute Ischemic Stroke. *Cerebrovasc Dis* 2015;
11 40:73–80.
- 12
- 13 Park H, Han M, Kim YD, Yoo J, Lee HS, Choi JK, et al. Impact of the Total Number
14 of Carotid Plaques on the Outcome of Ischemic Stroke Patients with Atrial Fibrillation. *J Clin*
15 *Med* 2019; 7;8(11). pii: E1897.
- 16
- 17 Petty GW, Brown Jr RD, Whisnant JP, Sicks JD, O’Fallon WM, Wiebers DO. Ischemic
18 stroke subtypes: a population-based study of functional outcome, survival, and recurrence.
19 *Stroke* 2000; 31:1062–8.
- 20
- 21 Price JF, Tzoulaki I, Lee AJ, Fowkes FG. Ankle brachial index and intima media thickness
22 predict cardiovascular events similarly and increased prediction when combined. *J Clin*
23 *Epidemiol* 2007; 60: 1067–75.
- 24
- 25 Polak JF, O’Leary DH. Carotid Intima-Media Thickness as Surrogate for and Predictor of
26 CVD. *Global Heart* 2016; 11(3): 295- 312.
- 27
- 28 Rangaraju S, Jovin TG, Frankel M., Schonewille W J, Algra A, Kappelle LJ, et al. Neurologic
29 Examination at 24 to 48 Hours Predicts Functional Outcomes in Basilar Artery Occlusion
30 Stroke. *Stroke* 2016, 47(10): 2534–254.
- 31
- 32 Saenger AK, Christenson RH. Stroke biomarkers: progress and challenges for diagnosis,
33 prognosis, differentiation, and treatment. *Clin Chem* 2010; 56:21-33.
- 34

- 1 Saini M, Saqqur M, Shuaib A. Body mass index and acute ischemic stroke outcomes. *Int J*
2 *Stroke* 2014; 9(5): 618–623.
- 3
- 4 Santos EHS, Santos Neto PJ, Santos IDS. Carotid intima-media thickness in the Brazilian
5 longitudinal study of adult health (ELSA-Brazil): A narrative review. *São Paulo Medical*
6 *Journal* 2018; 136 (1): 64–72.
- 7
- 8 Sarti C, Rastenyte D, Cepaitis Z, Tuomilehto J. International trends in mortality from stroke,
9 1968 to 1994. *Stroke* 2000; 31: 1588–1601.
- 10
- 11 Saver JL, Johnston KC, Homer D, Wityk R, Koroshetz W, Truskowski LL, et al. Infarct
12 volume as a surrogate or auxiliary outcome measure in ischemic stroke clinical trials. *Stroke*
13 1999; 30:293– 298.
- 14
- 15 Sehestedt T, Jeppesen J, Hansen TW, Wachtell K, Ibsen H, Torp-Pedersen C, et al. Risk
16 prediction is improved by adding markers of subclinical organ damage to SCORE. *Eur Heart*
17 *J* 2010; 31:883–1891
- 18
- 19 Shukla V, Shakya AK, Perez-Pinzon MA, Dave KR. Cerebral ischemic damage in diabetes:
20 an inflammatory perspective. *J Neuroinflammation* 2017; 14(1):21. doi: 10.1186/s12974-016-
21 0774-5.
- 22
- 23 Sucharew H, Khoury J, Moomaw CJ, Alwell K, Kissela BM, Belagaje S, et al. Profiles of the
24 National Institutes of Health Stroke Scale items as a predictor of patient outcome. *Stroke*
25 2013; 44:2182–2187.
- 26
- 27 Sun W, Huang Y, Xian Y, Zhu S, Jia Z, Liu R, et al. Association of body mass index with
28 mortality and functional outcome after acute ischemic stroke. *Sci Rep* 2017; 7(1): 2507
29 doi:10.1038/s41598-017-02551-0
- 30
- 31 Thijs BN, Lansberg MG, Beaulieu C, Marks MP, Moseley ME, Albers GW. Is early ischemic
32 lesion volume on diffusion-weighted imaging an independent predictor of stroke outcome? A
33 multivariable analysis. *Stroke* 2000; 31:2597–2602.
- 34

- 1 Tomlinson DR, Gardiner NJ. Glucose neurotoxicity. *Nat Rev Neurosci* 2008; 9(1):36-45.
2
- 3 Touboul PJ, Hennerici MG, Meairs S, Adams H, Amarenco P, Desvarieux M, et al.
4 Mannheim intima-media thickness consensus. *Cerebrovasc Dis* 2004; 18:346–349.
5
- 6 Truelsen T, Mahonen M, Tolonen H, Asplund K, Bonita R, Vanuzzo D. Trends in stroke and
7 coronary heart disease in the WHO MONICA Project. *Stroke* 2003; 34:1346–52.
8
- 9 Tziomalos K, Bouziana SD, Spanou M, Kostaki S, Papadopoulou M, Giampatzis V, et al.
10 Prior treatment with dipeptidyl peptidase 4 inhibitors is associated with better functional
11 outcome and lower in-hospital mortality in patients with type 2 diabetes mellitus admitted
12 with acute ischaemic stroke. *Diabetes and Vascular Disease Research* 2015; 12(6): 463-466.
13
- 14 Tziomalos K, Spanou M, Bouziana SD, Papadopoulou M, Giampatzis V, Kostaki S, et al.
15 Type 2 diabetes is associated with a worse functional outcome of ischemic stroke. *World J*
16 *Diabetes* 2014; 15:5(6): 939-944.
17
- 18 Uthoff H, Staub D, Meyerhans A., Hochuli M., Bundi B, Schmid H, et al. Intima-Media
19 Thickness and Carotid Resistive Index: Progression Over 6 Years and Predictive Value for
20 Cardiovascular Events. *Ultraschall in Der Medizin - European Journal of Ultrasound* 2008; 29
21 (06): 604–610.
22
- 23 Vernino S, Brown Jr RD, Sejvar JJ, Sicks JD, Petty GW, O’Fallon WM. Cause specific
24 mortality after first cerebral infarction: a population-based study. *Stroke* 2003; 34:1828–1832.
25
- 26 Vlachopoulos C, Xaplanteris P, Aboyans V, Brodmann M, Cifkova R, Cosentino F, et al. The
27 role of vascular biomarkers for primary and secondary prevention. A position paper from the
28 European Society of Cardiology Working Group on peripheral circulation: endorsed by the
29 Association for Research into Arterial Structure and Physiology (ARTERY) Society.
30 *Atherosclerosis* 2015; 241:507–532.
31
- 32 Wang Y, Ji H, Tong Y, Zhang Z. Prognostic Value of Serum 25-Hydroxyvitamin D in
33 Patients with Stroke. *Neurochemical Research* 2014; 39(7):1332–1337.
34

- 1 Wei ZN, Kuang JG. Vitamin D deficiency in relation to the poor functional outcomes in
2 nondiabetic patients with ischemic stroke. *Biosci. Rep* 2018; 38(2): pii: BSR20171509.
3
- 4 Yoon HJ, Kim KH, Park H, Cho JY, Hong YJ, Park HW, et al. Carotid plaque rather than
5 intima-media thickness as a predictor of recurrent vascular events in patients with acute
6 ischemic stroke. *Cardiovasc Ultrasound* 2017; 24:15(1):19.
7
- 8 Zhang Y, Fang X, Hua Y Tang Z, Guan S, Wu X, et al. Carotid Artery
9 Plaques, Carotid Intima-Media Thickness, and Risk of Cardiovascular Events and All-Cause
10 Death in Older Adults: A 5-Year Prospective, Community-Based Study. *Angiology* 2018;
11 69(2):120-129.
12

1 **Elevated National Health Institute Stroke Scale combined with elevated serum levels of**
2 **C-reactive protein predict long-term mortality in Brazilian patients with acute ischemic**
3 **stroke**

4
5 Ana Lucia Cruz Fürstenberger Lehmann¹, Daniela Frizon Alfieri², Maria Carolina Martins de
6 Araújo³, Emanuelle Roberto Trevisani², Maisa Rocha Nago², Francisco Spessatto Pesente⁴,
7 Jair Roberto Gelinski², Leonardo Bodner de Freitas², Tamires Flauzino², Márcio Francisco
8 Lehmann⁵, Marcell Alysson Batisti Lozovoy^{2,6} José Wander Breganó^{2,6}, Andréa Name
9 Colado Simão^{2,6}, Michael Maes^{7,8}, Edna Maria Vissoci Reiche^{2,6}

10 ¹ Department of Clinical Medicine, Health Sciences Center, State University of Londrina, Londrina,
11 Paraná, Brazil;

12 ² Laboratory of Research in Applied Immunology, Health Sciences Center, State University of Londrina,
13 Londrina, Paraná, Brazil;

14 ³ Clinical Neurology Postgraduate Program, University Hospital of State University of Londrina, Paraná,
15 Brazil;

16 ⁴ Surgery Neurology Postgraduate Program, University Hospital of State University of Londrina, Paraná,
17 Brazil;

18 ⁵ Department of Clinical Surgery, Health Sciences Center, and Neurosurgery Service of the University
19 Hospital, State University of Londrina, Londrina, Paraná, Brazil;

20 ⁶ Department of Pathology, Clinical Analysis, and Toxicology, Health Sciences Center, State
21 University of Londrina, Paraná, Brazil;

22 ⁷ IMPACT Strategic Research Centre, School of Medicine, Deakin University, Geelong, Victoria,
23 Australia.

24 ⁸ Department of Psychiatry, King Chulalongkorn Memorial Hospital, Chulalongkorn, Bangkok,
25 Thailand

26 **Address for correspondence:** Edna Maria Vissoci Reiche, Department of Pathology, Clinical Analysis
27 and Toxicology, Health Sciences Center, Londrina State University, Av. Robert Koch, 60, CEP 86.038-
28 440, Londrina, Paraná, Brazil. Phone/FAX number: +55-43-3371-2619. e-mail: reiche@sercomtel.com.br
29 ORCID: 0000-0001/6507-2839.

30

1 **Abstract**

2 **Background:** Demographic, clinical and imaging variables have been identified as potential
3 predictors for acute ischemic stroke (IS) prognosis. However, most results examined a single
4 predictor and presented conflicting results.

5 **Objective:** To determine the predictive validity of clinical and imaging variables combined
6 with laboratory biomarkers in predicting long-term mortality in patients with IS.

7 **Methods:** The study evaluated 104 IS patients within 24 h of their hospital admission.
8 Demographic, anthropometric, clinical [carotid intima-media thickness (cIMT) and degree of
9 stenosis measured by ultrasonography with doppler] and laboratory (coagulation,
10 inflammation, and endothelial dysfunction biomarkers) were evaluated. The IS severity was
11 assessed using the National Institutes of Health Stroke Scale (NIHSS) and categorized as mild
12 (NIHSS<5), moderate (NIHSS≥5-14) and severe (NIHSS≥15). The long-term mortality was
13 evaluated at 12-month follow-up after study admission and categorized as survivors and non-
14 survivors.

15 **Results:** Non-survivors showed higher NIHSS and cIMT, lower levels of antithrombin and
16 higher levels of Factor VIII, high sensitivity C-reactive protein (hsCRP), interleukin (IL)-10,
17 and soluble vascular cellular adhesion molecule 1 (sVCAM-1) than survivors. NIHSS and
18 hsCRP were independent predictors of non-survivors with odds ratio (OR) of 1.15, 95%
19 confidence interval (CI): 1.04-1.28, p=0.007 and OR of 1.89, 95% CI: 1.09-3.78, p=0.041,
20 respectively. The combined model of NIHSS and hsCRP showed better result [area under
21 curve (AUC): 0.804, 95% CI: 0.679-0.927) than NIHSS and hsCRP in isolated models for
22 predicting long-term mortality (AUC: 0.766, 95% CI: 0.643-0.890 for NIHSS and AUC:
23 0.689, 95% CI: 0.546-0.832 for hsCRP). Together, NIHSS and hsCRP correctly classified
24 87.7% of cases, with sensitivity of 98.1%, positive predictive value of 81.2% and negative
25 predictive value of 89.2%.

26 **Conclusion:** The NIHSS and hsCRP obtained within 24 h after hospital admission of IS
27 patients are early predictive biomarkers of long-term mortality.

28

29 **Keywords:** NIHSS, severity, mortality, inflammatory biomarkers, C-reactive protein

30

31

32

1 **Introduction**

2 Acute ischemic stroke (IS) currently persists as a major cause of morbidity and
3 mortality worldwide (Petrovic-Djergovic et al. 2016; Feigin et al. 2017). Around one third of
4 stroke victims will die within some months from IS or its complications and another one third
5 being permanently disabled and requiring permanent health care (Benjamin et al., 2018;
6 Feigin et al. 2017). Short-term (one week to three months) post-stroke death has been
7 predicted by fever, age, previous stroke, severity of neurological deficits, size of lesion, and
8 some laboratory biomarkers including high levels of glucose and interleukin (IL-6), ferritin,
9 C-reactive protein (CRP) and low levels of high-density lipoprotein (HDL)-cholesterol
10 (Koton et al. 2010; Tu et al., 2014; Wei et al., 2018; Reiche et al., 2019).

11 The baseline IS severity measured using the National Institutes of Health Stroke Scale
12 (NIHSS) (Brott et al., 1989) and disability measured using the modified Rankin score (mRS)
13 (Bonita; Beaglehole, 1988) have been used as clinical predictors of IS outcome (Bustamante
14 et al., 2016a). NIHSS scores were more useful in predicting functional short-term outcome
15 after IS onset than laboratory biomarkers reflecting different pathophysiological mechanisms
16 involved in IS (Ozkan et al., 2013).

17 The mean carotid intima media thickness (cIMT) from carotid ultrasonography with
18 Doppler has been widely proposed as a potential surrogate outcome in different clinical trials
19 (Johnston et al., 2002). cIMT represents the degree of atherosclerosis and is a predictor of
20 cardiovascular morbidity and mortality (Uthoff et al., 2008). Increased cIMT is recognized as
21 a useful tool for early identification of systemic atherosclerosis (Lorenz et al., 2007; Lorenz et
22 al., 2012; Polak; O'Leary, 2016; Santos et al., 2018) as well as a risk factor of cardiovascular
23 events, including IS (Kawai et al., 2013; Yoon et al., 2017; Zhang et al., 2018). However,
24 only few studies evaluated cIMT in predicting long-term IS outcome.

25 Different pathophysiological mechanisms are involved in IS, such as oxidative stress
26 (Sánchez-Moreno et al., 2004; Allen; Bayrakutan, 2009; Sinning et al., 2017),
27 coagulation/fibrinolysis (Samai et al., 2014; Donkel et al., 2019), inflammation and
28 endothelial dysfunction (Shantikumar et al., 2009; Bustamante et al., 2016b; Chamorro et al.,
29 2016). Inflammation plays a pivotal role in IS exerting both beneficial and detrimental effects.
30 Activation of resident cells, such as microglia, astrocytes, and endothelial cells may be
31 neuroprotective and may promote brain regeneration and recovery, whereas the recruitment of
32 immune cells expressing inflammatory mediators and leading to blood-brain-barrier (BBB)
33 disruption is responsible for neuronal death, brain edema and hemorrhagic transformation (Jin
34 et al., 2010; Kim et al., 2014; Yan et al., 2015). The inflammatory process following an IS

1 occurs in three phases of increasing lengths of time: initiation (hours), propagation (days), and
2 resolution (weeks). Each phase is associated with a distinct pattern of immune cell response
3 and extracellular signaling molecules (Petrovic-Djergovic et al., 2016; Rayasam et al., 2018).

4 Soon after the IS onset, microglia (including brain resident macrophages) is activated
5 and enhances circulating monocyte recruitment by releasing pro-inflammatory cytokines,
6 such as the tumor necrosis factor (TNF)- α , interleukin (IL)-1 β and IL-6, which may be
7 detected within the brain, cerebrospinal fluid (CSF), and peripheral blood of IS patients and
8 are responsible for the extension of the infarct zone as observed in animal models
9 (Lambertsen et al., 2012). These three major proinflammatory cytokines aggravate the
10 inflammatory response after IS (Sotgiu et al., 2006; Shaafi et al., 2014).

11 Antigen-specific and antigen-independent mechanisms were shown to activate T
12 lymphocyte-mediated response after an IS. Among different T lymphocyte subsets, both
13 CD4⁺ and CD8⁺ T cells seem to play a harmful role in the infarcted parenchyma (Kleinschnitz
14 et al., 2010; Becker et al., 2003). T regulatory (Treg) cells may regulate the inflammatory
15 potential of effector T cells subsets through immune-regulatory mechanisms. Treg cells are
16 important regulators of immune homeostasis through direct interaction with other cells and
17 production of anti-inflammatory cytokines, such as IL-10 and transforming growth factor
18 (TGF)- β (Liesz et al., 2009). However, the high heterogeneity of results on cytokine levels
19 indicates that systemic inflammation has a poor clinical value to predict IS clinical evolution
20 (Bonaventura et al., 2016; Sobowale et al., 2016). Moreover, various known cytokines have
21 been studied in limited number thereby restricting the significance of predictive value of these
22 biomarkers in patient outcome after IS (Li et al., 2019).

23 Not only atherothrombotic disease, but also the coagulation cascade and endothelial
24 dysfunction may contribute to IS pathophysiology (Wiseman et al., 2014) whilst an imbalance
25 of coagulation factors may play an important role in progression and prognosis (Donkel et al.,
26 2019). Increased levels of specific biomarkers, including fibrinogen, and D-dimer, have
27 shown to be risk factors for IS (Tzoulaki et al., 2009). Deficiency of antithrombin, protein C
28 and protein S are some of the inherited thrombophilia associated with an increased risk of
29 venous thrombosis, but their relation to arterial ischemic stroke is less well established
30 (Alakbarzade et al., 2018).

31 Endothelial cell activation includes increased expression of selectins and adhesion
32 molecules, which is an essential step for recruitment of leukocytes from peripheral blood
33 (Kim, 1996). Both E-selectin and P-selectin are involved in leukocyte rolling and recruitment
34 and are associated with secondary brain injury, while the L-selectin seems not to be related to

1 stroke (Huang et al., 2000; Goussev et al., 1998; Yenari et al., 2001). Adhesion molecules
2 facilitate diapedesis of leukocytes through the vessel wall and while there are strong
3 evidences that ICAM-1 contributes to secondary brain injury, reports about the role of
4 VCAM-1 in the pathophysiology of stroke are controversial (Wang et al., 1994; Bowes et al.,
5 1993; Chopp et al., 1996; Blann et al., 1999; Justicia et al., 2006; Liesz et al., 2011; Wu et al.,
6 2015). ICAM-1 is increased in ischemic brain within hours after stroke onset, and peaks at
7 about 12–48 h (Stanimirovic et al., 1997; Danton; Dietrich, 2003 Yoshimoto et al., 1997;
8 Zhang et al., 1995; Wang et al., 1994). High soluble ICAM-1 (sICAM-1) levels on admission
9 are associated with early death in ischemic middle-aged stroke patients suggesting a
10 pathogenetic role of adhesion molecules in the evolution of ischemic stroke (Rallidis et al.,
11 2009). VCAM-1 mRNA and protein both increase after cerebral ischemia (Blann et al., 1999;
12 Justicia et al., 2006), although not all studies reported such as changes in expression
13 (Vemuganti et al., 2004).

14 According to pathophysiological processes underlying IS, potential inflammatory
15 biomarkers may be classified as released by: (i) astroglial activation and neuronal injury; (ii)
16 systemic inflammatory response; (iii) dysfunctional endothelium (revised by Bustamante et
17 al., 2016b). Because the diagnostic accuracy of early brain computed tomography (CT) scan
18 measurements is only about 85%, many recent studies examined the prognostic validity of
19 inflammatory biomarkers to predict IS diagnosis, response to treatment and prognosis.

20 The immune response starts locally in brain parenchyma when vessels are occluded or
21 hypo-perfused and inflammatory mediators are subsequently generated *in situ* and propagated
22 through the organism (Zhou et al., 2018). Raised levels of biomarkers during the acute
23 systemic inflammatory response following IS are associated with poor outcomes (Hakkennes
24 et al., 2011). The peripheral levels of white blood cells (WBC) (Koton et al., 2010; Saposnik
25 et al., 2008; Andersen et al., 2011), homocysteine (Liu et al., 2011; Johnston et al., 2009;
26 Sene et al., 2006; Gonzales et al., 2008), and CRP (Sene et al., 2006; den Hertog et al., 2009;
27 Shantikumar et al., 2009; Di Napoli et al., 2001) are strongly correlated with IS severity and
28 independently predict mortality and stroke recurrence in IS patients.

29 Various studies suggested a potential role of CRP as predictor of worse neurological
30 outcome, but this evidence remains controversial (Ozkan et al., 2013; Taheraghdam et al.,
31 2013; VanGilder et al., 2014; Karlinski et al., 2014; Pandey et al., 2014; Li et al., 2015; Rocco
32 et al., 2015; Matsuo et al., 2016; Geng et al., 2016; Di Napoli et al., 2005). Despite the huge
33 amount of literature on the association of CRP and outcome, the high variability in study
34 design and the lack of classification/discrimination over clinical variables, previous studies

1 suggest that CRP is not a useful tool to predict stroke outcome in the clinical practice
2 (Bustamante et al., 2016a).

3 Despite many years of research in the field, no blood biomarker is currently used in
4 stroke clinical practice, although the use of blood biomarkers to predict stroke outcome seems
5 attractive for both clinicians and researchers (Katan and Elkind, 2011; Whiteley et al., 2009a;
6 Bustamante et al, 2014; Makris et al., 2018). However, the assay of single biomarker may not
7 reflect the heterogeneity and complexity of systemic immune response triggered by IS.
8 Rather, the development of diagnostic tools including different biomarkers might be more
9 useful in the clinical practice (Makris et al., 2018). To the best of our knowledge, the
10 evaluation of the classical clinical and image biomarkers, such as NIHSS and cIMT,
11 respectively, in combination with a panel of different laboratory biomarkers of coagulation,
12 inflammation, and endothelial dysfunction in predicting the long-term outcome of IS has not
13 been examined.

14 Thus, the aim of the current study is to examine the potential prognostic validity of a
15 combination of clinical (NIHSS), imaging (cIMT) and laboratory biomarkers (coagulation,
16 inflammation, and endothelial dysfunction) in predicting long-term mortality of IS patients.
17 The specific hypothesis is that

18

19 **Methods**

20 *Subjects*

21 The protocol was approved by the Institutional Research Ethic Committee of the State
22 University of Londrina, Paraná State, Brazil (CAAE 61361416.9.0000.5231). All patients
23 provided informed consent. When the IS patients were unable to communicate, written
24 consent was obtained from their legal guardians.

25 The prospective longitudinal study enrolled 156 patients, adults, both sexes, diagnosed
26 with focal neurological signs or symptoms thought to be of vascular origin that persisted for
27 >24 h, confirmed by brain CT and clinic examination in baseline conditions. The IS patients
28 were consecutively recruited during March 2017 to March 2018 from the Emergency Room
29 of the University Hospital of State University of Londrina, Paraná, Brazil, a reference center
30 for the diagnosis and treatment of IS. The IS subtypes were classified according to the criteria
31 of Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment (TOAST) (Adams et al.1993). The IS
32 severity was assessed using the NIHSS applied within the first 24 hours of admission and
33 categorized as mild (NIHSS<5), moderate (NIHSS≥5-14) and severe (NIHSS≥15) (Brott et
34 al., 1989). All patients were treated using a standardized protocol adapted from international

1 guidelines for managing AIS (Brazil 2013). The long-term outcome was evaluated after 12-
2 month through telephone interviews with the IS patients or their relatives (Wang et al., 2014)
3 and they were categorized as survivors and non-survivors (Kim et al., 2012; Huybrechts et al.,
4 2007; Park et al. 2015). The data on the IS outcome (death) was also collected by using the
5 databases of the local registries.

6 Exclusion criteria for IS patients were: a) a recent history of fever within the last seven
7 days prior to the onset of stroke symptoms, acute inflammatory diseases, hemorrhagic stroke,
8 acute transient ischemic attack (TIA); b) chronic infections with human immunodeficiency
9 virus type 1 (HIV-1), hepatitis B virus and hepatitis C virus; c) autoimmune diseases, renal or
10 liver failure; d) history of myocardial infarction, surgery within last 30 days, angiography
11 within last seven days, trauma within last 30 days, malignancies, steroid or non-steroidal anti-
12 inflammatory (NSAIs) therapies and immunosuppressive drugs use.

13

14 *Baseline characteristics of the subjects*

15 Demographic and anthropometric data were obtained at the time of admission of the
16 participants using a semi-structured and standard interviews comprising clinical data,
17 information on conventional IS risk factors including hypertension, dyslipidemia, type 2
18 diabetes mellitus (T2DM), current smoking, and ethnicity, which was classified according to
19 individual's self-perception of skin color as Caucasian and non-Caucasian. Body mass index
20 (BMI) and waist circumference were recorded; systolic blood pressure (SBP) and diastolic
21 blood pressure (DBP) were measured twice and the mean of these two measurements was
22 used in the analysis. Moreover, use of antihypertensive medication was an indication of
23 systemic arterial hypertension (James et al., 2014). T2DM was defined as a fasting serum
24 glucose ≥ 126 mg/dL and/or use of hypoglycemic medication (American Diabetes Association
25 2014; Johnson et al., 2019). Dyslipidemia was defined as: total cholesterol (TC) ≥ 200 mg/dL,
26 low-density lipoprotein (LDL)-cholesterol ≥ 130 mg/dL; and high-density lipoprotein (HDL)-
27 cholesterol < 40 mg/dL as reported (National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert
28 Panel on Detection, Evaluation 2002).

29

30 *Imaging investigation*

31 Carotid ultrasonography with doppler (USGD) was performed using the *Siemens*
32 *Acuson X300 Color Doppler Machine* (Siemens, Germany). All IS patients were evaluated by
33 the same researcher. The carotid intima-media thickness (cIMT), expressed in mm, was
34 calculated as the average of three measurements of the left and right carotid artery. The

1 patients were categorized according to cIMT < 1.0 mm and \geq 1.0 mm (Vlachopoulos et al.,
2 2015), degree of stenosis (<50% and \geq 50 and presence of plaque (cIMT \geq 1.5 mm or stenosis
3 \geq 50%) (Touboul et al., 2004; Price et al., 2007).

4 5 *Laboratory biomarkers*

6 Fasting peripheral blood samples were collected between 8.00-10.00 a.m. within 24
7 hours after admission, with and without anticoagulants. The samples were immediately
8 centrifuged at 3,000 rpm for 15 min, and the serum and plasma aliquots were stored at -80 °C
9 until thawed for assays. The laboratory personal were blinded to the clinical data

10 The coagulation biomarkers were: platelet counts quantified using an Automated
11 Hematology Analyzer (Mindray BC6800, Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics,
12 Shenzhen, China), fibrinogen determined using Clauss method, antithrombin III and C protein
13 using chromogenic assay, S protein and vWF using latex immunoassay and Factor VIII using
14 coagulometric method. All these molecules were determined using Automated coagulometer
15 (ACL TOP 300; Instrumentation Laboratory, Lexington, Massachusetts, USA) according to
16 the manufacturer's recommendations.

17 The inflammatory biomarkers were leukocytes determined using an Automated
18 Hematology Analyzer (Mindray BC6800, Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics,
19 Shenzhen, China), C-reactive protein determined with high sensitivity assay (hsCRP) using
20 turbidimetry (Architect C8000, Abbott Laboratory, Abbott Park, IL, USA), and plasma levels
21 of IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-12p70 and TNF- α determined using immunofluorimetric
22 method with microspheres multiplex immunoassay (Novex Life Technologies, Frederick,
23 USA) for Luminex platform in MAGPIX® instrument (Luminex Corp., TX, USA).

24 The endothelial dysfunction biomarkers were plasma levels of sICAM-1, sVCAM-1,
25 platelet endothelial cell adhesion molecule (PECAM)-1, E-selectin and P-selectin determined
26 using immunofluorimetric method with microspheres multiplex immunoassay (Novex Life
27 Technologies, Frederick, USA) for Luminex platform in MAGPIX® instrument (Luminex
28 Corp., TX, USA).

29 30 *Statistical analysis*

31 Analysis of contingency tables (χ^2 test or Fisher's exact test) was employed to check
32 the associations between categorical variables. The Kolmogorov-Smirnov test was used to
33 assess normality of distribution. Logarithmic (Ln) transformations of continuous data were
34 used to normalize the data distribution or to adjust for heterogeneity of variance between

1 study groups (as assessed with the Levene test). We checked the differences in continuous
2 variables between groups using analysis of variance (ANOVA). Data that were not normally
3 distributed were presented as median and interquartile range (IQR). Differences in continuous
4 variables between groups were assessed using the Mann Whitney test. Automatic stepwise
5 binary logistic regression analysis with death at one year after IS as dependent variable (and
6 no death as reference group) was carried out with NIHSS and different biomarkers as
7 explanatory variables while allowing for the effects of relevant background variables.

8 In order to evaluate the variables that were independently associated with the 12-
9 month follow-up mortality, the logistic regression stepwise analysis was performed in two
10 steps. In the first step, we separately analyzed four models with the clinical (#1 model),
11 coagulation (#2 model), inflammation (#3 model) and endothelial dysfunction (#4 model)
12 biomarkers as explanatory variables and 12-month follow-up mortality outcome as dependent
13 variable. In the second step, a #5 model was tested with the significant variables obtained in
14 the first step. The results were expressed as adjusted odds ratio (OR) with the corresponding
15 95% confidence interval (CI).

16 The best predictors to 12-month follow-up mortality were assessed using the area
17 under the receiver operating characteristic (AUC/ROC) curve as measure of discrimination.
18 The AUC/ROC curve reflects the models' ability to discriminate between survivors and non-
19 survivors. The positive predictive value (PPV), negative predictive value (NPV), sensitivity
20 and specificity using combined models were also determined. Discrimination was evaluated
21 by the AUC, by comparing two AUCs by DeLong's test. Non-parametric bootstraps (n=1000)
22 were carried out to simulate real-world situations as well as to cross-validate the tests. The p-
23 values obtained in ANOVAs performed on multiple data were corrected for False Discovery
24 Rate (FDR) (Benjamini and Hochberg, 1995). Statistical analyzes were performed using IBM
25 SPSS, Windows version 24 and environment R (R Development Core Team 2019) with
26 Optimal Cut points and pROC packages. Tests were 2-tailed and an alpha level of 0.05
27 indicated statistically significant results.

28 **Results**

29 *Baseline characteristics of AIS patients*

30 The data of 104 IS patients were analyzed in this study. The age ranged from 34 to 89
31 years, with median (\pm IQR) of 66.5 (55.5-75.0) years; 49 (47.1%) male and 55 (52.9%)
32 female. Among them, 72 (70.6%) patients presented systemic arterial hypertension, 31
33 (30.4%) T2DM, 49 (48.0%) dyslipidemia, and 21 (21.0%) were current smokers. From the
34

1 104 IS patients followed-up during 12-months after the study admission, 22 (21.2%) had died
2 1 year following the IS (non-survivors) and there were 82 (78.8%) survivors. The baseline
3 demographic and clinical characteristics of IS patients in survivors and non-survivors groups
4 are listed in Table 1. Univariate analysis showed that mortality was more frequent in IS
5 patients with higher age, BMI, NIHSS, cIMT and with stenosis $\geq 50.0\%$. According to the
6 TOAST criteria, the IS subtypes were: large-artery atherosclerosis (LAAS) in 32 (30.8%)
7 patients, cardioembolic (CEI) in 26 (25.0%), lacunar (LAC) in 26 (25.0%), other determined
8 etiology (ODE) in 2 (1.9%) and undetermined etiology (UDE) in 18 (17.3%).

9 Table 2 shows also the laboratory biomarkers in survivors and non-survivors.
10 Univariate analysis showed that all coagulation biomarkers, except fibrinogen, were
11 significantly associated with mortality after 12-month follow-up while platelets, antithrombin
12 and activated Protein C were lower among non-survivors and vWF and Factor VIII were
13 higher in non-survivors. Moreover, the levels of hsCRP, albumin, IL-6 and IL-10 were also
14 associated with mortality after 12-month follow-up. While hsCRP, IL-6 and IL-10 were
15 higher among the non-survivors, albumin was lower among the non-survivors. The plasma
16 levels of sVCAM-1 were higher among those IS patients who non-survived than those who
17 survived during the follow-up period. Other adhesion molecules (sICAM-1, PECAM-1, P-
18 selectin, E-selectin) were not association with the mortality of the IS patients in the present
19 cohort. All the differences in biomarkers shown in table 2 remained significant after p-
20 correction for FDR (at $p=0.020$).

21 22 *Prediction of 12-month follow-up outcome*

23 In order to evaluate the biomarkers that were independently associated with the 12-
24 month follow-up mortality, stepwise logistic regression analysis was performed in two steps
25 (Table 3). In the first step, four models were tested with the clinical (#1 model), coagulation
26 (#2 model), inflammation (#3 model) and endothelial dysfunction (#4 model) biomarkers as
27 explanatory variables and 12-month follow-up mortality outcome as dependent variable. In
28 the second step, a #5 model was tested the significant variables obtained in the first step.
29 Mortality was associated with NIHSS (#1 model), antithrombin and Factor VIII (# 2 model),
30 hsCRP and IL-10 (#3 model), and sVCAM-1 (#4 model). However, in the #5 model, only
31 NIHSS and hsCRP were independent predictors for this unfavorable outcome. High NIHSS
32 showed OR of 1.15 (95% CI: 1.04-1.28, $p=0.007$) and high hsCRP levels showed OR of 1.89
33 (95% CI: 1.09-3.78, $p=0.041$). NIHSS and hsCRP, together, correctly classified 87.7% of
34 cases, with sensitivity of 98.1% and R^2 Nagelkerke of 0.409.

1 *Receiver Operating Characteristic (ROC) curve*

2 Based on ROC curves, the optimal cut-off values for predicting the 12-month
3 mortality for NIHSS and hsCRP were 11 and 21.1 mg/L, respectively. The combined models
4 (NIHSS + hsCRP) and single models using clinical information (NIHSS) or inflammatory
5 variable (hsCRP) showed significant differences in the AUC, as well as PPV and PNV for
6 mortality outcome (Table 4). NIHSS and hsCRP as single models performed less well [AUC
7 of 0.766 (95% CI 0.643-0.890) for NIHSS and AUC 0.689 (95% CI: 0.546-0.832) for hsCRP]
8 than the combined model with NIHSS and hsCRP (AUC 0.804, 95% CI: 0.679-0.927).
9 NIHSS was considered as an indicator to predict long-term mortality in IS patients, with the
10 PPV of 42.1% and NPV of 90.6%. In addition, hsCRP predicted long-term mortality in these
11 patients with the PPV and NPV of 43.3% and 87.5% respectively. However, when both
12 biomarkers were analyzed in a combined model, the PPV and NPV were 81.2% and 89.2%,
13 respectively.

1 **Table 1** Characteristics of patients with acute ischemic stroke according to the 12-
 2 month follow-up outcome (survivors and non survivors)

Characteristics	IS patients (n=104)	Survivors (n=82)	Non-survivors (n=22)	P value
Age (year)	66.5 (55.5-75.0)	63.5 (55.0-73.0)	70.00 (64.0-79.0)	0.007
Range	34 -89	34 -89	37-84	
Sex Female/Male	55 (52.9) /49 (47.1)	43 (52.4) /39 (47.6)	12 (54.5) /10 (45.5)	0.860
Ethnicity C/NC	67 (65.0) /36 (35.0)	52 (63.4) /30 (36.6)	15 (71.4) /6 (28.6)*	0.492
BMI (kg/m ²)	27.8 (24.2-30.2)	27.8 (24.8-30.1)	24.2 (22.5-30.4)	0.052
Range	18.1-44.3	18.1-44.3	18.0-33.2	
Current smoking	21 (21.0)	17 (21.5)	4 (19.0)	0.805
SAH	72 (70.6)	59 (72.8)	13 (61.1)	0.327
T2DM	31 (30.4)	25 (30.9)	6 (28.6)	0.839
Dyslipidemia	49 (48.0)	39 (48.1)	10 (47.6)	0.996
Antihypertensive	73 (71.6)	58 (71.6)	15 (71.4)	0.987
Hypoglycemicant	19 (18.8)	15 (18.8)	4 (19.0)	0.975
Hypolipemicant	36 (35.3)	30 (37.0)	6 (28.6)	0.469
Degree of stenosis				
<50 %/ ≥50%	76 (73.1) /28 (26.9)	64 (78.0) /18 (22.0)	12 (54.5) /10 (45.5)	0.001
cIMT (mm)	1.00 (0.90- 1.20)	1.00 (0.80-1.20)	1.10 (0.90-1.30)	0.027
Range	0.6-1.6	0.6-1.6	0.7-1.6	
<1.0 / ≥1.0	58 (55.8) /46 (44.2)	51 (62.2) /31 (37.8)	7 (31.8) /15 (62.8)	0.011
NIHSS	7.50 (3.0-16.0)	5.50 (3.0-12.0)	16.5 (9.0-22.0)	<0.001
Range	0-32	0-23	0-32	
< 5	38 (37.3)	34 (42.5)	4 (18.2)	0.001
5-14	36 (35.3)	31 (38.8)	5 (22.7)	
≥15	28 (27.5)	15 (18.8)	13 (59.1)	
LAAS/ Non-LAAS	31 (31.1) /71 (68.9)	25 (30.9)/56 (69.1)	7 (31.8)/15 (68.2)	0.932

3 The continuous variables were expressed as median and interquartile range (IQR) of 25% - 75%; the categorical
 4 variables were expressed as number (n) and percentage (%); the χ^2 and Exact Fisher test were used when
 5 appropriate; IS: ischemic stroke; C: Caucasian; NC: non-Caucasian; SAH: systemic arterial hypertension;
 6 DMT2: diabetes mellitus type 2; cIMT: carotid intima-media thickness; NIHSS: National Institute of Health
 7 Stroke Scale; mRS: modified Rankin Scale; mRS<3: mild functional impairment; mRS≥3: moderate/severe
 8 functional impairment; LAAS: Large artery atherosclerosis stroke. *: One patient did not have ethnicity recorded

1 **Table 2** Baseline values of coagulation, inflammation, and endothelial dysfunction as
 2 explanatory variables and the 12-month follow up outcome (survivors and non-survivors) as
 3 dependent variable in patients with acute ischemic stroke

	All patients (n= 104)	Survivors n= 82	Non-Survivors n= 22	P value
Coagulation				
Platelets (x10 ³ /mm ³)	240.5 (188.5-278.0)	250.5 (205.5-281.0)	194.5 (142.0-253.0)	0.010
Fibrinogen (mg/dL)	314.0 (261.0-385.0)	304.0 (256.0-383.0)	364.0 (307.0-409.0)	0.093
Antithrombin (%)	103.0 (87.0-112.0)	104.5 (90.5-113.5)	89.0 (80.0-105.0)	0.006
C protein (%)	111.5 (95.0-127.0)	113.5 (98.5-128.0)	95.0 (83.0-112.0)	0.010
S protein (%)	93.5 (85.0-106.0)	94.0 (86.0-107.0)	90.0 (75.0-100.0)	0.088
vWF (%)	211.0 (177.0-244.0)	209.0 (149.0-242.0)	233.0 (208.0-380.0)	0.023
Factor VIII (%)	177.5 (129.0-228.0)	164.0 (125.0-212.0)	223.0 (150.0-284.0)	0.020
Inflammation				
WBC (cells/mm ³)	8950 (7110-10.780)	8645 (7220-10.340)	9520 (7100-12.420)	0.347
hsCRP (mg/L)	6.1 (2.7-14.9)	5.7 (2.4-12.2)	14.9 (4.2-36.4)	0.010
Albumin (g/dL)	3.5 (3.3-3.8)	3.5 (3.4-3.8)	3.4 (3.0-3.5)	0.008
IL-1 β (pg/mL)	0.04 (0.01-0.27)	0.01 (0.01-0.24)	0.18 (0.01-0.33)	0.291
IL-2 (pg/mL)	0.901 (0.29-3.38)	0.90 (0.10-3.05)	1.92 (0.70-3.49)	0.247
IL-4 (pg/mL)	0.54 (0.04-1.90)	0.54 (0.04-1.91)	0.39 (0.04-1.90)	0.855
IL-6 (pg/mL)	6.65 (2.84-22.56)	6.31 (2.66-13.67)	40.29 (5.86-102.24)	0.008
IL-10 (pg/mL)	0.12 (0.01-0.37)	0.10 (0.01-0.24)	0.46 (0.11-1.17)	0.005
IL-12p70 (pg/mL)	0.85 (0.34-1.34)	0.77 (0.34-1.34)	1.08 (0.51-1.34)	0.382
TNF- α (pg/mL)	0.65 (0.11-1.52)	0.61 (0.11-1.41)	1.08 (0.51-2.66)	0.059
Endothelial dysfunction				
sICAM-1 (pg/mL)	43.215 (25.621-157.477)	45.998 (26.274-157.477)	35.233 (24.519-197941)	0.583
sVCAM-1 (pg/mL)	343.667 (282.262-402.818)	332.623 (282.262-386.230)	412.257 (312.229-487.022)	0.010
sPECAM-1 (pg/mL)	343.667 (282.262-402.818)	14.251 (11.543-17.024)	14.802 (12.170-17.281)	0.946
sE-selectin (pg/mL)	53.245 (39.200- 72.446)	50.677 (39.962-65.929)	62.689 (34.644-74.226)	0.583
sP-selectin (pg/mL)	46.774 (36.888-65.149)	48.331 (36,813-6.929)	46.722 (39.228-55.950)	0.946

4 The continuous variables were expressed as median and interquartile range (IQR) of 25% and 75% values; the
 5 categorical variables were expressed as number (n) and percentage (%). *Processed in logarithm natural
 6 transformation; vWF: von Willebrand Factor; WBC: white blood cells; hsCRP: high sensitivity C-reactive
 7 protein; IL: interleukin; TNF: tumor necrosis factor; sICAM-1: soluble intercellular adhesion molecule-1;
 8 sVCAM-1: soluble vascular cell adhesion molecule-1; sPECAM-1: soluble platelet endothelial cell adhesion
 9 molecule-1; sE-selectin: soluble E-selectin; sP-selectin: soluble P-selectin

1 **Table 3** Results of stepwise logistic regression with clinical, coagulation, inflammation, and
 2 endothelial dysfunction as explanatory variables and 12-month mortality outcome as
 3 dependent variable

Model	Explanatory variable	β	Wald	P value	OR	95% CI
Step 1						
Clinical variables						
#1	cIMT	1.13	3.16	0.075	3.11	0.89-10.91
	NIHSS	0.14	11.76	0.001	1.115	1.06-1.24
Coagulation						
#2	Antithrombin	-0.06	7.30	0.007	0.93	0.89-0.98
	Factor VIII	0.013	6.79	0.009	1.01	1.00-1.02
Inflammation						
#3	hsCRP*	0.69	5.66	0.017	1.98	1.12-3.49
	IL-10*	0.34	3.89	0.049	1.41	1.00-1.98
Endothelial dysfunction						
#4	sVCAM-1*	2.73	8.24	0.004	15.36	2.38-99.16
Step 2						
#5	NIHSS	0.143	7.32	0.007	1.15	1.04-1.28
	hsCRP	0.638	3.668	0.041	1.89	1.09-3.78

4

5 *: natural logarithm transformation; cIMT: carotid intima-media thickness; NIHSS: National Institute
 6 of Health Stroke Scale; hsCRP: high sensitivity C - reactive protein; IL-10: interleukin 10; sVCAM-1:
 7 soluble vascular cell adhesion molecule-1; OR: odds ratio; CI: confidence interval.

8 #5 model: NIHH and hsCRP together classified correctly 87.7% of cases, with sensitivity of 98.1%
 9 and specificity of 46.2%, R^2 Nagelkerke 0.409.

Table 4 Clinical and inflammatory biomarkers evaluated in univariate and multivariable models to predict the long-term mortality in patients with acute ischemic stroke

	AUC (95% CI)	Cut-off	Sensitivity (95% CI)	Specificity (95% CI)	PPV (95% CI)	NPV (95% CI)	FP	FN
NIHSS	0.766 (0.643-0.890)	11.0	0.727 (0.497-0.892)	0.725 (0.613-0.818)	0.421 (0.304-0.694)	0.906 (0.782-0.943)	22	6
hsCRP	0.689 (0.546-0.832)	21.1 mg/L	0.473 (0.244-0.711)	0.875 (0.782-0.938)	0.473 (0.315-0.711)	0.875 (0.715-0.938)	10	10
zNIHSS + zhsCRP	0.804 (0.679-0.927)	0.998	0.590 (0.431-0.683)	0.961 (0.891-0.991)	0.812 (0.587-0.919)	0.892 (0.767-0.976)	3	9

NIHSS: National Institute of Health Scale Score; hsCRP: high sensitivity method of C-reactive protein; zNIHSS + zhsCRP: NIHSS and hsCRP values were transformed in z score AUC: area under receiver operating characteristic curve; CI: confidence interval; PPV: positive predictive value; NPV: negative predictive value; FP: false positive; FN: false negative.

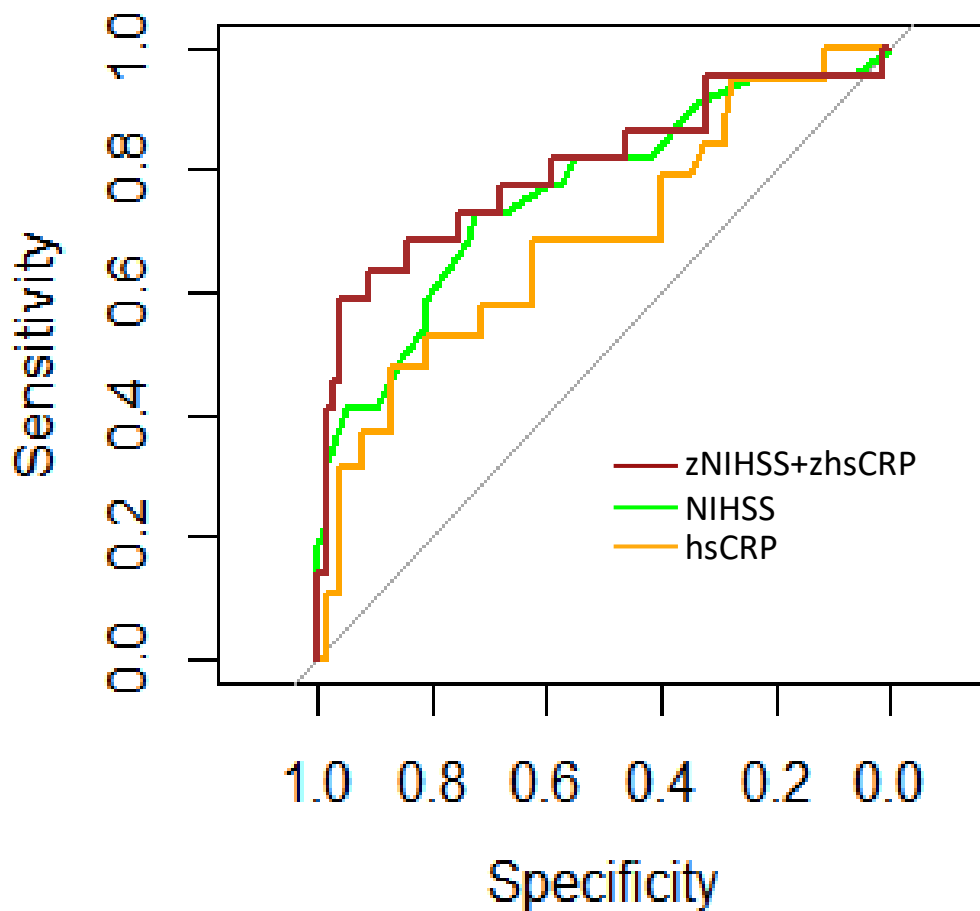


Figure 1 Receiver operating characteristic (ROC) curve of clinical (NIHSS) and inflammatory (hsCRP) biomarkers evaluated in isolated and combined models to predict the long-term mortality in patients with acute ischemic stroke (IS).

With the isolated models, the NIHSS cut-off is 11 and area under ROC (AUC) is 0.766 and the hsCRP cut-off is 21.1 mg/L and area under ROC (AUC) is 0.689 in predicting 12-month mortality among patients with IS. With the combined model and the values of NIHSS and hsCRP transformed in z score, the area under ROC (AUC) is 0.804 in predicting 12-month mortality among patients with IS.

NIHSS: National Institute of Health Stroke Scale; hsCRP: C-reactive protein with high sensitivity method; zNIHSS: NIHSS transformed in z score; zhsCRP: hsCRP transformed in z score.

1 Discussion

2 The main finding of this study is that a combination of clinical data (NIHSS) and one
3 biomarker (hsCRP) obtained within 24 hours after hospital admission of IS patients yielded a
4 good diagnostic performance in predicting the long-term mortality. Together, these two
5 biomarkers correctly classified 87.7% of cases, with high positive and negative predictive
6 values. Using a panel of demographic and clinical data, and circulating levels of biomarkers
7 of coagulation, inflammation, and endothelial dysfunction variables, this study underscores
8 the importance of NIHSS and hsCRP in the prediction of mortality in victims of IS.

9 Raised levels of biomarkers during the acute inflammatory response after IS have been
10 associated with poor outcome (Hakkennes et al., 2011). Given the close pathophysiological
11 relationship between neuroinflammatory mediators and processes related to poor outcome in
12 IS, the role of molecules that were part of different inflammatory pathways, such as acute
13 phase proteins, pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines, coagulation, and
14 endothelial dysfunction as prognostic biomarkers of IS could be expected. However, to date,
15 little is known regarding these biomarkers as predictors of long-term IS outcome with
16 mortality as endpoint. Interestingly, in the present study, we found that hsCRP improved the
17 diagnostic performance of the NIHSS score predicting long-term mortality in IS.

18 To the best of our knowledge, this is the first study that evaluates a panel of
19 biomarkers of the key pathways underpinning the pathophysiology of IS as predictors of
20 mortality. Extensive studies have associated different clinical variables (NIHSS, cIMT, IS
21 subtypes) as well as baseline laboratory variables with poor outcome in IS patients
22 (Chakraborty et al., 2013; Tu et al., 2014; Tu et al., 2017; Ye et al., 2017; Li et al., 2018; Wei
23 et al., 2018). High levels of lipoprotein (a) and low levels of albumin were associated with
24 increased mortality at six-month follow-up (Chakraborty et al., 2013). Insulin resistance (Li et
25 al., 2018), vitamin D and 25-hydroxyvitamin D deficiency (Tu et al., 2014; Wei et al., 2018),
26 and CRP and homocysteine (Ye et al., 2017) are other predictors of short-term outcome
27 following IS. Decreased serum levels of albumin during the acute phase of IS were associated
28 with a worse neurological state as a result of a large ischemic focus and intense catabolic
29 processes (Bielewicz et al., 2016).

30 The role of NIHSS, cIMT, and hsCRP has been studied in clinical trials as biomarkers
31 in predicting cardiovascular diseases (CVD) as well as short-term mortality. The NIHSS has
32 been evaluated as single model or combined with different biomarkers (He et al., 2018).
33 Previous studies revealed that NIHSS scores were more useful in predicting
34 functional outcome three-months after IS onset than the hsCRP or ferritin levels (Ozkan et al,

1 2013). Moreover, no significant correlation was found between laboratory markers
2 and NIHSS scores on admission and at three-month follow-up. However, these authors
3 obtained samples within 48 hours after IS onset, which may explain the apparently divergent
4 results. Some studies also evaluated combined models with NIHSS including different
5 biomarkers, such as triiodothyronine, age (Wang et al., 2014), cortisol (Zi; Shuail, 2013),
6 albumin/globulin ratio ≥ 1.56 , free triiodothyronine ≥ 4.09 $\mu\text{g/dL}$ and $\text{WBC} \geq 7.100/\text{mm}^3$ as
7 independent predictors of short-term outcome and NIHSS was not significantly associated
8 with this endpoint (Zhou et al., 2018). However, only few studies evaluated the combination
9 of different biomarkers in predicting long-term mortality.

10 In the present study, no significant association was observed between cIMT and long-
11 term outcome of IS, a result that is in line with previous findings. One study showed that
12 hypertensive subjects with a higher mean cIMT and subjects with high plaque scores showed
13 high frequencies of IS and total mortality. However, after adjustment for traditional risk
14 factors, plaque score was significantly and independently predictive of IS; however, cIMT
15 and plaque score showed a nonsignificant trend of higher risk of mortality (Kawai et al.,
16 2013).

17 Various studies suggested that CRP may be an important predictor of poor
18 neurological outcome, although there were some contradictory results (Di Napoli et al., 2005;
19 Rabadi et al., 2008; Ozkan et al., 2013; Taheraghdam et al., 2013; VanGilder et al., 2014;
20 Karlinski et al., 2014; Pandey et al., 2014; Li et al., 2015; Rocco et al., 2015; Matsuo et al.,
21 2016; Geng et al., 2016). For example, a systematic review from 46 studies found that hsCRP
22 is as independent predictor of long-term functional outcome in 13 studies only. The high
23 variability in study designs and the lack of classification/discrimination over clinical variables
24 further challenges the clinical use of hsCRP as single biomarker (Bustamante et al., 2016b).
25 Moreover, previous data have shown that NIHSS and hsCRP are related to IS outcome (Zhu
26 et al., 2018), which is consistent with our data. Elevated hsCRP concentrations may reflect the
27 degree of IS severity, indicate underlying atherosclerotic disease, or be a consequence of
28 secondary complications of IS at the time of sampling (Muir et al., 1999).

29 Another inflammatory biomarker associated with IS severity is lowered albumin
30 (Davis et al., 2004; Yoo et al., 2008; Chakraborty et al., 2013). Experimental studies showed
31 that this negative acute phase protein has neuroprotective effects through several mechanisms,
32 such as hemodilution; antioxidant effects (albumin is the main oxygen radical trapping,
33 exceeding that of vitamin E), maintenance of endothelial permeability and transport ability,
34 inhibition of endothelial cell apoptosis and reduction of edema in cerebral ischemic tissue

1 (Alvarez-Perez et al., 2011). Since the half-life of albumin is approximately 21 days (Alvarez-
2 Perez et al., 2011) and plasma albumin levels were measured during the first 24 h after IS,
3 baseline albumin levels reflect more nutritional and chronic inflammatory effects rather than
4 changes during the acute phase response following IS (Quinlan et al., 2005).

5 Among the cytokines evaluated in the present study, IL-6, TNF- α and IL-10 were
6 associated with mortality after 12-month follow up in the univariate analysis. The higher
7 levels of IL-10 among the non-survivors than survivors may reflect its immune-regulatory
8 role downregulating the pro-inflammatory response, which may attenuate the neuronal
9 toxicity and excitotoxicity induced by ischemia (Grilli et al., 2000; Frenkel et al., 2005).

10 In an experimental model of IS, selective depletion of Treg cells may be associated
11 with an increase in infarct size and behavioral deficits whilst the beneficial effects of Treg
12 cells were mediated by IL-10 attenuating interferon (IFN)- γ -mediated pathways (Liesz et al.,
13 2009). Moreover, patients with low plasma levels of IL-10 (< 6 pg/mL) during the first hours
14 after the IS were three times more likely to suffer from worse neurological symptoms within
15 the first 48 hours following IS (Vila et al., 2000). Nevertheless, high levels of IL-10 are not
16 only associated with a good functional outcome (Rodriguez-Yanez et al., 2013) but also with
17 an increased risk of post-IS infections (Ashour et al., 2016).

18 IL-6 has been suggested as promising biomarker of short- and long-term poor
19 neurological outcome in different studies (Whiteley et al., 2009b; Park et al., 2013; Fahmi et
20 al., 2016; Ramiro et al., 2018; Yang et al., 2019). IL-6 correlated with infarct size at multiple
21 time points (Shaafi et al 2014), as well as at three-month outcome and 12-months clinical
22 outcome, suggesting that this cytokine may be a reliable plasma biomarker for IS outcome
23 (Smith et al., 2004). Contrastingly, one study indicated that levels of IL-6, three months post-
24 stroke had an inverse relationship with neurological impairment and infarct size (Sotgiu et al.,
25 2006) suggesting that IL-6 may be indicative of neuroprotection rather than damage. Despite
26 the independent association of IL-6 with poor outcome, its additional discrimination over
27 clinical variables was very modest, a fact that limits its use in clinical practice (Bustamante et
28 al., 2014).

29 On the other hand, Li et al (2019) found IL-1 β , IL-4, IL-5, IL-7, IL-9, IL-10 and IL-15
30 were significantly reduced in IS patients with poor outcome, compared to those with good
31 prognosis while IL-6 was very high in the poor outcome group. Only IL-9 level decreased in
32 the large infarct volume group. After adjusting for confounders, these authors found that IL-5
33 was an independent protective factor for prognosis in IS patients, whereas IL-6 was an
34 independent risk predictor for IS patients. In a previous study we demonstrated that

1 circulating levels of hsCRP, IL-6, ferritin, and glucose were higher, and HDL-cholesterol and
2 25(OH)D were lower among the non-survivors IS patients compared with the survivors in a
3 three-month follow-up (Reiche et al., 2019). Data on peripheral cytokine release are
4 extremely variable, likely due to the difference in IS severity, location, age, comorbidities,
5 and systemic inflammatory status at admission.

6 Among the panel of adhesion molecules evaluated in the present study, sVCAM-1
7 was significantly associated with non-survival long-term outcome of IS patients. Upregulation
8 of inflammatory adhesion molecules was reported in patients with IS, although the evidence is
9 contradictory. sICAM-1 and sVCAM-1 are increased in blood and CSF of patients with recent
10 IS, and these increases are associated with the severity of neurological deficits (Danton;
11 Dietrich, 2003; Blann et al., 1999). Other studies evaluated circulating adhesion molecules in
12 the peripheral blood in samples taken within 12 to 72 hours after IS onset and demonstrated
13 high levels of sICAM-1 (Shyu et al., 1997; Fassbender et al., 1995; Bitsch et al., 1998),
14 sVCAM-1 (Fassbender et al., 1995; Bitsch et al., 1998; Blann et al., 1990), sE-selectin
15 (Fassbender et al., 1995; Bitsch et al., 1998; Frijns et al., 1997) and sP-selectin (Frijns et al.,
16 1997; Wu et al., 1993).

17 High sICAM-1 levels on admission are associated with early death in middle-aged IS
18 patients suggesting a pathogenetic role of inflammation in the evolution of IS. sICAM-1 and
19 sVCAM-1 levels were significantly higher in patients who died compared to those who
20 survived but only sICAM-1 levels were independently associated with early death, after
21 adjusting for various confounding factors (Rallidis et al., 2009). Possible explanations for
22 these contradictory results are differences in laboratory assays or in the timing of blood
23 sampling. Additionally, the presence of other diseases such as infections, T2DM, or systemic
24 illnesses not diagnosed in the admission of the study may have influenced the results.
25 Increased levels of sICAM-1 and sVCAM-1, but normal sE-selectin levels, were reported in
26 patients with T2DM, especially in those with silent cerebral infarcts on magnetic resonance
27 imaging (MRI) (Kawamura et al., 1998).

28 The multivariate analysis showed that vWF was independently associated with this
29 endpoint which extends the findings of Samai et al. (2014) who reported that concurrent
30 FVIII/vWF elevation predicts increased risk of complications and worse functional outcomes
31 in patients with IS. Their findings suggest that increased FVIII and vWF levels confer risk
32 towards a more detrimental IS outcome.

33 Limitations should be considered in the interpretation of our results. First, our data
34 were obtained from a single hospital setting and included a relatively small number of patients

1 with IS; therefore, may not be generalizable to other settings. Second, we only measured
2 laboratory biomarkers at a single time point (i.e., 24 hours of hospital admission); whereas a
3 multi-time-point evaluation is probably more appropriate to validate the predictive value of
4 biomarkers. Furthermore, monitoring the dynamic change of circulating levels of biomarker
5 will be essential in further studies. However, the major strength of the present study is the
6 longitudinal design with a 12-month follow-up, which suggests that different pathways,
7 namely inflammatory, coagulation and endothelial pathways, are causal factors leading to an
8 increased mortality rate and that also clinical data including the NIHSS score may prediction
9 mortality following IS.

10 The evaluation of set of different biomarkers involving the most important pathways
11 associated with the pathophysiology of IS, such as atherosclerosis, coagulation, systemic
12 inflammatory response, and vascular dysfunction may render their application to predicting
13 the IS outcome as well as to improving new clinical therapeutics approaches. Although IS
14 remains a major cause of morbidity, mortality and disability worldwide there is a lack of
15 prognostic tools in clinical practice to monitor the neurological condition and predict the
16 final outcome. In the present study, hsCRP can add predictive information to the clinical score
17 of the NIHSS and together they can serve as independent predictors of unfavorable IS
18 outcome. Both biomarkers are easily and reliably obtained, inexpensive, and showed to be
19 highly predictive of 12-month outcome of IS patients in the present cohort. Early evaluations
20 of severity and predictions of outcome are considered essential and critical in the treatment
21 and care of patients with IS. This information is important for allocation of personalized
22 therapeutic strategies for these patients. Further large-scale prospective studies are required to
23 confirm the role of these biomarkers in the IS outcome.

24

25 **Compliance with ethical standards**

26 *Conflict of interest*

27 The authors declare that they have no conflict of interest.

28

29 *Ethical approval*

30 The protocol was approved by the Institutional Research Ethics Committees of
31 University of Londrina, Paraná, Brazil (CAAE: (CAAE 61361416.9.0000.5231) and all of the
32 individuals invited were informed in detail about the research and gave written Informed
33 Consent.

34

1 **Financial support**

2 The study was supported by grants from Coordination for the Improvement of Higher Level of
3 Education Personnel (CAPES) of Brazilian Ministry of Education: Finance Code 001; Institutional
4 Program for Scientific Initiation Scholarship (PIBIC) of the National Council for Scientific and
5 Technological Development (CNPq); and Araucária Foundation.

8 **References**

- 9 Adams HP, Bendixen BH, Kappelle LJ, Biller J, Love BB, Gordon DL, Marsh EE 3rd.
10 Classification of subtype of acute ischemic stroke. Definitions for use in a multicenter clinical
11 trial. TOAST. Trial of org 10172 in acute stroke treatment. *Stroke* 1993; 24:35–41.
12
- 13 Adams HP, Davis PH, Leira EC, Chang KC, Bendixen BH, Clarke WR, Woolson RF, Hansen
14 MD. NIHSS and Patient Outcomes. *Neurology* 1999; 53:126-131.
15
- 16 Allen, C.; Thornton, P.; Denes, A.; McColl, B.W.; Pierozynski, A.; Monestier, M.; Pinteaux,
17 E.; Rothwell, N.J.; Allan, S.M. Neutrophil cerebrovascular transmigration triggers rapid
18 neurotoxicity through release of proteases associated with decondensed DNA. *J. Immunol*
19 2012; 189: 381–392.
20
- 21 Alakbarzade V, Taylor A, Scully M, et al. Utility of current thrombophilia screening in young
22 patients with stroke and TIA. *Stroke and Vascular Neurology* 2018; 3: e000169.
23
- 24 Alvarez-Perez FJ, Castelo-Branco M, Alvarez-Sabin J. Albumin level and stroke. Potential
25 association between lower albumin level and cardioembolic aetiology. *Int J Neurosci* 2011;
26 121 (1), 25-32. DOI: 10.3109/00207454.2010.523134
27
- 28 Ashour W, Al-Anwar AD, Kamel AE, Aidaros MA. Predictors of early infection in cerebral
29 ischemic stroke. *J. Med. Life* 2016; 9: 163–169.
30
- 31 American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes – 2014. *Diabetes Care*
32 2014; 37:S14–80.
33

- 1 Andersen KK, Andersen ZJ, Olsen TS. Predictors of early and late case-fatality in a
2 nationwide Danish study of 26,818 patients with first-ever ischemic stroke. *Stroke* 2011;
3 42(10):2806-12.
4
- 5 Becker KJ. Inflammation and acute stroke. *Curr Opin Neurol* 1998; 11(1):45–49.
6
- 7 Benjamin EJ, Virani SS, Callaway CW, Chamberlain AM, Chang AR, Cheng S, Chiuve
8 SE, Cushman M, Delling FN, Deo R, de Ferranti SD, Ferguson JF, Fornage M, Gillespie
9 C, Isasi CR, Jiménez MC, Jordan LC, Judd SE, Lackland D, Lichtman JH, Lisabeth L, Liu
10 S, Longenecker CT, Lutsey PL, Mackey JS, Matchar DB, Matsushita K, Mussolino
11 ME, Nasir K, O'Flaherty M, Palaniappan LP, Pandey A, Pandey DK, Reeves MJ, Ritchey
12 MD, Rodriguez CJ, Roth GA, Rosamond WD, Sampson UKA, Satou GM, Shah SH, Spartano
13 NL, Tirschwell DL, Tsao CW, Voeks JH, Willey JZ, Wilkins JT, Wu JH, Alger HM, Wong
14 SS, Muntner P; American Heart Association Council on Epidemiology and Prevention
15 Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. Heart Disease and Stroke Statistics-
16 2018 Update: A Report from the American Heart Association. *Circulation* 2018; 137 (12):
17 e67–e492.
18
- 19 Benjamini Y, Hochberg Y. Controlling the False Discovery Rate: A Practical and Powerful
20 Approach to Multiple Testing. *Journal of the Royal Statistical Society. Series B*
21 (Methodological) 1995; 57 (1): 289-300.
22
- 23 Beridze M, Sanikidze T, Shakarishvili R, Intskirveli N, Bornstein NM. Selected acute phase
24 CSF factors in ischemic stroke: Findings and prognostic value. *BMC Neurol* 2011; 11: 41.
25
- 26 Bielewicz J, Kurzepa J, Czekajska-Chehab E, Kamieniak P, Daniluk B, Bartosik-Psujek
27 H, Rejdak K. Worse neurological state during acute ischemic stroke is associated with
28 decrease in serum albumin Levels. *J Mol Neurosci.*2016; 58(4):493-6. doi: 10.1007/s12031-
29 015-0705-4.
30
- 31 Bitsch A, Klene W, Murtada L, Prange H, Rieckmann P. A longitudinal prospective study of
32 soluble adhesion molecules in acute stroke. *Stroke* 1998; 29:2129–2135.
33

- 1 Blann A, Kumar P, Krupinski J, McCollum C, Beevers DG, Lip GY. Soluble intercellular
2 adhesion molecule-1, E-selectin, vascular cell adhesion molecule-1 and von Willebrand factor
3 in stroke. *Blood Coagul Fibrinolysis* 1999; 10:277–284.
4
- 5 Bonaventura A, Liberale L, Vecchié A, Casula M, Carbone F, Dallegri F, Montecucco F.
6 Update on Inflammatory Biomarkers and Treatments in Ischemic Stroke. *Int J Mol Sci* 2016; 17 (12
7)1-53.doi:10.3390/ijms17121967
8
- 9 Bonita R, Beaglehole R. Recovery of motor function after stroke. *Stroke* 1998; 19:1497–
10 1500.
11
- 12 Bowes MP, Zivin JA, Rothlein R. Monoclonal antibody to the ICAM-1 adhesion site reduces
13 neurological damage in a rabbit cerebral embolism stroke model. *Exp Neurol* 1993;
14 119(2):215-9.
15
- 16 Brazil (2013) Manual of routines for attention to stroke / Ministry of Health, Health Care
17 Secretariat, Department of Specialized Care. Brasília: Publisher of the Ministry of Health.
18 2013. 50 p. ISBN 978– 85–334-1998-8. 1.
19
- 20 Brott T, Adams HP Jr, Olinger CP. Measurement of acute cerebral infarction: a clinical
21 examinations scale. *Stroke* 1989; 20:864-870.
22
- 23 Bustamante A, Garcia-Berrocoso T, Llombart V, Simats A, Giralt D, Montaner J.
24 Neuroendocrine hormones as prognostic biomarkers in the setting of acute stroke: overcoming
25 the major hurdles. *Expert Rev Neurother* 2014; 14: 1391-1403.
26
- 27 Bustamante A, Simats A, Vilar-Bergua A, García-Berrocoso T, Montaner J. Blood/Brain
28 Biomarkers of inflammation after stroke and their association with outcome: from c-reactive
29 protein to damage-associated molecular patterns. *Neurotherapeutics* 2016a; 13(4):671-684.
30 doi: 10.1007/s13311-016-0470-2.
31
- 32 Bustamante A, Garcia-Berrocoso T, Rodriguez N, Llombart V, Ribó M, Molina C, Montaner
33 J. Ischemic stroke outcome: a review of the influence of post-stroke complications within the
34 different scenarios of stroke care. *Eur J Intern Med* 2016b; 29: 9-21.

- 1 Bustamante A, Sobrino T, Giralt D, García-Berrocoso T, Llombart V, Ugarriza I, Espadaler
2 M, Rodríguez N, Sudlow C, Castellanos M, Smith CJ, Rodríguez-Yáñez M, Waje-Andreassen
3 U, Tanne D, Oto J, Barber M, Worthmann H, Wartenberg KE, Becker KJ, Chakraborty B, Oh
4 SH, Whiteley WN, Castillo J, Montaner J. Prognostic value of blood interleukin-6 in the
5 prediction of functional outcome after stroke: a systematic review and meta-analysis. *J*
6 *Neuroimmunol* 2014; 274: 215-224.
7
- 8 Chakraborty B, Vishnoi G, Goswami B, Gowda SH, Chowdhury D, Agarwal S. Lipoprotein(a),
9 ferritin, and albumin in acute phase reaction predicts severity and mortality of acute ischemic stroke in
10 North Indian Patients. *J Stroke Cerebrovasc Dis* 2013; 22(7):e159-67. doi:
11 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2012.10.013.
12
- 13 Chamorro A, Dirnagl U, Urra, X, Planas AM. Neuroprotection in acute stroke: targeting
14 excitotoxicity, oxidative and nitrosative stress, and inflammation. *Lancet Neurol* 2016; 15,
15 869–881.
16
- 17 Chopp M, Li Y, Jiang N, Zhang RL, Probstak J. Antibodies against adhesion molecules reduce
18 apoptosis after transient middle cerebral artery occlusion in rat brain. *J Cereb Blood Flow*
19 *Metab* 1996; 16(4):578-84.
20
- 21 Danton GH, Dietrich WD. Inflammatory mechanisms after ischemia and stroke. *J*
22 *Neuropathol Exp Neurol* 2003; 62(2):127–136.
23
- 24 Davis JP, Wong AA, Schluter PJ, Henderson RD, O'Sullivan JD, Read SJ. Impact of
25 pre-morbid undernutrition on outcome in stroke patients. *Stroke* 2004; 35:1930e4.
26
- 27 den Hertog HM, van Rossum JA, van der Worp HB, van Gemert HM, de Jonge R,
28 Koudstaal PJ, Dippel DW. C-reactive protein in the very early phase of acute ischemic stroke:
29 association with poor outcome and death. *J Neurol* 2009; 256(12):2003-2008.
30
- 31 Di Napoli M, Papa F, Bocola V. C-reactive protein in ischemic stroke: an independent
32 prognostic factor. *Stroke*. 2001; 32(4):917-24.
33

- 1 Di Napoli M, Schwaninger M, Cappelli R, et al. Evaluation of C-reactive protein
2 measurement for assessing the risk and prognosis in ischemic stroke: A statement for
3 healthcare professionals from the CRP pooling project members. *Stroke* 2005; 36:1316-1329.
4
- 5 Donkel SJ, Benaddi B, Dippel DWJ, Ten Cate H, de Maat MPM. Prognostic Hemostasis
6 Biomarkers in Acute Ischemic Stroke. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2019; 39(3):360-372.
7 doi: 10.1161/ATVBAHA.118.312102.
8
- 9 Dziedzic T, Pera J, Slowik A, EA Gryz-Kurek, A Szczudlik. Hypoalbuminemia in acute
10 ischemic stroke patients: Frequency and correlates. *Eur J Clin Nutr* 2007; 61:1318-1322.
11
- 12 Fahmi RM, Elsaïd AF. Infarction size, interleukin-6, and their interaction are predictors of
13 short-term stroke outcome in young egyptian adults. *J. Stroke Cerebrovasc Dis* 2016; 25:
14 2475–2481.
15
- 16 Famakin B, Weiss P, Hertzberg V, McClellan W, Presley R, Krompf K, Karp H, Frankel MR.
17 Hypoalbuminemia predicts acute stroke mortality: Paul Coverdell Georgia Stroke Registry. *J*
18 *Stroke Cerebrovasc Dis* 2010; 19:17-22.
19
- 20 Fassbender K, Mossner R, Motsch L, Kischka U, Grau A, Hennerici M. Circulating selectin-
21 and immunoglobulin-type adhesion molecules in acute ischemic stroke. *Stroke* 1995;
22 26:1361–1364.
23
- 24 Feigin VL, Norrving B, Mensah GA, Global Burden of Stroke. *Circ Res* 2017; 120(3):439-
25 448. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.116.308413.
26
- 27 Frenkel D, Huang Z, Maron R, Koldzic DN, Moskowitz MA, Weiner H.L. Neuroprotection
28 by IL-10-producing MOG CD4+ T cells following ischemic stroke. *J. Neurol. Sci* 2005; 233:
29 125–132.
30
- 31 Frijns CJ, Kappelle LJ, van Gijn J, Nieuwenhuis HK, Sixma JJ, Fijnheer R. Soluble adhesion
32 molecules reflect endothelial cell activation in ischemic stroke and in carotid atherosclerosis.
33 *Stroke* 1997; 28: 2214–2218.
34

- 1 Geng HH, Wang XW, Fu RL, Jing MJ, Huang LL, Zhang Q, Wang XX, Wang PX. The
2 relationship between C-reactive protein level and discharge outcome in patients with acute
3 ischemic stroke. *Int. J. Environ Res Public Health* 2016; 13 (7): pii. E636. doi:
4 10.3390/ijerph13070636.
5
- 6 Gonzalez HA, Fabre PO, Lopez FJ, Platero RM, Cabrera HA, Mendoza GM. Risk factors,
7 etiology and prognosis in patients older than 80 years old with ischemic stroke. *Rev Esp*
8 *Geriatr Gerontol* 2008 ;43(6):366-369.
9
- 10 Goussev AV, Zhang Z, Anderson, DC, Chopp M. P-selectin antibody reduces hemorrhage
11 and infarct volume resulting from MCA occlusion in the rat. *J. Neurol Sci* 1998; 161(1): 16-
12 22.
13
- 14 Grilli M, Barbieri I, Basudev H, Brusa R, Casati C, Lozza G, Ongini E. Interleukin-10
15 modulates neuronal threshold of vulnerability to ischaemic damage. *Eur J Neurosci* 2000; 12:
16 2265–2272.
17
- 18 Hakkennes SJ, Brock K, Hill KD. Selection for inpatient rehabilitation after acute stroke: a
19 systematic review of the literature. *Arch Phys Med Rehabil* 2011; 92(12):2057-2070.
20
- 21 He X, Bao Y, Shen Y, Wang E, Hong W, Ke S, Jin X. Longitudinal evaluation of serum
22 periostin levels in patients after large- artery atherosclerotic stroke: A prospective
23 observational study. *Sci Rep* 2018; 8(1):11729. doi: 10.1038/s41598-018-30121-5.
24
- 25 Huang J, Choudhri TF, Winfree CJ, McTaggart RA, Kiss S, Mocco J, Kim LJ, Protopsaltis
26 TS, Zhang Y, Pinsky DJ, Connolly ES Jr. Postischemic cerebrovascular E-selectin expression
27 mediates tissue injury in murine stroke. *Stroke* 2000; 31:3047–3053.
28
- 29 Huybrechts KF, Caro JJ. The Barthel Index and modified Rankin Scale as prognostic tools for
30 long-term outcomes after stroke: a qualitative review of the literature. *Curr Med Res Opin*
31 2007; 23:1627-1636.
32

- 1 Karlinski M, Bembenek J, Grabska K, Kobayashi A, Baranowska A, Litwin T, Czlonkowska
2 A. Routine serum C-reactive protein and stroke outcome after intravenous thrombolysis. *Acta*
3 *Neurol Scand* 2014; 130, 305–311.
- 4
- 5 Kleinschnitz C, Schwab N, Kraft P, Hagedorn I., Dreykluft A, Schwarz T, Austinat M,
6 Nieswandt B, Wiendl H, Stoll G. Early detrimental T-cell effects in experimental cerebral
7 ischemia are neither related to adaptive immunity nor thrombus formation. *Blood* 2010; 115,
8 3835–3842.
- 9
- 10 James PA, Oparil S, Carter BL, Cushman WC, Dennison-Himmelfarb C, Handler J, Lackland
11 DT, LeFevre ML, MacKenzie TD, Ogedegbe O, Smith Jr SC, Svetkey LP, Taler S J,
12 Townsend RR, Wright Jr JT, Narva AS, Ortiz E. MPH2014 evidence-based guideline for the
13 management of high blood pressure in adults: report from the panel members appointed to the
14 Eight Joint National Committee (JNC8). *JAMA Intern Med* 2014; 311(5):507–520.
- 15
- 16 Jin AY, Tuor UI, Rushforth D, Kaur J, Muller RN, Petterson JL, Boutry S, Barber PA.
17 Reduced blood brain barrier breakdown in P-selectin deficient mice following transient
18 ischemic stroke: A future therapeutic target for treatment of stroke. *BMC Neuroscim* 2010;
19 11:12. doi: 10.1186/1471-2202.
- 20
- 21 Jin R, Yang G, Li G. Inflammatory mechanisms in ischemic stroke: Role of inflammatory
22 cells. *J Leukoc Biol* 2010; 87:779–789.
- 23
- 24 Johnson KC, Wagner DP, Haley EC Jr, Connor AF Jr. Combined Clinical and Imaging
25 Information as an Early Stroke Outcome Measure. *Stroke* 2002; 33(2): 466–472.
- 26
- 27 Johnston SC, Mendis S, Mathers CD. Global variation in stroke burden and mortality:
28 estimates from monitoring, surveillance, and modelling. *Lancet Neurol* 2009; 8(4):345-54.
- 29
- 30 Justicia C, Martín A, Rojas S, Gironella M, Cervera A, Panés J, Chamorro A, Planas AM.
31 Anti-VCAM-1 antibodies did not protect against ischemic damage either in rats or in mice. *J.*
32 *Cereb Blood Flow Metab* 2006, 26(3), 421-432.
- 33

- 1 Katan M, Elkind MSV. Inflammatory and neuroendocrine biomarkers of prognosis after
2 ischemic stroke. *Expert Rev Neurother* 2011; 11: 225-239.
- 3
- 4 Kawai T, Ohishi M, Takeya Y, Onishi M, Ito N, Oguro R, Yamamoto K, Kamide K, Rakugi
5 H. Carotid plaque score and intima media thickness as predictors of stroke and mortality in
6 hypertensive patients. *Hypertens Res* 2013; 36(10):902-9. doi: 10.1038/hr.2013.61.
- 7
- 8 Kawamura T, Umemura T, Kanai A, Uno T, Matsumae H, Sano T, Sakamoto N, Sakakibara
9 T, Nakamura J, Hotta N. The incidence and characteristics of silent cerebral infarction in
10 elderly diabetic patients: association with serum-soluble adhesion molecules. *Diabetologia*
11 1998; 41(8):911-917.
- 12
- 13 Kim J, Song TJ, Park JH, Lee HS, Nam CM, Nam HS, et al. Different prognostic value of
14 white blood cell subtypes in patients with acute cerebral infarction. *Atherosclerosis* 2012;
15 222:464-467.
- 16
- 17 Kim J S. Cytokines and adhesion molecules in stroke and related diseases. *J. Neurol Sci* 1996;
18 137(2): 69-78.
- 19
- 20 Kim JY, Kawabori M, Yenari, MA. Innate inflammatory responses in stroke: mechanisms and
21 potential therapeutic targets. *Curr Med Chem* 2014; 21(18):2076-97.
- 22
- 23 Koton S, Tanne D, Green MS, Bornstein NM. Mortality and Predictors of Death 1 Month and
24 3 Years after First-Ever Ischemic Stroke: Data from the First National Acute Stroke Israeli
25 Survey (NASIS 2004). *Neuroepidemiology* 2010; 34(2):90-6.
- 26
- 27 Lambertsen KL, Biber K, Finsen B. Inflammatory cytokines in experimental and human
28 stroke. *J. Cereb Blood Flow Metab* 2012; 32: 1677–169.
- 29
- 30 Li X, Lin S, Chen X, Huang W, Li Q, Zhang H, Chen X, Yang S, Jin K, Shao B. The
31 Prognostic Value of Serum Cytokines in Patients with Acute Ischemic Stroke. *Aging*
32 *Dis* 2019; 10(3):544-556. doi: 10.14336/AD.2018.0820
- 33

- 1 Li S, Yin C, Zhao W, Zhu H, Xu D, Xu Q. et al. Homeostasis model assessment of insulin
2 resistance in relation to the poor functional outcomes in nondiabetic patients with ischemic
3 stroke. *Biosci Rep* 2018; 38(3). pii: BSR20180330. doi: 10.1042/BSR20180330.
4
- 5 Li YM, Liu XY. Serum levels of procalcitonin and high sensitivity C-reactive protein are
6 associated with long-term mortality in acute ischemic stroke. *J Neurol Sci* 2015; 352, 68–73.
7
- 8 Liu L, Wang D, Wong KS, Wang Y. Stroke and stroke care in China: huge burden, significant
9 workload, and a national priority. *Stroke* 2011; 42(12):3651-4.
10
- 11 Liesz A, Zhou W, Mracskó É, Karcher S, Bauer H, Schwarting S, Sun L, Bruder D,
12 Stegemann S, Cerwenka A, Sommer Dalpke AH, Veltkamp R. Inhibition of lymphocyte
13 trafficking shields the brain against deleterious neuroinflammation after stroke. *Brain*
14 2011;134(3):704-20. doi: 10.1093/brain/awr008
15
- 16 Liesz A, Suri-Payer E, Veltkamp C, Doerr H, Sommer C, Rivest S, Giese T, Veltkamp R.
17 Regulatory T cells are key cerebroprotective immunomodulators in acute experimental stroke.
18 *Nat Med.* 2009; 15(2):192–199.
19
- 20 Matsuo R, Ago T, Hata, J, Wakisaka Y, Kuroda J, Kuwashiro T, Kitazono T, Kamouchi M,
21 Fukuoka. Stroke Registry Investigators. Plasma C-reactive protein and clinical outcomes after
22 acute ischemic stroke: A prospective observational study. *PLoS One* 2016; 11 (6): e0156790,
23 doi: 10.1371/journal.pone.0156790.
24
- 25 Muir KW, Weir CJ, Alwan W, et al. C-reactive protein and outcome after ischemic stroke.
26 *Stroke* 1999; 30:981-988.
27
- 28 NCEP ATP III. Third Report of National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert
29 Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult
30 Treatment Panel III). *Circulation* 2002; 106:3143–3421.
31
- 32 O'Leary DH, Polak JF, Kronmal RA, Manolio TA, Burke GL, Wolfson SK Jr. Carotid-artery
33 intima and media thickness as a risk factor for myocardial infarction and stroke in older

- 1 adults. Cardiovascular Health Study Collaborative Research Group. *New England Journal of*
2 *Medicine* 1999; 340 (1): 14-22.
- 3
- 4 Ozkan AK, Yemisci OU, Saracgil Cosar SN, Oztop P, Turhan N. Can high-sensitivity C-
5 reactive protein and ferritin predict functional outcome in acute ischemic stroke? A
6 prospective study. *Top Stroke Rehabil* 2013; 20(6):5285-36. doi: 10.1310/tsr2006-528
7
- 8 Pandian JR, Jyotsna R, Singh R, Sylaja PN, Vijaya P, Padma MV, Venkateswaralu K,
9 Sukumaran S, Radhakrishnan K, Sarma PS, Mathew R, Singh Y. Premorbid nutrition and
10 short-term outcome of stroke: A multicentre study from India. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*
11 2011; 82: 1087-1092.
- 12
- 13 Pandey A, Shrivastava AK, Saxena K. Neuron specific enolase and c-reactive protein levels
14 in stroke and its subtypes: Correlation with degree of disability. *Neurochem Res* 2014;
15 39:1426–1432.
- 16
- 17 Park SY, Kim J, Kim OJ, Kim JK, Song J, Shin DA, Oh SH. Predictive value of circulating
18 interleukin-6 and heart-type fatty acid binding protein for three months clinical outcome in
19 acute cerebral infarction: Multiple blood markers profiling study. *Crit. Care* 2013; 17 (2):
20 R45. doi: 10.1186/cc12564.
- 21
- 22 Petrovic-Djergovic D, Goonewardena SN, Pinsky DJ. Inflammatory Disequilibrium
23 in Stroke. *Circ Res* 2016; 119(1):142-158. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.116.308022
24
- 25 Polak JF, O'leary, DH. Carotid Intima-Media Thickness as Surrogate for and Predictor of
26 CVD. *Global Heart* 2016; 11(3): 295- 312.
- 27
- 28 Quinlan, G. J., Martin, G. S., Evans, T. W. (2005). Albumin: Biochemical properties and
29 therapeutic potential. *Hepatology* 2005; 41:1211–1219.
- 30
- 31 Santos EHS, Dos Santos Neto PJ, Santos IDS. Carotid intima-media thickness in the Brazilian
32 longitudinal study of adult health (ELSA-brasil): A narrative review. *Sao Paulo Medical*
33 *Journal* 2018; 136 (1): 64–72.
- 34

- 1 Price JF, Tzoulaki I, Lee AJ, Fowkes FG. Ankle brachial index and intima media thickness
2 predict cardiovascular events similarly and increased prediction when combined J Clin
3 Epidemiol 2007; 60: 1067-1075
4
- 5 Rabadi MH, Coar PL, Lukin M, Lesser M, Blass JP. Admission C-reactive protein does not
6 predict functional outcomes in patients with strokes in a subacute rehabilitation unit. Am J
7 Phys Med Rehabil 2008; 87:731-739
8
- 9 Rallidis LS, Zolindaki MG, Vikelis M, Kaliva K, Papadopoulos C, Kremastinos DT. Elevated
10 soluble intercellular adhesion molecule-1 levels are associated with poor short-term prognosis
11 in middle-aged patients with acute ischemic stroke. Int J Cardiol 2009; 132(2):216-220.
12
- 13 Rayasam A, Hsu M, Kijak JA, Kissel L, Hernandez G, Sandor M, Fabry Z. Immune responses
14 in stroke: how the immune system contributes to damage and healing after stroke and how
15 this knowledge could be translated to better cures? Immunology 2018; 154(3): 363-376. doi:
16 10.1111/imm.12918
17
- 18 Reiche EMV, Gelinksi JR, Alfieri DF, Flauzino T, Lehmann MF, de Araújo MCM, Lozovoy
19 MAB, Simão ANC, de Almeida ERD, Maes M. Immune-inflammatory, oxidative stress and
20 biochemical biomarkers predict short-term acute ischemic stroke death. Metab Brain Dis
21 2019 Jun; 34(3):789-804. doi: 10.1007/s11011-019-00403-6
22
- 23 Rocco A, Ringleb PA, Grittner U, Nolte CH, Schneider A, Nagel S. Follow-up C-reactive
24 protein level is more strongly associated with outcome in stroke patients than admission
25 levels. Neurol Sci 2015; 36: 2235–2241.
26
- 27 Rodriguez-Yanez M, Castellanos M, Sobrino T, Brea D, Ramos-Cabrer P, Pedraza S,
28 Castineiras JÁ, Serena J, Davalos A, Castillo J, Blanco M. Interleukin-10 facilitates the
29 selection of patients for systemic thrombolysis. BMC Neurol 2013; 13 (1): 62. doi:
30 10.1186/1471-2377-13-62
31
- 32 Samai A, Monlezun D, Shaban A, George A, Dowell L, Kruse-Jarres R, Martin-Schild S. von
33 Willebrand factor drives the association between elevated factor VIII and poor outcomes in
34 patients with ischemic stroke. Stroke 2014; 45(9): 2789–2791.

- 1 Shaafi S, Sharifipour E, Rahmanifar R, Hejazi S, Andalib S, Nikanfar M. Interleukin-6, a
2 reliable prognostic factor for ischemic stroke. *Iran J Neurol* 2014; 13(2): 70-76.
3
- 4 Sánchez-Moreno C, Dashe JF, Scott T, Thaler D, Folstein MF, Martin A. Decreased levels of
5 plasma vitamin C and increased concentrations of inflammatory and oxidative stress markers
6 after stroke. *Stroke* 2004; 35(1):163-8.
7
- 8 Saposnik G, Hill MD, O'Donnell M, Fang J, Hachinski V, Kapral MK. Variables associated
9 with 7-day, 30-day, and 1-year fatality after ischemic stroke. *Stroke* 2008; 39(8): 2318-24.
10
- 11 Sene DF, Basse AM, Toure K, Ndiaye M, Wone I, Thiam A, Diop AG, Ndiaye MM, Ndiaye
12 IP. Prognosis of stroke in department of neurology of Dakar. *Dakar Med* 2006; 51(1): 17-21.
13
- 14 Shantikumar S, Grant PJ, Catto AJ, Bamford JM, Carter AM. Elevated C-reactive protein and
15 long-term mortality after ischaemic stroke: relationship with markers of endothelial cell and
16 platelet activation. *Stroke* 2009; 40(3):977-9.
17
- 18 Shyu KG, Chang H, Lin CC. Serum levels of intercellular adhesion molecule-1 and E-selectin
19 in patients with acute ischaemic stroke. *J Neurol* 1997; 244:90–93.
20
- 21 Sinning C, Westermann D, Clemmensen P. Oxidative stress in ischemia and reperfusion:
22 current concepts, novel ideas and future perspectives. *Biomark Med* 2017; 11(11):11031–
23 11040.
24
- 25 Smith CJ, Emsley HC, Gavin CM, Georgiou RF, Vail A, Barberan EM, del Zoppo GJ,
26 Hallenbeck JM, Rothwell NJ, Hopkins SJ, Tyrrell PJ. Peak plasma interleukin-6 and other
27 peripheral markers of inflammation in the first week of ischaemic stroke correlate with brain
28 infarct volume, stroke severity and long-term outcome. *BMC Neurol* 2004; 4:2.
29
- 30 Sobowale OA, Parry-Jones AR, Smith CJ, Tyrrell PJ, Rothwell NJ, Allan SM. Interleukin-1
31 in stroke: From bench to bedside. *Stroke* 2016; 47: 2160–2167.
32

- 1 Sotgiu S, Zanda B, Marchetti B, Fois ML, Arru G, Pes GM, Salaris FS, Arru A, Pirisi
2 A, Rosati G. Inflammatory biomarkers in blood of patients with acute brain ischemia. *Eur J*
3 *Neurol* 2006; 13(5): 505-513.
4
- 5 Stanimirovic DB, Wong J, Shapiro A, Durkin JP. Increase in surface expression of ICAM-1,
6 VCAM-1 and E-selectin in human cerebromicrovascular endothelial cells subjected to
7 ischemia-like insults. *Acta Neurochir Suppl* 1997; 70: 12–16.
8
- 9 Tu WJ, Zeng XW, Deng A, Zhao SJ, Luo DZ, Ma GZ, Wang H, Liu Q. Circulating FABP4
10 (fatty acid-binding protein 4) is a novel prognostic biomarker in patients with acute ischemic
11 stroke. *Stroke* 2017; 48:1531–1538.
12
- 13 Tu WJ, Zhao SJ, Xu DJ, Chen H. Serum 25-hydroxyvitamin D predicts the short-term
14 outcomes of Chinese patients with acute ischemic stroke. *Clin Sci* 2014; 126: 339–346.
15
- 16 Tzoulaki I, Murray GD, Lee AJ, Rumley A, Lowe GD, Fowkes FG. Relative value of
17 inflammatory, hemostatic, and rheological factors for incident myocardial infarction and
18 stroke: the Edinburgh Artery Study. *Circulation* 2007; 115: 2119–2127.
19
- 20 Uthoff H, Staub D, Meyerhans A., Hochuli M., Bundi B, Schmid H, Frauchiger B. Intima-
21 Media Thickness and Carotid Resistive Index: Progression Over 6 Years and Predictive Value
22 for Cardiovascular Events. *Ultraschall in Der Medizin - European Journal of Ultrasound*
23 2008; 29 (06): 604–610. doi:10.1055/s-2008-1027470
24
- 25 VanGilder RL, Davidov DM, Stinehart KR, Huber JD, Turner RC, Wilson KS, Haney E,
26 Davis SM, Chantler PD, Theeke L, Rosen CL, Crocco TJ, Gutmann L, Barr TL. C-reactive
27 protein and long-term ischemic stroke prognosis. *J Clin Neurosci* 2014; 21: 547–553.
28
- 29 Vila N, Castillo J, Davalos A, Chamorro A. Proinflammatory cytokines and early
30 neurological worsening in ischemic stroke. *Stroke* 2000; 31:2325–9.
31
- 32 Vlachopoulos C, Xaplanteris P, Aboyans V, Brodmann M, Cifkova R, Cosentino F, De Carlo
33 M, Gallino A, Landmesser U, Laurent S, Lekakis J, Mikhailidis DP, Naka KK, Protogerou
34 AD, Rizzoni D, Schmidt-Trucksass A, Van Bortel L, Weber T, Yamashina A, Zimlichman R,

- 1 Boutouyrie P, Cockcroft J, O'Rourke M, Park JB, Schillaci G, Sillesen H, Townsend RR. The
2 role of vascular biomarkers for primary and secondary prevention. A position paper from the
3 European Society of Cardiology Working Group on peripheral circulation: endorsed by the
4 Association for Research into Arterial Structure and Physiology (ARTERY) Society.
5 *Atherosclerosis* 2015; 241:507–532.
6
- 7 Taheraghdam A, Aminnejad S, Pashapour A, Rikhtegar R, Ghabili K. Is there a correlation
8 between hs-CRP levels and functional outcome of ischemic stroke? *Pak J Med Sci* 2013; 29:
9 166–169.
10
- 11 Touboul PJ, Hennerici MG, Meairs S, Adams H, Amarenco P, Desvarieux M, Ebrahim S,
12 Fatar M, Hernandez Hernandez R, Kownator S, Prati P, Rundek T, Taylor A, Bornstein N,
13 Csiba L, Vicaut E, Woo KS, Zannad F, Advisory Board of the 3rd Watching the Risk
14 Symposium 2004, 13th European Stroke Conference. Mannheim intima-media thickness
15 consensus. *Cerebrovasc Dis* 2004; 18:346–349.
16
- 17 Vemuganti R, Dempsey RJ, Bowen KK. Inhibition of intercellular adhesion molecule-1
18 protein expression by antisense oligonucleotides is neuroprotective after transient middle
19 cerebral artery occlusion in rat. *Stroke* 2004; 35(1):179–184.
20
- 21 Wang Y, Zhou S, Bao J, Pan S, Zhang X. Low T₃ levels as a predictor marker predict the
22 prognosis of patients with acute ischemic stroke. *Int J Neurosci* 2017; 127(7):559-566.
23
- 24 Wang Y, Ji H, Tong Y, Zhang Z (2014) Prognostic Value of Serum 25-Hydroxyvitamin D in
25 Patients with Stroke. *Neurochem Res* 2014; 39:1332–1337.
26
- 27 Wang X, Siren AL, Liu Y, Yue TL, Barone FC, Feuerstein GZ. Upregulation of intercellular
28 adhesion molecule 1 (ICAM-1) on brain microvascular endothelial cells in rat ischemic
29 cortex. *Brain Res Mol Brain Res* 1994; 26(1-2): 61-68.
30
- 31 Wei ZN, Kuang JG. Vitamin D deficiency in relation to the poor functional outcomes in
32 nondiabetic patients with ischemic stroke. *Biosci. Rep* 2018; 38(2): pii: BSR20171509. doi:
33 10.1042/BSR20171509
34

- 1 Whiteley W, Jackson C, Lewis S, Lowe G, Rumley A, Sandercock P, Wardlaw J, Dennis M.,
2 Sudlow C. Inflammatory markers and poor outcome after stroke: A prospective cohort study
3 and systematic review of interleukin-6. *PLoS Med* 2009a; 6 (9): e1000145. Doi:
4 10.1371/journal.pmed.1000145
5
- 6 Whiteley W, Chong WL, Sengupta A, Sandercock P. Blood markers for the prognosis of
7 ischemic stroke: a systematic review. *Stroke* 2009b; 40 (5): e380-389. doi:
8 10.1161/STROKEAHA.108.528752.
9
- 10 Wiseman S, Marlborough F, Doubal F, Webb DJ, Wardlaw J. Blood markers of coagulation,
11 fibrinolysis, endothelial dysfunction and inflammation in lacunar stroke versus non-lacunar
12 stroke and non-stroke: Systematic review and meta-analysis. *Cerebrovasc Dis.* 2014; 37, 64–
13 75.
14
- 15 Wu G, Li F, Li P, Ruan C. Detection of plasma alpha-granule membrane protein GMP-140
16 using radiolabeled monoclonal antibodies in thrombotic diseases. *Haemostasis* 1993; 23:121–
17 128.
18
- 19 Wu L, Walas S, Leung W, Sykes DB, Wu J, Lo E.H., Lok J. Neuregulin1- β decreases IL-1 β -
20 induced neutrophil adhesion to human brain microvascular endothelial cells. *Transl. Stroke*
21 *Res* 2015; 6(2), 116-124.
22
- 23 Yan T, Chopp M, Chen J. Experimental animal models and inflammatory cellular changes in
24 cerebral ischemic and hemorrhagic stroke. *Neurosci Bull* 2015; 31(6), 717-734.
25
- 26 Yang C, Hawkins KE, Doré S, Candelario-Jalil E. Neuroinflammatory mechanisms of blood-
27 brain barrier damage in ischemic stroke. *American Journal of Physiology-Cell Physiology.*
28 2019;316(2):C135–C53. doi: 10.1152/ajpcell.00136.2018.
29
- 30 Ye Z, Zhang Z, Zhang H, Hao Y, Zhang J, Liu W, Xu G, Liu X. Prognostic value of C-
31 reactive protein and homocysteine in large-artery atherosclerotic stroke: A prospective
32 observational study. *J Stroke Cerebrovasc Dis* 2017; 26: 618–626.
33

- 1 Yenari MA, Sun GH, Kunis DM, Onley D, Vexler V. L-selectin inhibition does not reduce
2 injury in a rabbit model of transient focal cerebral ischemia. *Neurol Res* 2001; 23(1):72-78.
3
- 4 Yoo SH, Kim JS, Kwon SU, Yun SC, Koh JY, Kang DW. Undernutrition as a predictor of
5 poor clinical outcomes in acute ischemic stroke patients. *Arch Neurol* 2008; 65:39-43.
6
- 7 Yoon HJ, Kim KH, Park H, Cho JY, Hong YJ, Park HW, Kim JH, Ahn Y, Jeong MH, Cho
8 JG, Park JC. Carotid plaque rather than intima-media thickness as a predictor of recurrent
9 vascular events in patients with acute ischemic stroke. *Cardiovasc Ultrasound* 2017; 24;
10 15(1):19. doi: 10.1186/s12947-017-0110-y.
11
- 12 Yoshimoto T, Houkin K, Tada M, Abe H. Induction of cytokines, chemokines and adhesion
13 molecule mRNA in a rat forebrain reperfusion model. *Acta Neuropathol* 1997; 93(2):154–
14 158.
15
- 16 Zhang RL, Chopp M, Zaloga C, Zhang ZG, Jiang N, Gautam SC, Tang WX, Tsang W,
17 Anderson DC, Manning AM. The temporal profiles of ICAM-1 protein and mRNA
18 expression after transient MCA occlusion in the rat. *Brain Res* 1995; 682(1–2):182–188.
19
- 20 Zhang Y, Fang X, Hua Y, Tang Z, Guan S, Wu X, Liu H, Liu B, Wang C, Zhang Z, Gu
21 X, Hou C, Liu C. Carotid Artery Plaques, Carotid Intima-Media Thickness, and Risk of
22 Cardiovascular Events and All-Cause Death in Older Adults: A 5-Year Prospective,
23 Community-Based Study. *Angiology* 2018; 69(2):120-129. doi: 10.1177/0003319717716842.
24
- 25 Zhou X, Yu F, Feng X., Wang J, Li Z, Zhan Q, Xia J. Immunity and inflammation predictors
26 for short-term outcome of stroke in young adults. *International Journal of Neuroscience* 2018;
27 128(7), 634–639. doi:10.1080/00207454.2017.1408614
28
- 29 Zhu YY, Zhang JL, Liu L, Han Y, Ge X, Zhao S. Evaluation of serum retinol-binding protein-
30 4 levels as a biomarker of poor short-term prognosis in ischemic stroke. *Biosci Rep* 2018;
31 38(5). pii: BSR20180786. doi: 10.1042/BSR20180786.
32

- 1 Zi WJ, Shuai J. Cortisol as a prognostic marker of short-term outcome in Chinese patients
- 2 with acute ischemic stroke. PLoS One. 2013; 8(9): e72758. doi:
- 3 10.1371/journal.pone.0072758.
- 4

1 6 CONCLUSÕES

2

3 Artigo 1

4

5 • Dos 106 pacientes com AVCI avaliados, o sexo feminino foi predominante, a idade
6 mediana foi de 66,0 anos e os fatores de risco modificáveis mais frequentes para AVCI foram
7 hipertensão arterial sistêmica, dislipidemia e DMT2; O NIHSS variou de 0 a 32, com mediana
8 de 8,0, a gravidade do AVCI foi leve em 36,9% dos casos, moderada em 35,9% e grave em
9 21,2%; cIMT variou de 0,6 mm a $\geq 1,6$ mm, com mediana de 1,00 mm; a prevalência de cIMT
10 $\geq 1,0$ mm foi de 42,5%, o grau de estenose $< 50\%$ foi observado na maioria dos pacientes; e o
11 subtipo LAAS foi mais frequente;

12 • A estenose carotídea $\geq 50\%$, DMT2 e NIHSS foram preditores de pior prognóstico a
13 curto prazo; juntas, essas variáveis classificaram corretamente 85,2% de todos os casos, com
14 sensibilidade de 90,2% e especificidade de 81,8%;

15 • Somente o NIHSS previu a mortalidade a curto prazo e classificou corretamente
16 85,7% de todos os casos, com sensibilidade de 95,8% e especificidade de 47,4%.

17

18 Artigo 2

19

20 • Um total de 104 pacientes com AVCI, o sexo feminino foi mais frequente, com idade
21 variando de 34 a 89 anos (mediana 66,5) e os fatores de risco para AVCI mais frequentes
22 foram hipertensão arterial sistêmica, DMT2 e dislipidemia; e 21,2% não sobreviveram após 12
23 meses de acompanhamento;

24 • Os pacientes que não sobreviveram apresentaram maior NIHSS e cIMT, menores
25 níveis de antitrombina e maiores níveis de FVIII, FvW, usPCR, IL-10 e sVCAM-1 do que os
26 que sobreviveram; no entanto, apenas o NIHSS e a usPCR foram preditores independentes de
27 mortalidade a longo prazo;

28 • O modelo combinado de NIHSS e usPCR foi melhor do que os modelos NIHSS e
29 usPCR isoladamente para prever mortalidade a longo prazo. Juntos, o NIHSS e a usPCR
30 classificaram corretamente 87,7% dos casos, com valores preditivos positivo de de 81,2% e
31 negativo 89,2%

32

1 Esses dados sugerem que a estenose carotídea $\geq 50\%$, DMT2 e NIHSS foram
2 preditores de maior incapacidade funcional a curto prazo e que somente o NIHSS foi preditor
3 de mortalidade a curto prazo. Quando associamos ao NIHSS os níveis séricos de usPCR, este
4 modelo combinado de biomarcadores pode prever, precocemente, a mortalidade a longo prazo
5 dos pacientes com AVCI, ressaltando a importância dessas medidas para o manejo mais
6 precoce e individualizado dos pacientes com AVCI.

7

8

9

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A avaliação de um conjunto de diferentes biomarcadores, envolvendo as vias mais importantes associadas à fisiopatologia do AVCI, como aterosclerose, coagulação, resposta inflamatória sistêmica e biomarcadores de disfunção vascular, pode ter aplicação clínica na previsão do prognóstico dos pacientes com AVCI e na abordagem de novas estratégias terapêuticas. Embora o AVCI continue sendo uma das principais causas de morbidade, mortalidade e incapacidade em todo o mundo, faltam ferramentas prognósticas na prática clínica para monitorar a condição neurológica e prever o desfecho a curto e longo prazo nestes pacientes.

No presente estudo, escores mais elevados de NIHSS e níveis séricos mais elevados de usPCR avaliados na admissão do paciente mostraram ser preditores independentes de desfecho desfavorável em pacientes com AVCI agudo. O modelo combinado (NIHSS e usPCR) pode fornecer informações preditivas adicionais significativas ao escore clínico do NIHSS avaliado isoladamente. Ambos os biomarcadores são obtidos precocemente, de maneira fácil e confiável, de baixo custo e altamente preditivos do prognóstico dos pacientes com AVCI. Avaliações precoces da gravidade e previsões de resultados são consideradas essenciais e críticas no tratamento e atendimento de pacientes com AVCI devido à alta morbimortalidade associada ao evento isquêmico. Esta informação é importante para a alocação de estratégias terapêuticas personalizadas para os pacientes com AVCI.

Limitações devem ser consideradas na interpretação dos nossos resultados. Primeiro, nossos dados foram obtidos em um único hospital e incluíram um número relativamente pequeno de pacientes com AVCI; portanto, não deve ser generalizado para outras populações. Segundo, avaliamos biomarcadores laboratoriais em um único momento, ou seja, até 24 h após a admissão hospitalar. Portanto, sugerimos novos estudos prospectivos em amostras maiores e com avaliação seriada de diferentes variáveis clínicas e laboratoriais para a confirmação do papel desses biomarcadores na avaliação precoce do prognóstico em curto e a longo prazo dos pacientes com AVCI. O monitoramento da mudança dinâmica dos níveis circulantes de biomarcador será essencial em estudos futuros. No entanto, o presente estudo apresenta algumas fortalezas como o delineamento longitudinal com acompanhamento de 12 meses após o AVCI, o que sugeriu inferir a relação causa-efeito dos valores de NIHSS e usPCR na predição da mortalidade a longo prazo dos pacientes avaliados.

1 **AGRADECIMENTOS**

2 O estudo teve apoio financeiro da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de
3 Nível Superior (CAPES) do Ministério da Educação do Brasil: Código Financeiro 001;
4 Programa Institucional de Bolsa de Iniciação Científica (PIBIC) do Conselho Nacional de
5 Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq); e Fundação Araucária.

6

7

8

1 REFERÊNCIAS

2
3 AARONSON, J. A. et al. Obstructive sleep apnea is related to impaired cognitive and
4 functional status after stroke. **Sleep**, v. 38, n. 9, p. 1431-1437. 2015. doi: 10.5665/sleep.4984.

5
6 ABRAMCZUK, B.; VILLELA, E. A luta contra o AVC no Brasil. **Com Ciência**, v. 109,
7 2009. Disponível em <[http://comciencia.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=](http://comciencia.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1519-76542009000500002&lng=pt&nrm=iso)
8 [S1519-](http://comciencia.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1519-76542009000500002&lng=pt&nrm=iso)
9 [76542009000500002&lng=pt&nrm=iso](http://comciencia.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1519-76542009000500002&lng=pt&nrm=iso)>. ISSN 1519-7654.

10 ADAMS Jr, H.P. et al. 3rd. Classification of subtype of acute ischemic stroke. Definitions of
11 use in a multicenter clinical trial. TOAST. Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment.
12 **Stroke**, v.24, p.35-41. 1993.

13
14 ALFIERI, D. F. et al. Vitamin D deficiency is associated with acute ischemic stroke, C-
15 reactive protein, and short-term outcome. **Metabolic Brain Diseases**, v.32, n.2, p.493-502.
16 2017. doi: 10.1007/s11011-016-9939-2.

17
18 ALMEIDA, A.G. et al. Acidente vascular cerebral isquêmico agudo: fatores de risco. In: Nasi
19 L.A. (org). **Rotinas em Unidade Vascular**. Porto Alegre: Artmed Editora, p. 287-295. 2012.

20
21 ALI, Y.S. et al. Prediction of major adverse cardiovascular events by age-normalized carotid
22 intimal medial thickness. **Atherosclerosis**, v.187, p.186-190. 2006.

23
24 ALLEN, C. et al. Neutrophil cerebrovascular transmigration triggers rapid neurotoxicity
25 through release of proteases associated with decondensed DNA. **Journal of Immunology**, v.
26 189, p. 381-392. 2012.

27
28 AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Standards of medical care in diabetes - 2014.
29 **Diabetes Care**, v.37, n.1, p.14-80. 2014.

30
31 AMERICAN HEART ASSOCIATION STROKE COUNCIL. Expansion of the time window
32 for treatment of acute ischemic stroke with intravenous tissue plasminogen activator. A
33 science advisory from the American Heart Association/American Stroke Association. **Stroke**,
34 v.40, n.8, p.2945-2948. 2009.

35
36 ANDERSEN, K.K. et al. Predictors of early and late case-fatality in a nationwide Danish
37 study of 26,818 patients with first-ever ischemic stroke. **Stroke**, v.42, n.10, p.2806-2812.
38 2011.

39
40 BABU, M.S. et al. Serum albumin levels in ischemic stroke and its subtypes: correlation with
41 clinical outcome. **Nutrition**, v.29, n.6, p.872-875. 2013.

42
43 BAKER, J. V. *et al.* Progression of carotid intima-media thickness in a contemporary human
44 immunodeficiency virus cohort. **Clinical Infectious Diseases**, v.53, n.8. p.826-835. 2011.

45
46 BALDASSARRE, D. et al. Carotid artery intima-media thickness measured by
47 ultrasonography in normal clinical practice correlates well with atherosclerosis risk factors.
48 **Stroke**, v.31, n.10, p.2426-2430. 2000.

49

- 1 BALTANAS, F.C. et al Albumin attenuates DNA damage in primary-cultured neurons.
2 **Neuroscience Letters**, v.450, p.23-26. 2009.
3
- 4 BARNETT, P.A. et al. Psychological stress and the progression of carotid artery disease. **J**
5 **Hypertension**, v.15, p.49-55. 1997.
6
- 7 BECKER, K.J. Inflammation and acute stroke. **Current Opinion of Neurology**, v.11, n.1,
8 p.45-49. 1998.
9
- 10 BELAYEV, L. et al. Albumin therapy of transient focal cerebral ischemia: in vivo analysis of
11 dynamic microvascular responses. **Stroke**, v.33, p.1077-1084. 2002.
12
- 13 BENJAMIN, E. J. et al. Heart Disease and Stroke Statistics-2018 Update: A Report from the
14 American Heart Association. **Circulation**, v.137, n.12, p.67-492. 2018.
15
- 16 BENSENOR, I. M. et al. Prevalence of stroke and associated disability in Brazil: National
17 Health Survey - 2013. **Arquivos de Neuropsiquiatria**, v.73, n.9, p.746-750. 2015.
18
- 19 BIELEWICZ, J. et al. Worse neurological state during acute ischemic stroke is associated
20 with decrease in serum albumin levels. **Journal of Molecular Neurosciences**, v.58, n4,
21 p.493-496. 2016. doi: 10.1007/s12031-015-0705-4.
22
- 23 BITSCH, A. et al. A longitudinal prospective study of soluble adhesion molecules in acute
24 stroke. **Stroke**, v.29, p.2129-2135. 1998.
25
- 26 BLANN, A. et al. Soluble intercellular adhesion molecule-1, E-selectin, vascular cell
27 adhesion molecule-1 and von Willebrand factor in stroke. **Blood Coagulation and**
28 **Fibrinolysis**, v.10, p.277-284. 1999.
29
- 30 BONAVENTURA, A. et al Update on Inflammatory Biomarkers and Treatments in Ischemic
31 Stroke. **International Journal of Molecular Sciences**, v.17, n.12, p.1-53. 2016.
32
- 33 BONGIOVANNI, M. et al Predictive factors of vascular intima media thickness in HIV-
34 positive subjects. **The Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v.61, n.1, p.195-199. 2008.
35
- 36 BONITA, R.; BEAGLEHOLE, R. Modification of Rankin Scale: Recovery of motor function
37 after stroke. **Stroke**, v.19, p.1497-1500. 1988.
38
- 39 BORISSOFF, J.I. et al. Is thrombin a key player in the “coagulation-atherogenesis” maze?
40 **Cardiovascular Research**, v. 82, n.3, p. 392–403. 2009.
41
- 42 BOSELLI, M. et al. Supplementation of essential amino acids may reduce the occurrence of
43 infections in rehabilitation patients with brain injury. **Nutrition in Clinical Practice**, v.27,
44 p.99-113. 2012.
45
- 46 BOTELHO, T. S. et al. Epidemiologia do acidente vascular cerebral no Brasil. **Temas em**
47 **Saúde**, v.16, n. 2. p.361-477. 2016.
48
- 49 BRASIL. **Manual de Rotinas para atendimento ao AVC**. Brasília: Editora Ministério da
50 Saúde. 2013.

- 1 BRASIL. Ministério da Saúde. **Sistema de Informações de Mortalidade (SIM) e IBGE.**
2 [Internet] Disponível em: <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?idb2011/c08.def>.
3 Acesso em: 07 ago. 2019
4
- 5 BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Ações
6 Programáticas Estratégicas. **Diretrizes de atenção à reabilitação da pessoa com acidente**
7 **vascular cerebral** / Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de
8 Ações Programáticas Estratégicas. Brasília: Ministério da Saúde, 2013.
9
- 10 BROTT, T. et al. Measurement of acute cerebral infarction: a clinical examinations scale.
11 **Stroke**, v.20, p.864-870. 1989.
12
- 13 BUCHTELE, N. et al. Targeting von Willebrand Factor in Ischaemic Stroke: Focus on
14 Clinical Evidence. **Thrombosis and Haemostasis**, v.118, p.959-978. 2018.
15
- 16 BUSTAMANTE, A. et al. Neuroendocrine hormones as prognostic biomarkers in the setting
17 of acute stroke: overcoming the major hurdles. **Expert Review of Neurotherapeutics**, v.14,
18 p.1391-1403. 2014.
19
- 20 BUSTAMANTE, A. et al. Ischemic stroke outcome: a review of the influence of post-stroke
21 complications within the different scenarios of stroke care. **European Journal of Internal**
22 **Medicine**, v.29, p.9-21. 2016.
23
- 24 BUSTAMANTE, A. et al. Prognostic value of blood interleukin-6 in the prediction of
25 functional outcome after stroke: a systematic review and meta-analysis. **Journal of**
26 **Neuroimmunology**, v.274, p.215-224. 2014.
27
- 28 BUSTAMANTE, A. Blood/Brain Biomarkers of inflammation after stroke and their
29 association with outcome: from C-reactive protein to damage-associated molecular patterns.
30 **Neurotherapeutics**, v.13, n.4, p.671-684. 2016. doi: 10.1007/s13311-016-0470-2.
31
- 32 CABRAL NL. Epidemiologia e impacto da doença cerebrovascular no Brasil e no mundo.
33 **Com Ciência**, v.109, p.1-5. 2009.
34
- 35 CAMILO, M. R. et al. Sleep-disordered breathing among acute ischemic stroke patients in
36 Brazil. **Sleep Medicine**, v.19, p.8-12. 2016. doi: 10.1016/j.sleep.2015.11.008.
37
- 38 CAMPOS, B.A.G.; PEREIRA FILHO, W.C. Estenose de Carótida Extracraniana. **Arquivos**
39 **Brasileiros de Cardiologia**, v.83, n.6, p.528-532. 2004.
40
- 41 CARVALHO, J.J. et al. Stroke epidemiology, patterns of management, and outcomes in
42 Fortaleza, Brazil: a hospital-based multicenter prospective study. **Stroke**, v.4, n.12, p.3341-
43 3346. 2011. doi:10.1161/STROKEAHA.111.626523
44
- 45 CASAS-VARA, A. et al. The obesity paradox in elderly patients with heart failure: Analysis
46 of nutritional status. **Nutrition**, v.28, n.6, p.616-622. 2012. doi:10.1016/j.nut.2011.10.006
47
- 48 CASELLA, I.B. et al. A practical protocol to measure common carotid artery intima-media
49 thickness. **Clinics**, v. 63, n.4, p.515-520. 2008.
50

- 1 CHAMBLESS, L.E. et al. Association of coronary heart disease incidence with carotid
2 arterial wall thickness and major risk factors: the Atherosclerosis Risk in Communities
3 (ARIC) Study, 1987-1993. **American Journal of Epidemiology**, v.146, p.483-494. 1997.
4
- 5 CHANG, T.R. et al. Factor VIII in the setting of acute ischemic stroke among patients with
6 suspected hypercoagulable state. **Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis**, v.20,
7 p.124-128. 2014.
8
- 9 CHANG, Y. J. et al. Carotid artery stenosis in ischemic stroke patients with nonvalvular atrial
10 fibrillation. **Cerebrovascular Diseases**, v.1, n.1, p.16-20. 2002.
11
- 12 CHEN, J. et al. Enhanced neuroprotection by local intra-arterial infusion of human albumin
13 solution and local hypothermia. **Stroke**, v.44, p.260-262. 2013.
14
- 15 CHIASKUL, T. et al. Inherited Thrombophilia and the Risk of Arterial Ischemic Stroke: A
16 Systematic Review and Meta-Analysis. **Journal of American Heart Association**, v. 8, n.
17 (19) p. e012877. 2019.
18
- 19 CIUFFETTI, G. et al. Hemorheologic factors in the postacute phase of ischemic stroke.
20 **Angiology**, v.39, p.437-449. 1988.
21
- 22 CLARK, W.M. et al. Circulating intercellular adhesion molecule-1 levels and neutrophil
23 adhesion in stroke. **Journal of Neuroimmunology**, v.44, p.123-125. 1993.
24
- 25 CONLAN, M.G. et al. Associations of factor VIII and von Willebrand factor with age, race,
26 sex, and risk factors for atherosclerosis. The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC)
27 study. **Thrombosis and Haemostasis**, v.70, n.3, p.380-385. 1993.
28
- 29 COLLINS, T.C. et al. Short-term, intermediate-term, and long-term mortality in patients
30 hospitalized for stroke. **Journal of Clinical Epidemiology**, v.56, p.81-87. 2003.
31
- 32 CONNOLLY ES, J.R. et al. Exacerbation of cerebral injury in mice that express the P-selectin
33 gene: Identification of P-selectin blockade as a new target for the treatment of stroke.
34 **Circulation Research**, v.81, p.304-310. 1997.
35
- 36 COSTA, M.A.C. et al. Prevalence of Carotid Stenosis and Incidence of Ischemic Stroke in
37 Patients Undergoing Non-Coronary Cardiac Surgery **Brazilian Journal of Cardiovascular**
38 **Surgery**, v. 34, n. 5, p. 550-559. 2019
39
- 40 COX, N. et al., Patterns and appropriateness of thrombophilia testing in an academic medical
41 center. **Journal of Hospital Medicine**, v. 12, n.9, p. 705–709. 2017.
42
- 43 CULEBRAS, A. Sleep apnea and stroke. **Current Neurology and Neuroscience Reports**,
44 v.15, n. 1, p.503-510. 2015
45
- 46 DANTON, G.H.; DIETRICH, W.D. Inflammatory mechanisms after ischemia and stroke.
47 **Journal of Neuropathology and Experimental Neurology**, v.62, n.2, p.127-136. 2003.
48
- 49 DARSALIA, V. et al. The DPP-4 inhibitor linagliptin counteracts stroke in the normal and
50 diabetic mouse brain: a comparison with glimepiride. **Diabetes**, v.62, p.1289-1296. 2013.

- 1 DAS, S. et al. Short-term mortality predictors in acute stroke. **Annals of Neurosciences**, v.19,
2 n.2, p.61-67. 2012.
3
- 4 DAVIS, A.P. et al. Early diagnosis and treatment of obstructive sleep apnea after stroke: Are
5 we neglecting a modifiable stroke risk factor? **Neurology Clinical Practice**, v.3, n.3, p.192-
6 201. 2013. doi:10.1212/CPJ.0b013e318296f274
7
- 8 DEFAZIO, R.A. et al. Albumin therapy enhances collateral perfusion after laser-induced
9 middle cerebral artery branch occlusion: a laser speckle contrast flow study. **Journal of**
10 **Cerebral Blood Flow and Metabolism**, v.32, p.2012-2022. 2012.
11
- 12 DE SOUSA PARREIRA, J. et al. Tumor necrosis factor beta *NcoI* polymorphism (rs909253)
13 is associated with inflammatory and metabolic markers in acute ischemic stroke. **Metabolic**
14 **Brain Diseases**, v.30, p.159-167. 2015.
15
- 16 DEN HERTOOG, H.M. et al. C-reactive protein in the very early phase of acute ischemic
17 stroke: association with poor outcome and death. **Journal of Neurology**, v.256, n.12, p.2003-
18 2008. 2009.
19
- 20 DI NAPOLI, M. et al. C-reactive protein in ischemic stroke: an independent prognostic factor.
21 **Stroke**, v.32, n.4, p.917-924. 2001.
22
- 23 DIAZ, A. et al. Carotid Intima Media Thickness Reference Intervals for a Healthy
24 Argentinean Population Aged 11–81 Years. **International Journal of Hypertension**, v.
25 2018, p. 8086714, doi: 10.1155/2018/8086714. 2018
26
- 27 EBRAHIM, S. et al. Carotid plaque, intima media thickness, cardiovascular risk factors, and
28 prevalent cardiovascular disease in men and women: the British Regional Heart Study.
29 **Stroke**, v.30, p.841-850. 1999.
30
- 31 ENLIMOMAB ACUTE STROKE TRIAL INVESTIGATORS. Use of anti-ICAM-1 therapy
32 in ischemic stroke: Results of the Enlimomab Acute Stroke Trial. **Neurology**, v.57, p1428-
33 1434. 2001.
34
- 35 ERIKSSON, S.E.; OLSSON, J.E. Survival and recurrent strokes in patients with different
36 subtypes of stroke: a fourteen-year follow-up study. **Cerebrovascular Diseases**, v.12, p.171-
37 180. 2001.
38
- 39 ERRIDGE, C. The roles of toll-like receptors in atherosclerosis. **Journal of Innate**
40 **Immunity**. v.1, n.4, p.340-349. 2009.
41
- 42 ESTEVA AGS, et al. Influência dos Sintomas Pré-Procedimento na Evolução Hospitalar e
43 Tardia das Angioplastias Carotídeas com Implante de Stent e Sistemas de Proteção Cerebral.
44 **Revista Brasileira de Cardiologia Invasiva**, v.16, n.2, p.211-217. 2008.
45
- 46 FARIES, P.L. Current management of extracranial carotid artery disease. **Vascular**
47 **Endovascular Surgery**, v.40, n.3, p.165-175. 2006.
48
- 49 FASSBENDER, K.M. et al. Circulating selectin- and immunoglobulin-type adhesion
50 molecules in acute ischemic stroke. **Stroke**, v.26, p.1361-1364. 1995.

- 1 FEIGIN, V. L. et al. Global Burden of Stroke. **Circulation Research**, v.120, n.3, p.439-448.
2 2017. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.116.308413.
3
- 4 FERNANDES, M. et al. Evaluation of carotid arteries in stroke patients using color Doppler
5 sonography: A prospective study conducted in a tertiary care hospital in South
6 India. **International Journal of Applied and Basic Medicine Research**, v.6, n.1, p.38-44.
7 2016. doi:10.4103/2229-516X.174007
8
- 9 FESTIC, N. et al. Sleep apnea in patients hospitalized with acute ischemic stroke:
10 underrecognition and associated clinical outcomes. **Journal of Clinical Sleep Medicine**,
11 v.14, n.1, p.75-80. 2018.
12
- 13 FISZER, U. et al. Increased expression of adhesion molecule CD18 (LFA-1beta) on the
14 leukocytes of peripheral blood in patients with acute ischemic stroke. **Acta Neurologica**
15 **Scandinavica**, v.97, p.221-224. 1998.
16
- 17 FOLSOM, A. R. et al. Prospective study of hemostatic factors and incidence of coronary heart
18 disease: The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. **Circulation**, v.96, p.1102-
19 1108. 1997
20
- 21 FOLSOM A, R. et al. Prospective study of markers of hemostatic function with risk of
22 ischemic stroke. The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study Investigators.
23 **Circulation**, v.100, p.736-742. 1999.
24
- 25 FRIJNS, C. J. et al. Soluble adhesion molecules reflect endothelial cell activation in ischemic
26 stroke and in carotid atherosclerosis. **Stroke**, v.28, p2214-2218. 1997.
27
- 28 FRIJNS, C.J.; KAPPELLE, L.J. Inflammatory cell adhesion molecules in ischemic
29 cerebrovascular disease. **Stroke**, v.33, p.2115-2122. 2002.
30
- 31 FRØYSHOV, H. M. et al. Elevated inflammatory markers predict mortality in long-
32 term ischemic stroke-survivors: a population-based prospective study. **Ageing and Clinical**
33 **Experimental Research**, v.29, n.3, p.379-385. 2017. doi: 10.1007/s40520-016-0575-9.
34
- 35 FU, Y. et al. Immune interventions in stroke. **Nature Review Neurology**, v.11, p.524-535.
36 2015.
37
- 38 GARRITANO, C. R. et al Análise da tendência da mortalidade por acidente vascular cerebral
39 no Brasil no século XXI. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v.98, p.519-527. 2012.
40
- 41 GO, A. S. et al. Heart disease and stroke statistics -2014 update: A report from the American
42 Heart Association. **Circulation**, v.129, p.28-292. 2014.
43
- 44 GONZALEZ, H. A. et al. Risk factors, etiology and prognosis in patients older than 80 years
45 old with ischemic stroke. **Revista Española de Geriatria y Gerontología**, v.43, n.6, p.366-
46 369. 2008.
47
- 48 GRUNDY, S. M. et al. Definition of metabolic syndrome: report of the National Heart, Lung,
49 and Blood Institute/ American heart Association conference on scientific issues related to
50 definition. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v.24, p.13-18. 2004.

- 1 GUIMARAES, J.; AZEVEDO, E. Causas genéticas de acidente vascular cerebral
2 isquémico. **Arquivos de Medicina**, v. 24, n. 1, p. 23-28, 2010.
3
- 4 HAGBERG, H. et al. The role of inflammation in perinatal brain injury. **Nature Review**
5 **Neurology**, v.11, p.192-208. 2015.
6
- 7 HAKKENNES, S. J. et al. Selection for inpatient rehabilitation after acute stroke: a
8 systematic review of the literature. **Archives of Physical Medicine and Rehabilitation**, v.92,
9 n.12, p.2057-2070. 2011.
10
- 11 HALLENBECK, J. M. Significance of the inflammatory response in brain ischemia. **Acta**
12 **Neurochirurgica Supplement**, v.66, p.27-31.1996.
13
- 14 HANCHAIPHIBOOLKUL, S. et al. Risk of metabolic syndrome for stroke is not greater than
15 the sum of its components: Thai epidemiologic stroke (TES) study. **Journal of Stroke and**
16 **Cerebrovascular Diseases**, v.22, p.264-270. 2013.
17
- 18 HANDA, N. et al. Ultrasonic evaluation of early carotid atherosclerosis. **Stroke**, v.21,
19 p.1567-1572. 1990.
20
- 21 HANKEY, G.J. et al. Five-year survival after first-ever stroke and related prognostic factors
22 in the Perth Community Stroke Study. **Stroke**, v.31, p.2080-2086. 2000.
23
- 24 HAAPANIEMI, E. et al. Natural anticoagulants (antithrombin III, protein C, and protein S) in
25 patients with mild to moderate ischemic stroke. **Acta Neurologica Scandinavica**, v. 105, n.2,
26 p. 107–114. 2002.
27
- 28 HAQ, S. et al Colour Doppler Evaluation of Extracranial Carotid Artery in Patients
29 Presenting with Acute Ischemic Stroke and Correlation with Various Risk Factors. **Journal of**
30 **Clinical Diagnosis and Research**, v.11, n.3, p.1-5. 2017.
31
- 32 HATZITOLIOS, A. I. et al. Diabetes mellitus and cerebrovascular disease: which are the
33 actual data? **Journal of Diabetes Complications**, v.23, p.283-296. 2009.
34
- 35 HARRISON, J. K. et al. Assessment scales in stroke: clinimetric and clinical considerations.
36 **Clinical Intervention and Aging**, v.8, p.201-211. 2013.
37
- 38 HASHEM SS, et al. Predictors of stroke outcome: the role of hemorheology, natural
39 anticoagulants, and serum albumin. The **Egyptian Journal of Neurology, Psychiatry and**
40 **Neurosurgery**, v. 54, n. 1, p.18. 2002. doi: 10.1186/s41983-018-0019-x.
41
- 42 HÉNON, H. et al. Early predictors of death and disability after acute cerebral ischemic event.
43 **Stroke**, v.26, n.3, p.392-398.1995.
44
- 45 HERX, L.M.; YONG, V.W. Interleukin-1 β is required for the early evolution of reactive
46 astrogliosis following CNS lesion. **Journal of Neuropathology Experimental Neurology**.
47 v.60, p.961-971. 2001.
48
- 49 HOFMAN, A. et al. The Rotterdam Study: objectives and design update. **European Journal**
50 **of Epidemiology**, v.22, p.819-829. 2007.

- 1 HUANG, J. et al. Postischemic cerebrovascular E-selectin expression mediates tissue injury
2 in murine stroke. **Stroke**, v.31, p.3047-3053. 2000.
3
- 4 HUYBRECHTS, K. F.; CARO, J. J. The Barthel Index and modified Rankin Scale as
5 prognostic tools for long-term outcomes after stroke: a qualitative review of the literature.
6 **Current Medical Research and Opinion**, v23, p.1627-1636. 2017.
7
- 8 IKEDA, N. et al. Carotid artery intima-media thickness and plaque score can predict the
9 SYNTAX score. **European Heart Journal**, v.33, n.1, p.113-119. 2011.
10 doi:10.1093/eurheartj/ehr399
11
- 12 JAMES, P. A. et al. 2014 evidence-based guideline for the management of high blood
13 pressure in adults: report from the panel members appointed to the Eighth Joint National
14 Committee (JNC 8). **JAMA**, v.311, n.5, p.507-520. 2014.
15
- 16 JIA, Q. et al. Impaired Glucose Regulation Predicted 1-Year Mortality of Chinese Patients
17 With Ischemic Stroke: Data From Abnormal Glucose Regulation in Patients With Acute
18 Stroke Across China. **Stroke**, v.45, n.5, p.1498-1500. 2014.
19 doi:10.1161/STROKEAHA.113.002977
20
- 21 JICKLING, G. C.; SHARP, F. R. Blood biomarkers of ischemic stroke.
22 **Neurotherapeutics**, v.8, p.349-360. 2001.
23
- 24 JIN, A. Y. et al. Reduced blood brain barrier breakdown in P-selectin deficient mice following
25 transient ischemic stroke: A future therapeutic target for treatment of stroke. **BMC**
26 **Neurosciences**, v.11, p.12. 2010.
27
- 28 JIN, R. et al. Inflammatory mechanisms in ischemic stroke: Role of inflammatory cells.
29 **Journal Leukocyte Biology**, v.87, p.779-798. 2010.
30
- 31 JOHNSON, E. L. et al. Standards of medical care in diabetes—2019. **Clinical Diabetes**, v.37,
32 n.1, p.11-34. 2019.
33
- 34 JOHNSON, K. C. et al. Combined Clinical and Imaging Information as an Early Stroke
35 Outcome Measure. **Stroke**, v.33, n.2, p. 466-472. 2002.
36
- 37 JOHNSTON, S.C. et al. Global variation in stroke burden and mortality: estimates from
38 monitoring, surveillance, and modelling. **Lancet Neurology**, v.8, n.4, p.345-354. 2009.
39
- 40 JUSTICIA, C. et al. Anti-VCAM-1 antibodies did not protect against ischemic damage either
41 in rats or in mice. **Journal Cerebral Blood Flow Metabolism**. v.26, n.3, p.421-432. 2006.
42
- 43 KABLAK-ZIEMBICKA, A. et al. Carotid intima-media thickness, hs-CRP and TNF- α are
44 independently associated with cardiovascular event risk in patients with atherosclerotic
45 occlusive disease. **Atherosclerosis**, v. 214, n.1, p.185-190. 2011.
46
- 47 KANTERS, S. D. et al. Reproducibility of in vivo carotid intima-media thickness
48 measurements: a review. **Stroke**, v.28, n.3, p.665-671. 1997.
49

- 1 KASNER, S. E. et al. Clinical interpretation and use of stroke scales. **Lancet Neurology**, v.5,
2 p.603-612. 2006.
- 3
- 4 KATAN, M.; ELKIND, M.S.V. Inflammatory and neuroendocrine biomarkers of prognosis
5 after ischemic stroke. **Expert Review of Neurotherapy**, v.11, p.225-239. 2011.
- 6
- 7 KAWAI, T. et al. Carotid plaque score and intima media thickness as predictors
8 of stroke and mortality in hypertensive patients. **Hypertension Research**, v.36, n.10, p. 902-
9 909. 2013. doi: 10.1038/hr.2013.61.
- 10
- 11 KAWAMURA, T. et al. The incidence and characteristics of silent cerebral infarction in
12 elderly diabetic patients: association with serum-soluble adhesion molecules. **Diabetologia**,
13 v.41, n.8, p.911-917. 1998.
- 14
- 15 KIM, K. T. et al. The prevalence and clinical significance of sleep disorders in acute
16 ischemic stroke patients-a questionnaire study. **Sleep Breath**, v.21, n.3, p.759-765. 2017. doi:
17 10.1007/s11325-016-1454-5.
- 18
- 19 KIM, J. et al. Different prognostic value of white blood cell subtypes in patients with acute
20 cerebral infarction. **Atherosclerosis**, v.222, p.464-467. 2002.
- 21
- 22 KIM, J. S. et al. Adhesive glycoproteins CD11a and CD18 are upregulated in the leukocytes
23 from patients with ischemic stroke and transient ischemic attacks. **Journal of Neurological
24 Sciences**, v.128, p.45-50. 1995.
- 25
- 26 KOLOMINSKY-RABAS, P. L. et al. Epidemiology of ischemic stroke subtypes according
27 to TOAST criteria: incidence, recurrence, and long-term survival in ischemic stroke subtypes:
28 a population-based study. **Stroke**, v.32, n.12, p.2735-2750. 2001.
- 29
- 30 KOSTER, T. et al. Role of clotting factor VIII in effect of von Willebrand factor on
31 occurrence of deep-vein thrombosis. **Lancet**, v.345, p.152-155. 1995.
- 32
- 33 KOTON, S. et al. Mortality and Predictors of Death 1 Month and 3 Years after First-Ever
34 Ischemic Stroke: Data from the First National Acute Stroke Israeli Survey (NASIS 2004).
35 **Neuroepidemiology**, v.34, n.2, p.90-96. 2010.
- 36
- 37 KUMEDA, Y. et al. Increased thickness of the arterial intima-media detected by
38 ultrasonography in patients with rheumatoid arthritis. **Arthritis and Rheumatism**, v.46, n.6,
39 p.1489-1497. 2002.
- 40
- 41 KUSTER, G. W. et al. Performance of four ischemic stroke prognostic scores in a Brazilian
42 population. **Arquivos de Neuropsiquiatria**, v.74, n.2, p.133-137. 2016. doi: 10.1590/0004-
43 282X20160002.
- 44
- 45 KYRLE, P. A. et al. High plasma levels of factor VIII and the risk of recurrent venous
46 thromboembolism. **New England Journal of Medicine**, v.343, p.457-462. 2002.
- 47
- 48 LAMBERTSEN, K. L. et al. Inflammatory cytokines in experimental and human stroke.
49 **Journal Cerebral Blood Flow and Metabolism**. v.32, p.1677-1698. 2012.
- 50

- 1 LAMBERTSEN, K. L. et al. Microglia protect neurons against ischemia by synthesis of tumor
2 necrosis factor. **Journal of Neurosciences**, v.29, p.1319-1330. 2009.
- 3
- 4 LEINONEN, M.; SAIKKU, P. Evidence for infectious agents in cardiovascular disease and
5 atherosclerosis. **Lancet Infectious Diseases**, v.2, n.1, p.11-17. 2002.
- 6
- 7 LEHMANN, M.F. **Estudo da resposta inflamatória em pacientes com acidente vascular**
8 **cerebral isquêmico agudo (AVCI): sua relação com os subtipos de AVCI, déficit**
9 **neurológico e evolução clínica.** 2015. 101 f. Tese de Doutorado. Universidade Estadual de
10 Londrina. Londrina, 2015.
- 11
- 12 LEHMANN, M.F. et al. Inflammatory and metabolic markers and short-time outcome in
13 patients with acute ischemic stroke in relation to TOAST subtypes. **Metabolic Brain Disease**,
14 v.30, n.6, p.1417-1428. 2015. doi: 10.1007/s11011-015-9731-8.
- 15
- 16 LEVY, J. H. et al. Antithrombin: anti-inflammatory properties and clinical applications.
17 **Thrombosis and Haemostasis**, v.115, n.4, p.712-728. 2016
- 18
- 19 LI, S. et al. Homeostasis model assessment of insulin resistance in relation to the poor
20 functional outcomes in nondiabetic patients with ischemic stroke. **Biosciences Reports**, v. 38,
21 n. 3, pii: BSR20180330. 2018. doi: 10.1042/BSR20180330.
- 22
- 23 LI, X. et al. The Prognostic Value of Serum Cytokines in Patients with Acute
24 Ischemic Stroke. **Aging Diseases**, v.10, n.3, p.544-556. 2019. doi: 10.14336/AD.2018.0820.
- 25
- 26 LI, Y.M.; LIU, X.Y. Serum levels of procalcitonin and high sensitivity C-reactive protein are
27 associated with long-term mortality in acute ischemic stroke. **Journal of Neurological**
28 **Sciences**, v.352, p.68-73. 2015.
- 29
- 30 LI, J. et al. Effects of metformin in experimental stroke. **Stroke**, v.41, p.2645-2652. 2010.
- 31
- 32 LIU L, WANG D, WONG KS, WANG Y. Stroke and stroke care in China: huge burden,
33 significant workload, and a national priority. **Stroke**, v.42, n.12, p.3651-3654. 2011.
- 34
- 35 LIU, L. B. et al. The role of hs-CRP, D-dimer and fibrinogen in differentiating etiological
36 subtypes of ischemic stroke. **PLoS ONE**, v.10, p.0118301. 2015.
- 37
- 38 LORENZ, M.W et al. Prediction of clinical cardiovascular events with carotid intima-media
39 thickness: A systematic review and meta-analysis. **Circulation**, v.115, n.4, p.459-467. 2007.
- 40
- 41 LORENZ, M.W. et al. Carotid intima-media thickness progression to predict cardiovascular
42 events in the general population (the PROG-IMT collaborative project): A meta-analysis of
43 individual participant data. **The Lancet**, v.379, n.9831, p.2053-2062. 2012.
- 44
- 45 LORENZOVÁ, A. Carotid ultrasound in primary and secondary prevention of stroke. **Cor et**
46 **Vasa**, v.5, n.8, p.273-278. 2016.
- 47
- 48 LUHESHI, N. M. et al. Interleukin-1 α expression precedes IL-1 β after ischemic brain injury
49 and is localised to areas of focal neuronal loss and penumbral tissues. **Journal of**
50 **Neuroinflammation**, v.8, p.186. 2011. doi: 10.1186/1742-2094-8-186.

- 1 LYDEN, P. et al. Underlying Structure of the National Institutes of Health Stroke Scale
2 Results of a Factor Analysis. **Stroke**, v.30, p.2347-2354. 1999.
3
- 4 MAGKOU, D.; TZIOMALOS, K. Antidiabetic treatment, stroke severity and outcome.
5 **World Journal of Diabetes**, v.5, p.84-88. 2014.
6
- 7 MANCIA, G. et al. 2013 ESH/ESC guidelines for the management of arterial hypertension:
8 The Task Force for the management of arterial hypertension of the European Society of
9 Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC). **European Heart**
10 **Journal**, v.34, n.28, p.2159-2219. 2013.
11
- 12 MARNANE, et al. Stroke Subtype Classification to Mechanism-Specific and Undetermined
13 Categories by TOAST, A-S-C-O, and Causative Classification System. **Stroke**, v. 41, n. 8, p.
14 1579-1586, 2010. doi: 10.1161/STROKEAHA.109.575373.
15
- 16 MARTORELL, L. et al. Thrombin and protease-activated receptors (PARs) in
17 atherothrombosis. **Thrombosis and Haemostasis**, v. 99, n. 2, p. 305–315. 2008. doi:
18 10.1160/TH07-08-0481.
19
- 20 MASSBERG, S. et al. A critical role of platelet adhesion in the initiation of atherosclerotic
21 lesion formation. **Journal of Experimental Medicine**, v.196, p.887-896. 2002.
22
- 23 MENIH, M. et al. Clinical role of von Willebrand factor in acute ischemic stroke. **Wiener**
24 **Klinische Wochenschrift**, v.129, n.13-14, p. 491-496. 2017. doi: 10.1007/s00508-017-1200-
25 4
26
- 27 MORTIMER, R. et al. Carotid artery stenosis screening: where are we now? **The British**
28 **Journal of Radiology**, v.91, n. 1090, p. 20170380. doi: 10.1259/bjr.20170380.
29
- 30 MURRAY, K.N. et al. Interleukin-1 and acute brain injury. **Frontiers in Cellular**
31 **Neurosciences**, v.9, n.18, p.1. 2015. doi: 10.3389/fncel.2015.00018
32
- 33 NAMBI, V. et al. Carotid intima-media thickness and presence or absence of plaque improves
34 prediction of coronary heart disease risk: the ARIC (Atherosclerosis Risk in Communities)
35 study. **Journal of American College of Cardiology**, v.55, p.1600-1607. 2010.
36
- 37 NAQVI, T.Z.; LEE, M.S. Carotid Intima-Media Thickness and Plaque in Cardiovascular Risk
38 Assessment. **JACC Cardiovascular Imaging**, v.7, n.10, p.1025-1038. 2014.
39
- 40 NEZU, T. et al. Carotid Intima-Media Thickness for Atherosclerosis. **Journal of**
41 **Atherosclerosis and Thrombosis**, v.23, n.1, p.18-31. 2016.
42
- 43 North American Symptomatic Carotid Endarterectomy Trial Collaborators. Beneficial effect
44 of carotid endarterectomy in symptomatic patients with high-grade carotid stenosis. **New**
45 **England Journal of Medicine**, v.325, n.7, p.445-453. 1991.
46
- 47 NUMANO, F. et al. Inflammation and Atherosclerosis: Atherosclerotic Lesions in Takayasu
48 Arteritis. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 902, p.65-67. 2000.
49

- 1 OATES, C. P. et al. Joint recommendations for reporting carotid ultrasound investigations in
2 the United Kingdom. **European Journal of Vascular and Endovascular Surgery**, v.37, n.3,
3 p.251-261. 2009.
- 4
- 5 QIZILBASH, N. et al. Von Willebrand factor and risk of ischemic stroke. **Neurology**, v.49,
6 p.1552-1556. 1997.
- 7
- 8 OZKAN, A. K. et al. Can high-sensitivity C-reactive protein and ferritin predict
9 functional outcome in acute ischemic stroke? A prospective study.
10 **Top Stroke Rehabilastion**, v.20, n.6, p.528-536. 2013. doi: 10.1310/tsr2006-528.
- 11
- 12 O'LEARY, D. H. et al. Carotid-artery intima and media thickness as a risk factor for
13 myocardial infarction and stroke in older adults. Cardiovascular Health Study Collaborative
14 Research Group. **New England Journal of Medicine**, v.340, n.1, p.4-22. 1999.
- 15
- 16 OVBIAGELE, B. et al. Forecasting the Future of Stroke in the United States: A Policy
17 Statement from the American Heart Association and American Stroke Association. **Stroke**, v.
18 44, p. 2361-2375. 2013.
- 19
- 20 PARK, S. Y. et al. Predictive value of circulating interleukin-6 and heart-type fatty acid
21 binding protein for three months clinical outcome in acute cerebral infarction: Multiple blood
22 markers profiling study. **Critical Care**, v. 17, p.R45. 2013.
- 23
- 24 PARK, K. Y. et al. Serum Vitamin D Status as a Predictor of Prognosis in Patients with Acute
25 Ischemic Stroke. **Cerebrovascular Diseases**, v.40, n.1–2, p.73-80. 2015.
- 26
- 27 PERK, J. et al., European Guidelines on cardiovascular prevention in clinical practice (version
28 2012). The Fifth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and Other Societies
29 on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice (constituted by representatives of
30 nine societies and by invited experts). **European Heart Journal**, v.33, n. 13, p.1635-1701.
31 2012.
- 32
- 33 PETISCO, A.C.G. et al. Doppler Ecografia das Artérias Carótidas: Critérios de Velocidade
34 Validados pela Arteriografia. **Arquivo Brasileiro de Cardiologia: Imagem Cardiovascular**,
35 v.28, n.1, p.17-24. 2015.
- 36
- 37 PETTY, G. W. et al. Ischemic stroke subtypes: a population-based study of functional
38 outcome, survival, and recurrence. **Stroke**, v.31, p.1062-1068. 2000.
- 39
- 40 PIGNOLI, P. et al. Intimal plus medial thickness of the arterial wall: a direct measurement
41 with ultrasound imaging. **Circulation**, v.74, p.1399-1406. 1986.
- 42
- 43 PETROVIC-DJERGOVIC, D. et al. Inflammatory Disequilibrium in Stroke. **Circulation**
44 **Research**, v.119, n.1, p.142-158. 2016. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.116.308022.
- 45
- 46 POLAK, J.F.; O'LEARY, D.H. Carotid Intima-Media Thickness as Surrogate for and
47 Predictor of CVD. **Global Hear**, v.11, n. 3. p.295-312. 2016.
- 48

- 1 POLAK, J. F. et al. Sonographic evaluation of carotid artery athero-sclerosis in the elderly:
2 relationship of disease severity to stroke and transient ischemic attack. **Radiology**, v.188,
3 p.363-370. 1993.
4
- 5 POWERS, W.J. et al. 2018 Guidelines for the early management of patients with acute
6 ischemic stroke: a guideline for healthcare professionals from the American Heart
7 Association/American Stroke Association. **Stroke**, v. 49, n. 3, p. e46–e110. 2018.
8
- 9 PRICE, J. F. et al. Ankle brachial index and intima media thickness predict cardiovascular
10 events similarly and increased prediction when combined. **Journal of Clinical
11 Epidemiology**, v. 60, n. 10, p.1067-1075. 2007.
12
- 13 RALLIDIS, L. S. et al. Elevated soluble intercellular adhesion molecule-1 levels are
14 associated with poor short-term prognosis in middle-aged patients with acute ischemic stroke.
15 **International Journal of Cardiology**, v.132, n.2, p.216-220. 2009.
16
- 17 RANGARAJU, S. et. al. Neurologic Examination at 24 to 48 Hours Predicts Functional
18 Outcomes in Basilar Artery Occlusion Stroke. **Stroke**, v.47, n.10, p. 2534-2540. 2016.
19
- 20 RAYASAM, A. et al. Contrasting roles of immune cells in tissue injury and repair in stroke:
21 The dark and bright side of immunity in the brain. **Neurochemistry International**, v.107,
22 p.104-116. 2017. doi: 10.1016/j.neuint.2017.02.009.
23
- 24 REICHE, E.M.V.et al. Immune-inflammatory, oxidative stress and biochemical biomarkers
25 predict short-term acute ischemic stroke death. **Metabolic Brain Disease**, v.34, n.3, p.789-
26 804. 2019. doi: 10.1007/s11011-019-00403-6.
27
- 28 RICHARD, S. et al. E-selectin and vascular cell adhesion molecule-1 as biomarkers of 3-
29 month outcome in cerebrovascular diseases. **Journal of Inflammation**, v.12, p.61. 2015. doi:
30 10.1186/s12950-015-0106-z
31
- 32 ROSAMOND, W. et al. Heart disease and stroke statistics: 2008 update: a report from the
33 American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee.
34 **Circulation**, v.117, n. 4, p.25-146. 2008.
35
- 36 ROSSO, C. et al. Hyperglycemia and the fate of apparent diffusion coefficient-defined
37 ischemic penumbra. **AJNR. American Journal of Neuroradiology**, v.32, n.5, p.852-856.
38 2011. doi:10.3174/ajnr.A2407
39
- 40 ROSVALL, M. et al. Incident coronary events and case fatality in relation to common carotid
41 intima-media thickness. **Journal of Internal Medicine**, v.257, n.5, p.430-437. 2005.
42
- 43 RUGGERI, Z.M. et al. The role of von Willebrand factor in thrombus formation. **Thrombosis
44 Research**, v.120, Suppl.1, p.S5-S9. 2007.
45
- 46 SAINI, M. et al. Body mass index and acute ischemic stroke outcomes. **International Journal
47 of Stroke**, v.9, n.5, p.618-623. 2014. doi:10.1111/ijss.12168
48

- 1 SAKARIASSEN, K.S et al. Human blood platelet adhesion to artery subendothelium is
2 mediated by factor VIII-Von Willebrand factor bound to the subendothelium. **Nature**, v. 279,
3 p.636-638. 1979.
4
- 5 SALONEN, J. T.; SALONEN, R.S. Ultrasound B-mode imaging in observational studies of
6 atherosclerotic progression. **Circulation**, v.87, n.2, p.56-65. 1993.
7
- 8 SAMAI, A. et al. von Willebrand factor drives the association between elevated factor VIII
9 and poor outcomes in patients with ischemic stroke. **Stroke**, v.45, n .9, p. 2789-2791. 2014.
10
- 11 SANTOS, E. H. S. et al. Carotid intima-media thickness in the Brazilian longitudinal study of
12 adult health (ELSA-Brasil): A narrative review. **São Paulo Medical Journal**, v.136, n.1,
13 p.64-72. 2018.
14
- 15 SANTOS, I. S. et al. Low impact of traditional risk factors on carotid intima-media thickness:
16 the ELSA-Brasil cohort. *Arteriosclerosis and Thrombosis Vascular Biology*, v.35, n.9,
17 p.2054-2059. 2015.
18
- 19 SAPOSNIK, G. et al. Variables associated with 7-day, 30-day, and 1-year fatality after
20 ischemic stroke. **Stroke**, v.39, n.8, p.2318-2324. 2008.
21
- 22 SARTI, C. et al. International trends in mortality from stroke, 1968 to 1994. **Stroke**, v.31,
23 p.1588-1561. 2000.
24
- 25 SCHMIDT, E.P. et al. Adhesion Molecules: Master Controllers of the Circulatory System.
26 **Comprehensive Physiology**, v. 15, n. 6, p. 945-973. 2016. doi:10.1002/cphy.c150020
27
- 28 SEHESTEDT, T. et al. Risk prediction is improved by adding markers of subclinical organ
29 damage to SCORE. **European Heart Journal**, v.31, p.883-891. 2010.
30
- 31 SENE, D. F. et al. Prognosis of stroke in department of neurology of Dakar. **Dakar Médical**,
32 v. 51, n.1, p.17-21. 2006.
33
- 34 SHANTIKUMAR, S. et al. Elevated C-reactive protein and long-term mortality after
35 ischaemic stroke: relationship with markers of endothelial cell and platelet activation. **Stroke**,
36 v.40, n.3, p.977-979. 2009.
37
- 38 SHAHSAVARZADEH, T. et al. Impact of factor VIII and von Willebrand factor plasma
39 levels on cerebral venous and sinus thrombosis: are they independent risk factors? **European**
40 **Neurology**, v.66, n. 4, p.243-246. 2011.
41
- 42 SHUKLA, V. et al. Cerebral ischemic damage in diabetes: An inflammatory perspective.
43 **Journal of Neuroinflammation**, v.14, n.1, p.22. 2017. doi:10.1186/s12974-016-0774-5.
44
- 45 SHYU, K.G et al. Serum levels of intercellular adhesion molecule-1 and E-selectin in patients
46 with acute ischaemic stroke. **Journal of Neurology**, v.244, p.90-93. 1997.
47
- 48 SIMÃO, A. F. et al. I Brazilian Guidelines for Cardiovascular Prevention. **Arquivos**
49 **Brasileiros de Cardiologia**, v.101, Suppl 2, p.1-63. 2013.
50

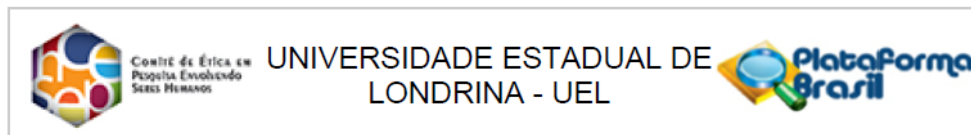
- 1 SIMÃO, A. N. et al. Metabolic syndrome increases oxidative stress but does not influence
2 disability and short-time outcome in acute ischemic stroke patients. **Metabolic Brain**
3 **Disease**, v.30, n.6, p.1409-1416. 2015. doi: 10.1007/s11011-015-9720-y.
4
- 5 STEIN, J. H. et al. Use of carotid ultrasound to identify subclinical vascular disease and
6 evaluate cardiovascular disease risk: a consensus statement from the American Society of
7 Echocardiography Carotid Intima-Media Thickness Task Force. Endorsed by the Society for
8 Medicine. **Journal of American Society of Echocardiography**, v.21, n. 2, p.93-111. 2008.
9
- 10 SUN, W. et al. Association of body mass index with mortality and functional outcome after
11 acute ischemic stroke. **Scientific Reports**, v.17 n.1, p. 2507. 2017. doi:10.1038/s41598-017-
12 02551-0.
13
- 14 THIRD REPORT OF THE NATIONAL CHOLESTEROL EDUCATION PROGRAM
15 (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in
16 Adults (Adult Treatment Panel III) final report. **Circulation**, v.106, p.25, 3143-3421. 2002.
17
- 18 THORNTON, P. et al. Matrix metalloproteinase-9 and urokinase plasminogen activator
19 mediate interleukin-1-induced neurotoxicity. **Molecular and Cellular Neurosciences**, v.370,
20 p.135-142. 2008.
21
- 22 THORNTON P. et al. Platelet interleukin-1alpha drives cerebrovascular inflammation. **Blood**,
23 v.115, p.3632-3639. 2010.
24
- 25 TOMLINSON, D.R.; GARDINER, N.J. Glucose neurotoxicity. **Nature Review of**
26 **Neurosciences**, v.9, n.1, p.36-45. 2008. doi:10.1038/nrn2294.
27
- 28 TOUBOUL, P. J. et al. Mannheim carotid intima-media thickness and plaque consensus
29 (2004-2006-2011). **Cerebrovascular Diseases**, v.34, n.4, p.290-296. 2012.
30
- 31 TOUBOUL, P.J. et al. Mannheim carotid intima-media thickness consensus (2004-
32 2006). An update on behalf of the Advisory Board of the 3rd and 4th Watching the Risk
33 Symposium, 13th and 15th European Stroke Conferences, Mannheim, Germany, 2004, and
34 Brussels, Belgium, 2006. **Cerebrovascular Disease**, v.23, p.75-80. 2007.
35
- 36 TRUELSEN, T. et al. Trends in stroke and coronary heart disease in the WHO MONICA.
37 Project. **Stroke**, v.34, p.1346-1352. 2003.
38
- 39 TSAI, N. W. et al. The value of leukocyte adhesion molecules in patients after ischemic
40 stroke. **Journal of Neurology**, v. 256, n.8, p.1296-1302. 2009. doi: 10.1007/s00415-009-
41 5117-3.
42
- 43 TZIOMALOS, K. et al. Prior treatment with dipeptidyl peptidase 4 inhibitors is associated
44 with better functional outcome and lower in-hospital mortality in patients with type 2 diabetes
45 mellitus admitted with acute ischaemic stroke. **Diabetes and Vascular Disease Research**,
46 v.12, n.6, p.463-466. 2015. doi:10.1177/1479164115597867
47
- 48 TZIOMALOS, K. et al. Type 2 diabetes is associated with a worse functional outcome of
49 ischemic stroke. **World Journal of Diabetes**, v.5, n.6, p.939. 2014. doi:
50 10.4239/wjd.v5.i6.939.

- 1 TZIOMALOS, K. et al. Elevated diastolic but not systolic blood pressure increases mortality
2 risk in hypertensive but not normotensive patients with acute ischemic stroke. **American**
3 **Journal of Hypertension**, v.28, n.6, p.765-771. 2014. doi:10.1093/ajh/hpu234
4
- 5 TZOULAKI, I. et al Relative value of inflammatory, hemostatic, and rheological factors for
6 incident myocardial infarction and stroke: the Edinburgh Artery Study. **Circulation**, v.115,
7 p.2119-2027. 2007. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.106.635029
8
- 9 VENKAT, P. et al. Blood-brain barrier disruption, vascular impairment, and ischemia/
10 reperfusion damage in diabetic stroke. **Journal of the American Heart Association**, v.6, n.6,
11 pii. e005819. 2017. doi:10.1161/JAHA.117.005819
12
- 13 VERNINO, S. et al. Cause specific mortality after first cerebral infarction: a population-based
14 study. **Stroke**, v.34, n. 8, p.1828-1832. 2003.
15
- 16 VLACHOPOULOS, C. et al. The role of vascular biomarkers for primary and secondary
17 prevention. A position paper from the European Society of Cardiology Working Group on
18 peripheral circulation: endorsed by the Association for Research into Arterial Structure and
19 Physiology (ARTERY) Society. **Atherosclerosis**, v.241, n. 2, p.507-532. 2015.
20
- 21 WANG, Y. et al. Low T₃ levels as a predictor marker predict the prognosis of patients with
22 acute ischemic stroke. **International Journal of Neurosciences**, v.127, n.7, p.559-566. 2017.
23 doi: 10.1080/00207454.2016.1211649.
24
- 25 WANG, X. et al. Upregulation of intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1) on brain
26 microvascular endothelial cells in rat ischemic cortex. **Brain Research. Molecular Brain**
27 **Research**, v.26, n.1-2, p.61-68. 1994.
28
- 29 WANG, J. et al. Plasma D-dimer level, the promising prognostic biomarker for the acute
30 cerebral infarction patients. **Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases**, v.25, p.2011-
31 2015. 2016.
32
- 33 WANG, J. Y. Association of soluble intercellular adhesion molecule 1 with neurological
34 deterioration of ischemic stroke: The Chongqing Stroke Study. **Cerebrovascular Diseases**,
35 v.21, n.1-2, p.67-73. 2006.
36
- 37 WEI, Z.N.; KUANG. J.G. Vitamin D deficiency in relation to the poor functional outcomes in
38 nondiabetic patients with ischemic stroke. **Bioscience Reports**, v.38, n.2, pii: BSR20171509.
39 2018. doi: 10.1042/BSR20171509
40
- 41 WILLIAMS, B., et al. 2018 ESC / ESH Guidelines for the management of arterial
42 hypertension. **European Heart Journal**, v.39, n.33, p.3021-3104. 2018.
43
- 44 WHITELEY, W. et al. Inflammatory markers and poor outcome after stroke: A prospective
45 cohort study and systematic review of interleukin-6. **PLoS Medicine**, v.6; n. 9, p.1000145.
46 2009. doi: 10.1371/journal.pmed.1000145.
47
- 48 WHITELEY, W. et al. Blood markers for the prognosis of ischemic stroke: a systematic
49 review. **Stroke**, v.40, n. 5, p.380-389. 2009. doi: 10.1161/STROKEAHA.108.528752
50

- 1 WILCK N, LUDWIG A. Targeting the ubiquitin-proteasome system in atherosclerosis: status
2 quo, challenges, and perspectives. **Antioxidant Redox Signal**, v. 21, n. 17, p. 2344-2363.
3 2014. doi: 10.1089/ars.2013.5805.
- 4
- 5 WISEMAN, S. et al. Blood markers of coagulation, fibrinolysis, endothelial dysfunction and
6 inflammation in lacunar stroke versus non-lacunar stroke and non-stroke: Systematic review
7 and meta-analysis. **Cerebrovascular Disease**, v.37, n. 1, p.64-75. 2014.
- 8
- 9 WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). The top 10 causes of death. [Internet]
10 Geneva; 2018. Source: Global Health Estimates 2016: Deaths by Cause, Age, Sex, by
11 Country and by Region, 2000-2016. Geneva [Cited in 2019 Set 25]. Available from:
12 <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs310>
13
- 14 WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO) Committee and Stroke Statistics
15 Subcommittee. The top 10 causes of death. [Internet] Geneva; 2014. [Cited in 2016 Nov 22].
16 Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs310/em>. **Circulation** 2008;
17 117:e25-146.
- 18
- 19 YAGHI, S. et al. Post t-PA transfer to hub improves outcome of moderate to severe ischemic
20 stroke patients. **Journal of Telemedicine and Telecare**, v.21, n.7, p.396-399. 2015.
- 21
- 22 YAN, T. et al. Experimental animal models and inflammatory cellular changes in cerebral
23 ischemic and hemorrhagic stroke. **Neuroscience Bulletin**, v.31, n.6, p.717-734. 2015.
- 24
- 25 YANG, X.Y. et al. Plasma D-dimer predicts short-term poor outcome after acute ischemic
26 stroke. **PLoS ONE**, v.9, n. 2, p.89756. 2014. doi: 10.1371/journal.pone.0089756.
- 27
- 28 YE, Z. et al. Prognostic value of C-reactive protein and homocysteine in large-artery
29 atherosclerotic stroke: A prospective observational study. **Journal of Stroke and**
30 **Cerebrovascular Diseases**, v.26, n. 3, p.618-626. 2017.
- 31
- 32 YILMAZ, G.; GRANGER, D.N. Cell adhesion molecules and ischemic stroke. **Neurology**
33 **Research**, v.30, n. 8, p.783-793. 2008.
- 34
- 35 YOON, H. J. et al. Carotid plaque rather than intima-media thickness as a predictor of
36 recurrent vascular events in patients with acute ischemic stroke. **Cardiovascular Ultrasound**,
37 v.15, n.1, p.19. 2017. doi: 10.1186/s12947-017-0110-y.
- 38
- 39 YUAN, W.; SHI, Z.H. The relationship between plasma D-dimer levels and outcome of
40 Chinese acute ischemic stroke patients in different stroke subtypes. **Journal of Neural**
41 **Transmission**, v.121, n. 4, p.409-413. 2014.
- 42
- 43 YUE, W. Association between Carotid Intima-Media Thickness and Cognitive Impairment in
44 a Chinese Stroke Population: A Cross-sectional Study. **Scientific Reports**, v.6, p. 6:19556.
45 2016. doi:10.1038/srep19556
- 46
- 47 ZANCHETTI, A. et al. Baseline values but not treatment-induced changes in carotid intima-
48 media thickness predict incident cardiovascular events in treated hypertensive patients:
49 findings in the European Lacidipine Study on Atherosclerosis (ELSA). **Circulation**, v.120, n.
50 12, p.1084-1090. 2009. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.108.773119.

1 ZHANG, Y. et al. Carotid Artery Plaques, Carotid Intima-Media Thickness, and Risk of
2 Cardiovascular Events and All-Cause Death in Older Adults: A 5-Year Prospective,
3 Community-Based Study. **Angiology**, v.69, n.2, p.120-129. 2018. doi:
4 10.1177/0003319717716842.
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24

- 1 ANEXOS
- 2 Anexo 1 Parecer consubstancial do CEP



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Associação entre marcadores inflamatórios, anti-inflamatórios e metabólicos com as placas carotídeas examinadas com doppler em pacientes com acidente vascular encefálico isquêmico agudo

Pesquisador: Edna Maria Vissoci Reiche

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 61361416.9.0000.5231

Instituição Proponente: CCS - Departamento de Patologia, Análises Clínicas e Toxicologias

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.816.305

Apresentação do Projeto:

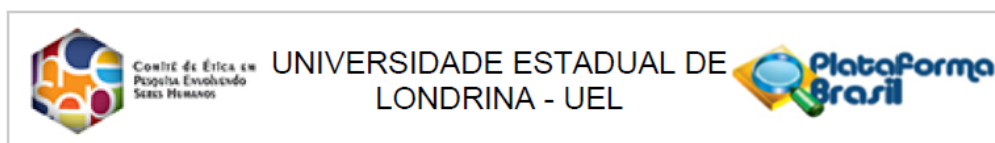
O estudo pretende investigar a associação entre marcadores inflamatórios, anti-inflamatórios e metabólicos com as placas carotídeas examinadas com doppler em pacientes com acidente vascular encefálico isquêmico agudo

Texto do autor:

Uma vez que o desequilíbrio da resposta inflamatória pela alteração na expressão das citocinas inflamatórias e do perfil metabólico estão intimamente associados com a fisiopatologia do AVCI agudo, e que a formação de placas de aterosclerose em carótidas também está envolvida no processo do AVCI agudo, a hipótese deste estudo é que indivíduos com maior resposta inflamatória demonstrada pela elevação de marcadores inflamatórios e metabólicos estaria associada com a presença de placas de aterosclerose de carótida e maior grau de estenose das mesmas. Esta associação indicaria que pacientes que apresentarem alterações nestes marcadores apresentariam maior chance de ocorrência de AVCI agudo, em especial aos subtipos de grandes artérias e lacunar (LAAS e LAC, respectivamente), nos quais os mecanismos inflamatórios relacionados à aterosclerose de grandes artérias e as alterações metabólicas, como diabetes mellitus tipo 2 e hipertensão, relacionadas à oclusão de pequenos vasos. Uma segunda hipótese é

Endereço: LABESC - Sala 14	CEP: 86.057-970
Bairro: Campus Universitário	
UF: PR	Município: LONDRINA
Telefone: (43)3371-5455	E-mail: cep268@uel.br

- 3
- 4



Continuação do Parecer: 1.816.305

que a diminuição dos níveis de marcadores anti-inflamatórios pode ser um dos mecanismos moleculares envolvidos no aumento da resposta inflamatória e no aumento do déficit neurológico a curto prazo dos pacientes com AVCI agudo. Sendo estas duas hipóteses aceitas, processo inflamatório poderá ser um importante alvo terapêutico para o tratamento de pacientes com AVCI agudo.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário: (texto do pesquisador)

Analisar a associação entre alterações na resposta inflamatória, anti-inflamatória e metabólica com a doença carotídea aterosclerótica em um grupo de pacientes com AVCI agudo atendido no Hospital Universitário da Universidade Estadual de Londrina (HU/UEL).

Objetivo Secundário: (texto do pesquisador)

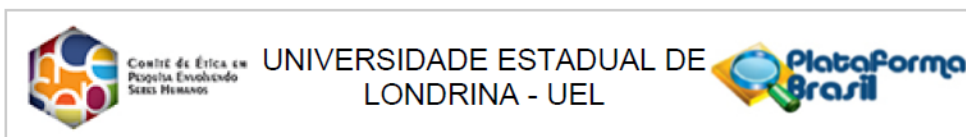
- Determinar os níveis séricos de marcadores inflamatórios, anti-inflamatórios e metabólicos em um grupo de pacientes com AVCI agudo e controles saudáveis; - Determinar a espessura da camada íntima média da carótida, grau de estenose e ecogenicidade da placa de aterosclerose em um grupo de pacientes com AVCI agudo; - Determinar a associação entre as alterações na resposta inflamatória, anti-inflamatória e metabólica com a aterosclerose de carótidas internas avaliadas por USGD, segundo o grau de estenose e ecogenicidade da placa de aterosclerose em pacientes com AVCI agudo; - Determinar a associação entre as alterações na resposta inflamatória, anti-inflamatória e metabólica, o grau de estenose e ecogenicidade da placa de aterosclerose com os subtipos de AVCI e incapacidade funcional na admissão e após 3 e 12 meses do evento isquêmico.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos: (texto do pesquisador)

Quanto aos riscos, o projeto não apresenta riscos aos indivíduos participantes. A participação não acarretará em qualquer risco à sua saúde nem alteração de qualquer um dos tratamentos estabelecidos pelo hospital. A ultrassonografia com doppler de carótida é um exame indolor e não invasivo que não apresenta risco ao paciente. O sangue que será coletado para a pesquisa será parte da mesma coleta de exames de rotina que será realizada independentemente da participação ou não no estudo e desta forma, não acarretará em nenhum risco adicional. A coleta de sangue venoso será realizada por profissionais treinados do HU/UEL e pode ocasionar sinais decorrentes da punção venosa e consiste em dor no local da punção venosa ou pequeno hematoma e, muito raramente, vermelhidão ou infecção local. Mesmo sendo mínimos, caso ocorra algum tipo de desconforto, o participante será prontamente atendido

Endereço: LABESC - Sala 14
 Bairro: Campus Universitário CEP: 86.057-970
 UF: PR Município: LONDRINA
 Telefone: (43)3371-5455 E-mail: cep268@uel.br



Continuação do Parecer: 1.816.305

e amparado pelos farmacêuticos responsáveis pela coleta de sangue e um dos pesquisadores deste estudo.

Benefícios: (texto do pesquisador)

Os benefícios esperados são um melhor conhecimento das alterações inflamatórias e do metabolismo associadas com a placa de aterosclerose na carótida que poderá ser uma alternativa precoce e simples de antever a evolução nos casos de derrame cerebral a fim de auxiliar na decisão terapêutica destes pacientes. Uma importante contribuição deste projeto de pesquisa será a utilização da escala National Institute of Health Stroke Scale (NIHSS) em até 24 horas após admissão do pacientes com diagnóstico de AVCI agudo no Pronto Socorro do HU. A NIHSS é uma escala de avaliação da gravidade do AVCI agudo e tem sido utilizada pela maioria dos serviços de Neurologia do mundo que atende pacientes com AVCI e recomendada pelos revisores de artigos submetidos à publicação em periódicos internacionais. Com o desenvolvimento deste projeto de pesquisa, esta escala poderá ser implantada na rotina de atendimento aos pacientes com AVCI agudo do HU/UDEL, o que contribuirá para uma melhor avaliação clínica da gravidade do AVCI agudo e prognóstico destes pacientes. Outra importante contribuição será a identificação de biomarcadores da resposta inflamatória e de vias do metabolismo que podem representar importantes fatores na formação e gravidade da placa carotídea em pacientes com AVCI agudo. A detecção precoce destes biomarcadores pode representar importante ferramenta na escolha de terapias mais adequadas e eficazes. A correlação da alteração da resposta inflamatória, anti-inflamatória e metabólica com a evolução clínica dos pacientes a curto e a longo prazos com os resultados obtidos com a avaliação das carótidas pela USGD poderá contribuir para a identificação de uma alternativa precoce e simples de antever a evolução nos casos de AVCI agudo a fim de auxiliar na decisão terapêutica destes pacientes.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisa atende as determinações da Resolução 466/2012 e sua complementares.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

TCLE - OK

Folha de Rosto - OK

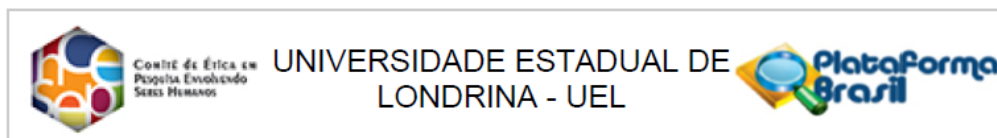
autorização da instituição co-participante - OK

Termo de Sigilo- OK

Declaração de respeito a Resolução 347/05 - OK

Endereço: LABESC - Sala 14	CEP: 86.057-970
Bairro: Campus Universitário	
UF: PR	Município: LONDRINA
Telefone: (43)3371-5455	E-mail: cep268@uel.br

1



Continuação do Parecer: 1.816.305

Recomendações:

não há.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Recomendo a aprovação do projeto por respeitar todos os critérios e normas estabelecidos pela resolução 466/2012 e suas complementares.

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_800412.pdf	19/10/2016 17:04:09		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_versao_final_CEP.doc	19/10/2016 17:03:49	Edna Maria Vissoci Reiche	Aceito
Folha de Rosto	FolhaderostoEMVR.pdf	19/10/2016 16:43:43	Edna Maria Vissoci Reiche	Aceito
Outros	ParecerHUEMVR.pdf	19/10/2016 16:43:09	Edna Maria Vissoci Reiche	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	Termo_confidencialidade.PDF	03/10/2016 10:45:01	Edna Maria Vissoci Reiche	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	Declaracao_sigilio.PDF	03/10/2016 10:44:33	Edna Maria Vissoci Reiche	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	Declaracao_normas.PDF	03/10/2016 10:43:17	Edna Maria Vissoci Reiche	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Termo_de_consentimento_livre_e_esclarecido.doc	27/09/2016 12:50:27	Edna Maria Vissoci Reiche	Aceito

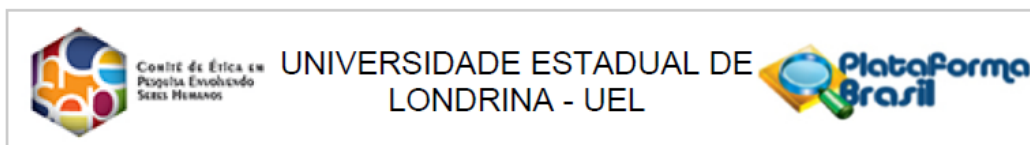
Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Endereço: LABESC - Sala 14
 Bairro: Campus Universitário CEP: 86.057-970
 UF: PR Município: LONDRINA
 Telefone: (43)3371-5455 E-mail: cep268@uel.br

2



Continuação do Parecer: 1.816.305

Não

LONDRINA, 10 de Novembro de 2016

**Assinado por:
Rosana Lopes
(Coordenador)**

Endereço: LABESC - Sala 14

Bairro: Campus Universitário

UF: PR

Município: LONDRINA

Telefone: (43)3371-5455

CEP: 86.057-970

E-mail: cep268@uel.br

1 Anexo 2 National Institute of Health Stroke Scale (NIHS)

2

NIH
STROKE
SCALE

Identificação do Paciente

Nome: _____

Registro: _____

Exame inicial: Data ____/____/____

Instrução	Definição da escala	Score	Hora
1a. Nível de Consciência O investigador deve escolher uma resposta mesmo se uma avaliação completa é prejudicada por obstáculos como um tubo orotraqueal, barreiras de linguagem, trauma ou curativo orotraqueal. Um 3 é dado apenas se o paciente não faz nenhum movimento (outro além de postura reflexa) em resposta à estimulação dolorosa.	0 = Alerta; responde com entusiasmo. 1 = Não alerta, mas ao ser acordado por mínima estimulação obedece, responde ou reage. 2 = Não alerta, requer repetida estimulação ou estimulação dolorosa para realizar movimentos (não estereotipados). 3 = Responde somente com reflexo motor ou reações autonômicas, ou totalmente irresponsivo, flácido e arreflexo.	_____ _____ _____ _____	_____ _____ _____ _____
1b. Perguntas de Nível de Consciência O paciente é questionado sobre o mês e sua idade. A resposta deve ser correta - não há nota parcial por chegar perto. Pacientes com afasia ou esturpor que não compreendem as perguntas irão receber 2 . Pacientes incapacitados de falar devido a intubação orotraqueal, trauma orotraqueal, disartria grave de qualquer causa, barreiras de linguagem ou qualquer outro problema não secundário a afasia receberão um 1 . É importante que somente a resposta inicial seja considerada e que o examinador não "ajude" o paciente com dicas verbais ou não verbais.	0 = Responde ambas as questões corretamente. 1 = Responde uma questão corretamente. 2 = Não responde nenhuma questão corretamente.	_____ _____ _____ _____	_____ _____ _____ _____
1c. Comandos de Nível de Consciência O paciente é solicitado a abrir e fechar os olhos e então abrir e fechar a mão não parética. Substitua por outro comando de um único passo se as mãos não podem ser utilizadas. É dado crédito se uma tentativa inequívoca é feita, mas não completada devido à fraqueza. Se o paciente não responde ao comando, a tarefa deve ser demonstrada a ele (pantomima) e o resultado registrado (i.e., segue um, nenhum ou ambos os comandos). Aos pacientes com trauma, amputação ou outro impedimento físico devem ser dados comandos únicos compatíveis. Somente a primeira tentativa é registrada.	0 = Realiza ambas as tarefas corretamente. 1 = Realiza uma tarefa corretamente. 2 = Não realiza nenhuma tarefa corretamente.	_____ _____ _____ _____	_____ _____ _____ _____
2. Melhor olhar conjugado Somente os movimentos oculares horizontais são testados. Movimentos oculares voluntários ou reflexos (óculo-cefálico) recebem nota, mas a prova calórica não é usada. Se o paciente tem um desvio conjugado do olhar, que pode ser sobreposto por atividade voluntária ou reflexa, o score será 1 . Se o paciente tem uma paresia de nervo periférica isolada (NC III, IV ou VI), marque 1 . O olhar é testado em todos os pacientes afásicos. Os pacientes com trauma ocular, curativos, cegueira preexistente ou outro distúrbio de acuidade ou campo visual devem ser testados com movimentos reflexos e a escolha feita pelo investigador. Estabelecer contato visual e, então, mover-se perto do paciente de um lado para outro, pode esclarecer a presença de paralisia do olhar.	0 = Normal. 1 = Paralisia parcial do olhar. Este score é dado quando o olhar é anormal em um ou ambos os olhos, mas não há desvio forçado ou paresia total do olhar. 2 = Desvio forçado ou paralisia total do olhar que não podem ser vencidos pela manobra óculo-cefálica.	_____ _____ _____ _____	_____ _____ _____ _____

3

4

Instrução	Definição da escala	Escore	Hora
<p>3. Visual OS campos visuais (quadrantes superiores e inferiores) são testados por confrontação, utilizando contagem de dedos ou ameaça visual, conforme apropriado. O paciente deve ser encorajado, mas se olha para o lado do movimento dos dedos, deve ser considerado como normal. Se houver cegueira unilateral ou enucleação, os campos visuais no olho restante são avaliados. Marque 1 somente se uma clara assimetria, incluindo quadrantanopsia, for encontrada. Se o paciente é cego por qualquer causa, marque 3. Estimulação dupla simultânea é realizada neste momento. Se houver uma extinção, o paciente recebe 1 e os resultados são usados para responder a questão 11.</p>	<p>0 = Sem perda visual. 1 = Hemianopsia parcial. 2 = Hemianopsia completa. 3 = Hemianopsia bilateral (cego, incluindo cegueira cortical).</p>	<p>_____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p>_____</p>	<p>_____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p>_____</p>
<p>4. Paralisia Facial Pergunte ou use pantomima para encorajar o paciente a mostrar os dentes ou sorrir e fechar os olhos. Considere a simetria de contração facial em resposta a estímulo doloroso em paciente pouco responsivo ou incapaz de compreender. Na presença de trauma /curativo facial, tubo orotraqueal, esparadrapo ou outra barreira física que obscureça a face, estes devem ser removidos, tanto quanto possível.</p>	<p>0 = Movimentos normais simétricos. 1 = Paralisia facial leve (apagamento de prega nasolabial, assimetria no sorriso). 2 = Paralisia facial central evidente (paralisia facial total ou quase total da região inferior da face). 3 = Paralisia facial completa (ausência de movimentos faciais das regiões superior e inferior da face).</p>	<p>_____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p>_____</p>	<p>_____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p>_____</p>
<p>5. Motor para braços O braço é colocado na posição apropriada: extensão dos braços (palmas para baixo) a 90° (se sentado) ou a 45° (se deitado). É valorizada queda do braço se esta ocorre antes de 10 segundos. O paciente afásico é encorajado através de firmeza na voz e de pantomima, mas não com estimulação dolorosa. Cada membro é testado isoladamente, iniciando pelo braço não-parético. Somente em caso de amputação ou de fusão de articulação no ombro, o item deve ser considerado não-testável (NT), e uma explicação deve ser escrita para esta escolha.</p>	<p>0 = Sem queda; mantém o braço 90° (ou 45°) por 10 segundos completos. 1 = Queda; mantém o braço a 90° (ou 45°), porém este apresenta queda antes dos 10 segundos completos; não toca a cama ou outro suporte. 2 = Algum esforço contra a gravidade; o braço não atinge ou não mantém 90° (ou 45°), cai na cama, mas tem alguma força contra a gravidade. 3 = Nenhum esforço contra a gravidade; braço despenca. 4 = Nenhum movimento. NT = Amputação ou fusão articular, explique: _____</p> <p>5a. Braço esquerdo 5b. Braço direito</p>	<p>_____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p>_____</p>	<p>_____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p>_____</p>
<p>6. Motor para pernas A perna é colocada na posição apropriada: extensão a 30° (sempre na posição supina). É valorizada queda do braço se esta ocorre antes de 5 segundos. O paciente afásico é encorajado através de firmeza na voz e de pantomima, mas não com estimulação dolorosa. Cada membro é testado isoladamente, iniciando pela perna não-parética. Somente em caso de amputação ou de fusão de articulação no quadril, o item deve ser considerado não-testável (NT), e uma explicação deve ser escrita para esta escolha.</p>	<p>0 = Sem queda; mantém a perna a 30° por 5 segundos completos. 1 = Queda; mantém a perna a 30°, porém esta apresenta queda antes dos 5 segundos completos; não toca a cama ou outro suporte. 2 = Algum esforço contra a gravidade; a perna não atinge ou não mantém 30°, cai na cama, mas tem alguma força contra a gravidade. 3 = Nenhum esforço contra a gravidade; perna despenca. 4 = Nenhum movimento. NT = Amputação ou fusão articular, explique: _____</p> <p>6a. Perna esquerda 6b. Perna direita</p>	<p>_____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p>_____</p>	<p>_____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p>_____</p>

1

2

3

4

5

2

Instrução	Definição da escala	Escore	Hora
<p>7. Ataxia de membros</p> <p>Este item é avaliado se existe evidência de uma lesão cerebelar unilateral. Teste com os olhos abertos. Em caso de defeito visual, assegure-se que o teste é feito no campo visual intacto. Os testes index-nariz e calcanhar Joelho são realizados em ambos os lados e a ataxia é valorizada, somente, se for desproporcional à fraqueza. A ataxia é considerada ausente no paciente que não pode entender ou está hemiplégico. Somente em caso de amputação ou de fusão de articulações, o item deve ser considerado não-testável (NT), e uma explicação deve ser escrita para esta escolha. Em caso de cegueira, teste tocando o nariz, a partir de uma posição com os braços estendidos.</p>	<p>0 = Ausente. 1 = Presente em 1 membro. 2 = Presente em dois membros. NT = Amputação ou fusão articular, explique: _____</p>	<p>_____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p>_____</p>	<p>_____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p>_____</p>
<p>8. Sensibilidade</p> <p>Avalie sensibilidade ou mímica facial ao beliscar ou retirada do estímulo doloroso em paciente torporoso ou afásico. Somente a perda de sensibilidade atribuída ao AVC é registrada como anormal e o examinador deve testar tantas áreas do corpo (braços [exceto mãos], pernas, tronco e face) quantas forem necessárias para checar acuradamente um perda hemisensitiva. Um escore de 2, "grave ou total" deve ser dado somente quando uma perda grave ou total da sensibilidade pode ser claramente demonstrada. Portanto, pacientes em estupor e afásicos irão receber provavelmente 1 ou 0. O paciente com AVC de tronco que tem perda de sensibilidade bilateral recebe 2. Se o paciente não responde e está quadriplégico, marque 2. Pacientes em coma (item 1a=3) recebem arbitrariamente 2 neste item.</p>	<p>0 = Normal; nenhuma perda. 1 = Perda sensitiva leve a moderada; a sensibilidade ao beliscar é menos aguda ou diminuída do lado afetado, ou há uma perda da dor superficial ao beliscar, mas o paciente está ciente de que está sendo tocado. 2 = Perda da sensibilidade grave ou total; o paciente não sente que está sendo tocado.</p>	<p>_____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p>_____</p>	<p>_____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p>_____</p>
<p>9. Melhor linguagem</p> <p>Uma grande quantidade de informações acerca da compreensão pode obtida durante a aplicação dos itens precedentes do exame. O paciente é solicitado a descrever o que está acontecendo no quadro em anexo, a nomear os itens na lista de identificação anexa e a ler da lista de sentença anexa. A compreensão é julgada a partir destas respostas assim como das de todos os comandos no exame neurológico geral precedente. Se a perda visual interfere com os testes, peça ao paciente que identifique objetos colocados em sua mão, repita e produza falas. O paciente intubado deve ser incentivado a escrever. O paciente em coma (Item 1A=3) receberá automaticamente 3 neste item. O examinador deve escolher um escore para pacientes em estupor ou pouco cooperativos, mas a pontuação 3 deve ser reservada ao paciente que está mudo e que não segue nenhum comando simples.</p>	<p>0 = Sem afasia; normal. 1 = Afasia leve a moderada; alguma perda óbvia da fluência ou dificuldade de compreensão, sem limitação significativa das idéias expressão ou forma de expressão. A redução do discurso e/ou compreensão, entretanto, dificultam ou impossibilitam a conversação sobre o material fornecido. Por exemplo, na conversa sobre o material fornecido, o examinador pode identificar figuras ou item da lista de nomeação a partir da resposta do paciente. 2 = Afasia grave; toda a comunicação é feita através de expressões fragmentadas; grande necessidade de interferência, questionamento e adivinhação por parte do ouvinte. A quantidade de informação que pode ser trocada é limitada; o ouvinte carrega o fardo da comunicação. O examinador não consegue identificar itens do material fornecido a partir da resposta do paciente. 3 = Mudo, afasia global; nenhuma fala útil ou compreensão auditiva.</p>	<p>_____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p>_____</p>	<p>_____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p>_____</p>

1

2

3

4

5

6

1
2
3
4
5

Você sabe como fazer.

De volta pra casa.

Eu cheguei em casa do trabalho.

Próximo da mesa, na sala de jantar.

Eles ouviram o Pelé falar no rádio.

1

Mamãe

Tic-Tac

Paralelo

Obrigado

Estrada de ferro

Jogador de futebol

2

3

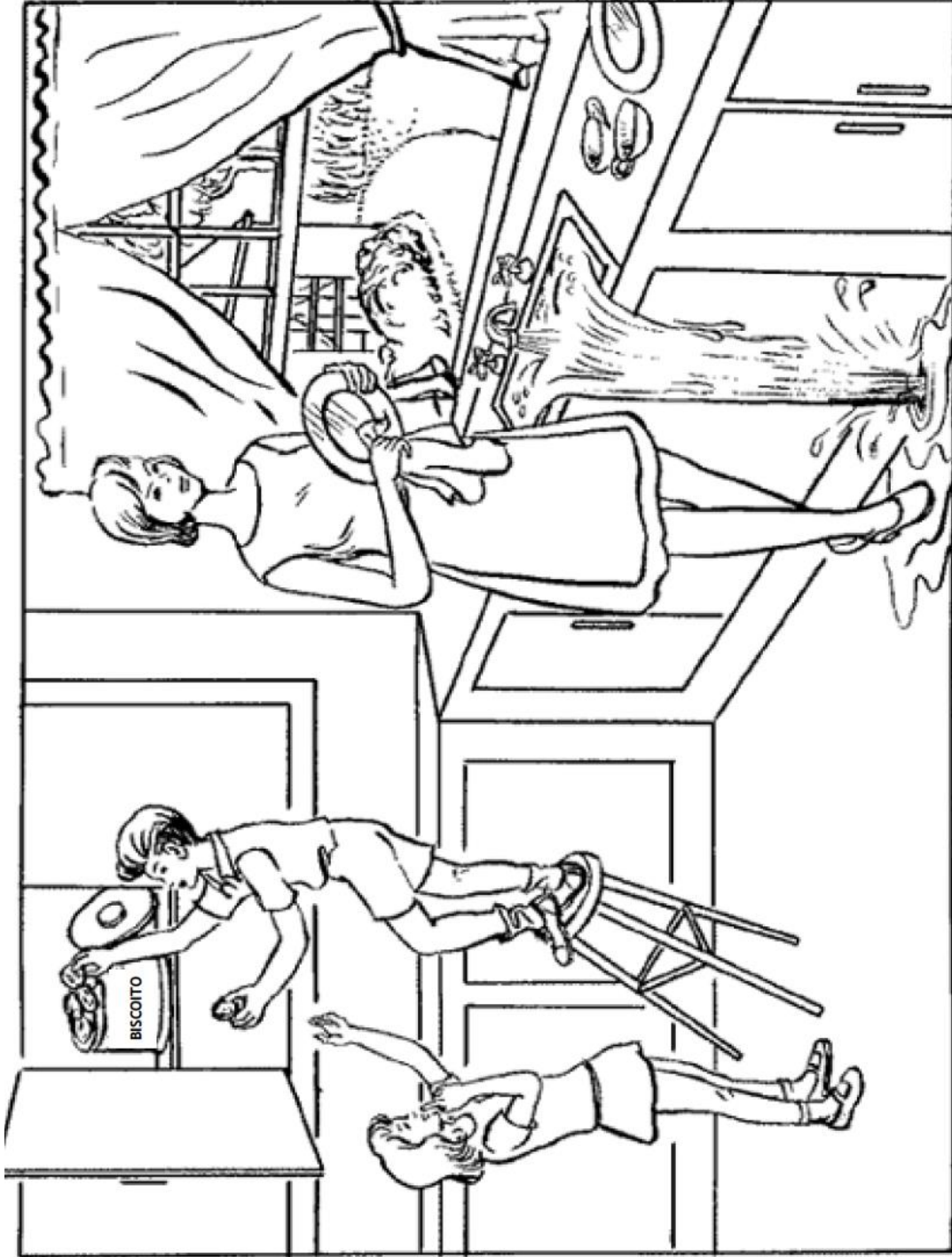
4



Lista para nomeação no item 9. Melhor linguagem

- 1
- 2
- 3
- 4

1



8

Figura para o item 9. Melhor linguagem

Copyright © 1993 by Lee & Feldspar

2

3

4

5

- 1 **Anexo 3 Escala de Rankin Modificada (mRS)**
- 2
- 3 **0- Nenhum sintoma**
- 4 **1- Não apresenta incapacidade significativa, apenas sintomas; capaz de realizar as**
- 5 **obrigações e atividades habituais**
- 6 **2- Leve incapacidade; incapaz de realizar todas as atividades prévias, porem capaz de**
- 7 **realizar os cuidados consigo próprio sem assistência.**
- 8 **3- Moderada incapacidade; necessita alguma ajuda, consegue andar sem ajuda**
- 9 **4- Moderada /ou grave incapacidade; incapaz de andar sem assistência e não consegue**
- 10 **realizar os cuidados consigo próprio, sozinho**
- 11 **5- Incapacidade grave; acamado e sob cuidados constantes de enfermagem,**
- 12 **incontinente.**
- 13 **6- Morte**
- 14
- 15 **TOTAL (0–6): _____**
- 16

1 APÊNDICE

2 Apêndice 1 Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

3 4 5 “ASSOCIAÇÃO ENTRE MARCADORES INFLAMATÓRIOS, ANTI-INFLAMATÓRIOS E 6 METABÓLICOS COM AS PLACAS CAROTÍDEAS EXAMINADAS COM *DOPPLER* 7 EM PACIENTES COM ACIDENTE VASCULAR ENCEFÁLICO ISQUÊMICO AGUDO” 8

9 Prezado(a) Senhor(a):
10

11 Gostaríamos de convidá-lo (a) para participar da pesquisa “ASSOCIAÇÃO ENTRE
12 MARCADORES INFLAMATÓRIOS, ANTI-INFLAMATÓRIOS E METABÓLICOS COM AS
13 PLACAS CAROTÍDEAS EXAMINADAS COM *DOPPLER* EM PACIENTES COM
14 ACIDENTE VASCULAR ENCEFÁLICO ISQUÊMICO AGUDO”, a ser realizada no Hospital
15 Universitário da Universidade Estadual de Londrina (HU/UUEL)”. O objetivo da pesquisa é “analisar a
16 associação entre alterações na resposta inflamatória e no metabolismo de gorduras e de açúcar com a
17 presença de placas de aterosclerose na carótida em um grupo de pacientes com acidente vascular
18 encefálico agudo isquêmico (AVCI) agudo, conhecido como derrame cerebral, atendidos no
19 HU/UUEL”. Sua participação é muito importante e ela se daria da seguinte forma: sua participação será
20 voluntária para fornecer informações quanto ao sexo, idade, etnia (raça), peso, altura, pressão arterial,
21 uso de medicamentos antes do derrame, hábitos de vida como atividade física, uso de álcool e fumo.
22 Será realizado um exame de ultrassonografia com *doppler* da carótida para avaliar a presença e a
23 espessura de placas de aterosclerose.

24 O (a) senhor(a) participará com a coleta de uma amostra de sangue periférico (20 mL) dentro
25 das 24 horas do seu internamento no HU/UUEL para a realização de exames laboratoriais que fazem
26 parte da rotina de atendimento aos pacientes com derrame cerebral, como hemograma, provas de
27 coagulação, avaliação dos lipídeos (como colesterol e triglicerídeos), glicose, insulina e provas
28 inflamatórias. Após 3 e 12 meses da sua alta do hospital, o (a) senhor(a) será atendido em consulta no
29 ambulatório do HU/UUEL, ou por telefone, pela equipe do projeto de pesquisa, para a avaliação de
30 como o (a) senhor (a) está se sentindo e realizando suas atividades diárias.

31 Esclarecemos que sua participação é totalmente voluntária, podendo o (a) senhor (a): recusar-
32 se a participar, ou mesmo desistir a qualquer momento, sem que isto acarrete qualquer ônus ou
33 prejuízo à sua pessoa. Esclarecemos, também, que suas informações serão utilizadas somente para os
34 fins desta pesquisa e serão tratadas com o mais absoluto sigilo e confidencialidade, de modo a
35 preservar a sua identidade. Solicitamos ainda sua autorização para que após o término do presente
36 estudo, o material de sangue coletado possa ser armazenado em *freezer* no Setor de Imunologia
37 Clínica do HU/UUEL, identificado de maneira sigilosa e sob a responsabilidade da equipe de
38 pesquisadores, para ser utilizada em futuros estudos sobre os fatores de risco associados ao derrame a
39 serem desenvolvidos por esta mesma equipe de pesquisadores. Caso não autorize, informamos que o
40 material coletado para este estudo, será descartado após o término da presente pesquisa.

41 Esclarecemos ainda, que o(a) senhor(a) não pagará e nem será remunerado(a) por sua
42 participação. Garantimos, no entanto, que todas as despesas decorrentes da pesquisa serão ressarcidas,
43 quando devidas e decorrentes especificamente de sua participação.

44 Os benefícios esperados são um melhor conhecimento das alterações inflamatórias e do
45 metabolismo associadas com a placa de aterosclerose na carótida que poderá ser uma alternativa
46 precoce e simples de antever a evolução nos casos de derrame cerebral a fim de auxiliar na decisão
47 terapêutica destes pacientes.

48 Quanto aos riscos, informamos que sua participação não acarretará em qualquer risco à sua
49 saúde nem alteração de qualquer um dos seus tratamentos. A ultrassonografia com *doppler* de carótida
50 é um exame indolor e não invasivo que não apresenta risco ao paciente. O sangue que será coletado
51 para a pesquisa será parte da mesma coleta de exames de rotina que será realizada independentemente
52 de sua participação ou não no estudo e desta forma, não vos acarreta em nenhum risco adicional. A
53 coleta de sangue venoso será realizada por profissionais treinados do HU/UUEL e pode ocasionar sinais
54 decorrentes da punção venosa e consiste em dor no local da punção venosa ou pequeno hematoma e,

1 muito raramente, vermelhidão ou infecção local. Mesmo sendo mínimos, caso ocorra algum tipo de
2 desconforto o participante será prontamente atendido e amparado pelos farmacêuticos responsáveis
3 pela coleta de sangue e um dos pesquisadores deste estudo.

4 Caso o(a) senhor(a) tenha dúvidas ou necessite de maiores esclarecimentos poderá nos
5 contatar a professora e pesquisadora Edna Maria Vissoci Reiche, no Laboratório de Análises Clínicas
6 do HU/UEL, na avenida Robert Koch, 60, Vila Operária, pelos telefones 43-3371-2321 (laboratório)
7 ou 43-9991-1467 (celular), ou ainda por email (reiche@sercomtel.com.br), ou procurar o Comitê de
8 Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da Universidade Estadual de Londrina, situado junto
9 ao LABESC – Laboratório Escola, no Campus Universitário, telefone 3371-5455, e-mail:
10 cep268@uel.br.

11 Este termo deverá ser preenchido em duas vias de igual teor, sendo uma delas devidamente
12 preenchida, assinada e entregue ao (à) senhor(a).

13
14
15
16 Londrina, ____ de _____ de 201_.

17
18
19
20 Pesquisador Responsável
21 Professora Dra. Edna Maria Vissoci Reiche
22 RG: 1.242.514-7 (SSP-PR)
23 Telefone: 43-3371-2321
24

25
26 _____, tendo sido devidamente esclarecido sobre os
27 procedimentos da pesquisa, concordo em participar **voluntariamente** da pesquisa descrita acima.

28
29
30 Assinatura (ou impressão dactiloscópica): _____

31
32
33 Data: _____
34
35
36

1 **Apêndice 2 Questionário para coleta de dados dos indivíduos**

2

3

4 Data de inclusão (ou internação) ____/____/____ Horário da coleta ____:____

5

6 **IDENTIFICAÇÃO**

7 Nome: _____ ID _____

8 Idade: _____ anos Sexo: () M () F Etnia _____

9

10 Antecedentes Mórbitos Pessoais: () Hipertensão arterial sistêmica () DM tipo 1

11 () Dislipidemia () DM tipo 2

12 () Dça Autoimune () Dça Hematológica

13 () Dça Infeciosa () AVC () IAM

14 () Outro: _____

15 Medicamentos de uso contínuo: _____

16 () anti-hipertensivo () hipoglicemiante () hipolipemiante () anticoagulante

17 () antioxidantes () vitaminas () Outro: _____

18

19 Antecedentes Mórbitos Familiares: () Hipertensão arterial sistêmica () DM tipo 2

20 () Dislipidemia

21 () AVC () IAM () Outro: _____

22

23 Condições e hábitos de vida: () Tabagismo () Etilismo () Sedentarismo

24

25 Atividade física:

26 () SIM () 1x semana () 2x semana () 3x semana () > 3 x semana

27 () NÃO

28

29 História Clínica e Exame Físico da Entrada (*baseline*):

30 Peso (Kg) _____ Altura (m) _____

31 Pressão arterial (mmHg) _____ Circunferência abdominal (cm) _____