



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

NATALIA SCANEIRO BOY SARDINHA

**CONTRIBUIÇÃO DA VARIANTE *NLRP3* rs10754558 E DE
BIOMARCADORES INFLAMATÓRIOS E HEMOSTÁTICOS
PARA O PROGNÓSTICO DO ACIDENTE VASCULAR
CEREBRAL ISQUÊMICO**

NATALIA SCANEIRO BOY SARDINHA

**CONTRIBUIÇÃO DA VARIANTE *NLRP3* rs10754558 E DE
BIOMARCADORES INFLAMATÓRIOS E HEMOSTÁTICOS
PARA O PROGNÓSTICO DO ACIDENTE VASCULAR
CEREBRAL ISQUÊMICO**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fisiopatologia Clínica e Laboratorial, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre.

Orientador: Profa. Dra. Edna Maria Vissoci Reiche.

Londrina
2026

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

Sardinha, Natália .

CONTRIBUIÇÃO DA VARIANTE NLRP3 rs10754558 E DE BIOMARCADORES INFLAMATÓRIOS E HEMOSTÁTICOS PARA O PROGNÓSTICO DO ACIDENTE VASCULAR CEREBRAL ISQUÊMICO / Natália Sardinha. - Londrina, 2026.
83 f.

Orientador: Edna Reiche.

Dissertação (Mestrado em Fisiopatologia Clínica e Laboratorial) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Fisiopatologia Clínica e Laboratorial, 2026.
Inclui bibliografia.

1. AVC - Tese. 2. Inflamassoma - Tese. 3. Coagulação - Tese. I. Reiche, Edna . II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências da Saúde. Programa de Pós-Graduação em Fisiopatologia Clínica e Laboratorial. III. Título.

CDU 616-092

NATALIA SCANEIRO BOY SARDINHA

**CONTRIBUIÇÃO DA VARIANTE *NLRP3* rs10754558 E DE
BIOMARCADORES INFLAMATÓRIOS E HEMOSTÁTICOS
PARA O PROGNÓSTICO DO ACIDENTE VASCULAR
CEREBRAL ISQUÊMICO**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fisiopatologia Clínica e Laboratorial, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre.

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Profa. Dra. Edna Maria Vissoci Reiche
Universidade Estadual de Londrina

Prof. Dr. Jose Manoel Da Silva Silvestre
Universidade Estadual de Londrina

Prof. Dra. Sayonara Rangel Oliveira
Universidade Estadual de Londrina

Londrina, 25 de fevereiro de 2026

AGRADECIMENTOS

A realização desta dissertação representa a culminação de uma etapa muito importante da minha trajetória acadêmica e profissional, e não teria sido possível sem o apoio, a orientação e o incentivo de pessoas e instituições que estiveram ao meu lado ao longo deste percurso.

À minha orientadora, Profa. Dra. Edna Maria Vissoci Reiche, agradeço profundamente pela confiança, pela orientação atenta, pela generosidade na partilha do conhecimento e pela paciência ao longo de todo o processo, mesmo com todos os percalços que enfrentamos nessa jornada. Sua dedicação, rigor científico e sensibilidade foram fundamentais para a construção deste trabalho e para o meu crescimento como pesquisadora.

Ao Programa de Pós-Graduação em Fisiopatologia Clínica e Laboratorial da Universidade Estadual de Londrina, agradeço pela oportunidade de aprendizado, pelo ambiente acadêmico estimulante e pela formação de excelência oferecida durante o mestrado. Cada disciplina, discussão e experiência vivida nesse período contribuiu de maneira decisiva para este trabalho e para minha formação.

Aos meus familiares, agradeço pelo amor incondicional, pela compreensão nos momentos de ausência, pelo apoio constante e por acreditarem em mim mesmo nos períodos mais desafiadores. Vocês foram meu alicerce, minha força e minha motivação para seguir em frente até a conclusão desta etapa.

A todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho, meu sincero agradecimento.

RESUMO

SARDINHA, Natalia Scaneiro Boy. **Contribuição da variante *NLRP3* rs10754558 e de biomarcadores inflamatórios e hemostáticos para o prognóstico do acidente vascular cerebral isquêmico.** 2026. 83 p. Dissertação (Mestrado em Fisiopatologia Clínica e Laboratorial) - Universidade Estadual de Londrina. Londrina, 2026.

Introdução: Os desfechos do acidente vascular cerebral isquêmico (AVCI) são influenciados pela extensão da lesão neurológica inicial e pelas respostas inflamatórias e de coagulação sistêmicas. No entanto, a interação entre inflamação, fatores hemostáticos e suscetibilidade genética, particularmente envolvendo o inflamassoma *NLRP3*, permanece incompletamente compreendida. O objetivo deste estudo foi investigar a contribuição da variante *NLRP3* rs10754558 C>G, bem, como de biomarcadores inflamatórios e hemostáticos, para o prognóstico clínico de pacientes com AVCI, avaliando a interação entre essas vias e seu impacto nos desfechos pós-AVCI. **Métodos:** Este estudo incluiu 134 pacientes com AVCI, estratificados de acordo com um índice composto de desfecho clínico (desfecho PC) que integra o escore da *National Institute of Health Stroke Scale* (NIHSS) basal, o escore da Escala de Rankin Modificada basal e de três meses e a mortalidade em três meses. Variáveis antropométricas, clínicas, bioquímicas, inflamatórias e hemostáticas foram avaliadas. Um Índice de Inflamação foi construído usando valores padronizados de Proteína C Reativa, contagem de leucócitos periféricos e níveis inversos de albumina. Os genótipos *NLRP3* rs10754558 C>G foram analisados por reação em cadeia da polimerase em tempo real. Regressão linear múltipla *stepwise*, regressão logística binária e gráfico de regressão parcial (PLS) foram aplicadas para identificar preditores independentes, determinantes da inflamação e efeitos de mediação. *Odds ratio* (OR) e intervalo de confiança (IC) de 95% foram determinados. **Resultados:** Pacientes com piores desfechos eram mais velhos ($p<0,001$), tinham menor índice de massa corporal (IMC) ($p=0,028$) e exibiam níveis mais elevados do Índice de Inflamação ($p<0,001$) e fator de von Willebrand (vWF) ($p=0,002$). A fibrilação atrial foi a única variável categórica associada a um pior desfecho ($p=0,014$). Não foi observada associação direta entre os genótipos *NLRP3* rs10754558 e os desfechos clínicos ($p=0,326$). A regressão linear múltipla identificou o Índice de Inflamação como o preditor independente mais forte do desfecho do AVCI, explicando 17,2% de sua variância, que aumentou para 22,6% após o ajuste para a idade ($p<0,001$). Os determinantes da inflamação incluíram a atividade do Fator VIII, o genótipo *NLRP3* GG (modelo recessivo), os níveis de Proteína C e o sexo masculino, explicando coletivamente 24,1% da variância no Índice de Inflamação ($p<0,001$). A regressão logística binária demonstrou que a pontuação NIHSS basal e o Índice de Inflamação previram, independentemente, a mortalidade em três meses ($p<0,001$), enquanto um IMC mais baixo e uma inflamação mais elevada previram independentemente piores desfechos clínicos ($p=0,028$ e $p<0,001$, respectivamente). A análise PLS confirmou que os efeitos do genótipo GG, do Fator VIII e da Proteína C no desfecho clínico foram significativamente mediados pela inflamação sistêmica. **Conclusões:** A inflamação sistêmica é um determinante central e independente tanto da mortalidade quanto da evolução clínica desfavorável após um AVCI. O desequilíbrio hemostático e a predisposição genética do *NLRP3* contribuem para o prognóstico do AVCI principalmente por meio de vias mediadas pela inflamação. Essas descobertas apoiam um modelo integrado de genética-inflamação-coagulação para os desfechos do AVCI e destacam a inflamação como um alvo potencial para estratificação prognóstica e intervenção terapêutica.

Palavras-Chaves: Acidente vascular cerebral isquêmico; inflamação sistêmica; inflamassoma NLRP3; biomarcadores de coagulação; desfecho clínico.

ABSTRACT

SARDINHA, Natalia Scaneiro Boy. **Contribution of the *NLRP3* rs10754558 variant and inflammatory and hemostatic biomarkers to ischemic stroke prognosis.** 2026. 83 p. Master (Dissertation em Fisiopatologia Clínica e Laboratorial) - Universidade Estadual de Londrina. Londrina, 2026.

Background: Ischemic stroke outcomes are influenced by the extent of the initial neurological injury and by systemic inflammatory and coagulation responses. However, the interplay between inflammation, hemostatic factors, and genetic susceptibility, particularly involving the *NLRP3* inflammasome, remains incompletely understood. The aim of the study was to investigate the contribution of the *NLRP3* rs10754558 C>G variant, as well as inflammatory and hemostatic biomarkers, to the clinical prognosis of patients with ischemic stroke, evaluating the interaction between these pathways and their impact on post-stroke outcomes. **Methods:** This study included 134 patients with ischemic stroke, stratified according to a composite clinical outcome index (PC outcome) integrating baseline National Institute of Health Stroke Scale (NIHSS) baseline, three-month modified Rankin Scale score, and three-month mortality. Anthropometric, clinical, biochemical, inflammatory, and hemostatic variables were assessed. An Inflammation Index was constructed using standardized values of C-Reactive Protein, white blood cell count, and inverse albumin levels. *NLRP3* rs10754558 C>G genotypes were analyzed using real-time polymerase chain reaction. Stepwise multiple linear regression, binary logistic regression, and partial least squares (PLS) path modeling were applied to identify independent predictors, determinants of inflammation, and mediation effects. Odds ratio (OR) and 95% confidence interval (CI) were determined. **Results:** Patients with worse outcomes were older ($p<0.001$), had lower body mass index (BMI) ($p=0.028$), and exhibited higher Inflammation Index ($p<0.001$) and von Willebrand factor (vWF) levels ($p=0.002$). Atrial fibrillation was the only categorical variable associated with worse outcome ($p=0.014$). No direct association was observed between *NLRP3* rs10754558 genotypes and clinical outcomes ($p=0.326$). Multiple linear regression identified the Inflammation Index as the strongest independent predictor of PC outcome, explaining 17.2% of its variance, which increased to 21.3% after adjustment for age ($p<0.001$). Determinants of inflammation included Factor VIII activity, *NLRP3* GG genotype (recessive model), Protein C levels, and male sex, collectively explaining 24.1% of the variance in the Inflammation Index ($p<0.001$). Binary logistic regression demonstrated that baseline NIHSS score and the Inflammation Index independently predicted three-month mortality ($p<0.001$), while lower BMI and higher inflammation independently predicted worse clinical outcomes ($p=0.028$ and $p<0.001$, respectively). PLS analysis confirmed that the effects of the *NLRP3* genotype, Factor VIII, and Protein C on clinical outcome were significantly mediated through systemic inflammation. **Conclusions:** Systemic inflammation is a central and independent determinant of both mortality and unfavorable clinical evolution following ischemic stroke. Hemostatic imbalance and *NLRP3* genetic background contribute to stroke prognosis primarily through inflammation-mediated pathways. These findings support an integrated genetic-inflammation-coagulation model of ischemic stroke outcomes and highlight inflammation as a potential target for prognostic stratification and therapeutic intervention.

Key-words: Ischemic stroke; systemic inflammation; *NLRP3* inflammasome; coagulation biomarkers; clinical outcome.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Componentes do inflamassoma NLRP3.....	07
Figura 2 –	Representação esquemática da ativação canônica e não canônica do inflamassoma NLRP3.....	08
Figura 3 –	O inflamassoma NLRP3 e o acidente vascular cerebral isquêmico	12
Figura 4 –	Mecanismos de ativação do inflamassoma NLRP3 e seu papel nas doenças cardiovasculares.....	15
Figura 5 –	Estrutura de éxons e íntrons do gene NLRP3 e principais variantes genéticas identificadas.....	17

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

3'UTR	Região 3' não transcrita
AIT	Acidente Isquêmico Transitório
AHA	<i>American Heart Association</i>
AMPA	Ácido α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazol-propiónico
ANOVA	Análise de variância
ASC	Proteína Semelhante a <i>Speck</i> Associada a Apoptose (contendo CARD)
AVC	Acidente Vascular Cerebral
AVCI	Acidente Vascular Cerebral Isquêmico
BHE	Barreira Hematoencefálica
BMI	<i>Body Mass Index</i>
C	Citosina
CADASIL	Arteriopatia Cerebral Autossômica Dominante com Enfartes Subcorticais e Leucoencefalopatia
CARD	<i>Caspase Activation and Recruitment Domain</i>
CEI	Infarto Cardioembólico
cIMT	Espessura Médio-Intimal da Carótida
DAMPs	Padrões Moleculares Associados a Patógenos
DCV	Doenças Cardiovasculares
DM2	Diabetes Mellitus Tipo 2
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
EROs	Espécies Reativas de Oxigênio
EUA	Estados Unidos da América
G	Guanina
GSDMD	Gasdermina D
HDL	Lipoproteína de alta densidade
HIF-1	Fator Induzível por Hipóxia-1
HU	Hospital Universitário de Londrina
ICAM-1	Molécula de Adesão Intercelular-1
IDH	Índice de Desenvolvimento Humano
IL	Interleucina
IFN	Interferon
LAAS	Doença Aterosclerótica de Grandes Artérias

LAC	Infarto Lacunar
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
LPS	Lipopolissacarídeo
LRRs	Repetições Ricas em Leucina
MAPK	Proteína Quinase Ativada por Mitógeno
MMP	Metaloproteinase de Matriz
mRNA	RNA Mensageiro
mRS	Escala de Rankin Modificada
miR	microRNA
MTHFR	5,10-Metilenotetrahidrofolato Redutase
NACHT	Domínio de Ligação a Nucleotídeos
NF-κB	Fator Nuclear Kappa B
NIHSS	<i>National Institutes of Health Stroke Scale</i>
NMDA	N-Metil-D-Aspartato
NLRP3	Receptor NOD- <i>like</i> contendo Domínio Pirina 3
NO	Óxido Nítrico
ODE	Outra Etiologia Determinada
oxLDL	Lipoproteína de baixa densidade oxidada
P2X7	Receptor Purinérgico P2X7
PAD	Pressão arterial diastólica
PAMPs	Padrões Moleculares Associados a Patógenos
PAS	Pressão arterial sistólica
PCR	Proteína C-Reativa
PRR	Receptor de Reconhecimento de Padrões
PYD	Domínio Pirina
RNM	Ressonância Nuclear Magnética
RRPs	Receptores de Reconhecimento de Padrões
rtPA	Ativador do Plasminogênio Tecidual Recombinante
SNVs	Variantes de Nucleotídeo Único
TC	Tomografia Computadorizada
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TF	Fator Tecidual
TLR	<i>Toll-like receptor</i>

TNF-α	Fator de Necrose Tumoral Alfa
TOAST	<i>Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment</i>
UDE	Etiologia Indeterminada
UEL	Universidade Estadual de Londrina
USGD	Ultrassonografia com <i>Doppler</i>
USG	Ultrassonografia
vWF	Fator de von Willebrand
VCAM-1	Molécula de Adesão Celular Vascular-1
VEGF	Fator de Crescimento Endotelial Vascular

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	01
1.1	Fatores de risco associados ao AVCI	02
1.2	Diagnóstico do AVCI	03
1.3	Mecanismos Fisiológicos do AVCI	05
1.4	Inflamassoma NLRP3 como modulador da resposta inflamatória e angiogênese	06
1.5	Importância do inflamassoma no AVCI	09
1.6	O papel específico do inflamassoma NLRP3 na função endotelial e DCVs	13
1.7	Variações genéticas do <i>NLRP3</i>	16
1.8	Acidente vascular cerebral isquêmico e distúrbios da coagulação	18
1.9	Hipóteses do estudo	19
2	JUSTIFICATIVA	20
3	OBJETIVOS	21
3.1	Objetivo geral	21
3.2	Objetivos específicos	21
4	MATERIAIS E MÉTODOS	22
4.1.	Aspectos éticos	22
4.2.	Delineamento	22
4.3	População	22
4.4	Critérios de exclusão	22
4.5	Amostra	22
4.6	Dados demográficos, epidemiológicos, clínicos e de imagem	23
4.7	Exames laboratoriais	24
4.8	Genotipagem da variante rs10754558 do <i>NLRP3</i>	25
4.9	Análise estatística	26
5	RESULTADOS	27

6	CONCLUSÃO	61
7	CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS FUTURAS	62
	REFERÊNCIAS	63
	APÊNDICES.....	73
	APÊNCIDE A	73
	APÊNDICE B	75
	APÊNDICE C	76
	APÊNDICE D	78
	ANEXO 1	78

1 1 INTRODUÇÃO

2
3 O acidente vascular encefálico ou cerebral (AVC) é definido como um episódio
4 agudo caracterizado por sinais clínicos de perturbação focal ou global da função
5 neurológica causada por infarto ou hemorragia espontânea na parte acometida do
6 encéfalo, retina ou medula espinhal, durando mais de 24 horas, ou de qualquer duração,
7 se constatada por imagem - tomografia computadorizada (TC) ou Ressonância Nuclear
8 Magnética (RNM). O AVC é classificado em isquêmico (obstrução arterial com
9 consequente alteração do fluxo sanguíneo cerebral), hemorragia intracerebral (coleção
10 focal de sangue dentro do parênquima cerebral ou sistema ventricular que não é causada
11 por trauma) e hemorragia subaracnóidea. O AVC isquêmico (AVCI) é o mais prevalente,
12 sendo responsável por 70,5% a 85,0% de todos os AVC (Brasil, 2021).

13 O AVCI se mantém uma das principais causas de morte no mundo, com projeções
14 alarmantes para países de baixa e média renda onde sistemas de saúde enfrentam desafios
15 organizacionais, principalmente, no encaminhamento e acompanhamento nas redes de
16 atendimento especializado (Rahbar *et al.*, 2022; Moraes *et al.*, 2021). No Brasil, o AVCI
17 também está entre as maiores causas de mortalidade, com um total de 46.249 óbitos no
18 ano de 2024 (SIM/MS, 2025).

19 O AVCI apresenta mortalidade precoce de 10,0% nos primeiros 30 dias, podendo
20 atingir 40,0% em um ano, com taxas mais elevadas em regiões menos desenvolvidas
21 (Roger *et al.*, 2011; Ovbiagele, 2011). No Brasil, a mortalidade intra-hospitalar por AVCI
22 chega a 20,9%; porém, em áreas distantes das grandes capitais, onde não há o acesso a
23 terapias de reperfusão, essas taxas sofrem um grande aumento refletindo a disparidades
24 do acesso ao tratamento adequado (Rahbar *et al.*, 2022). A média nacional de óbitos nos
25 primeiros 90 dias pós-evento atinge 19,4%, com disparidades regionais vinculadas a
26 indicadores socioeconômicos (Moraes *et al.*, 2021). Dos sobreviventes, 41,5%
27 permanecem com sequelas moderadas a graves, levando a aposentadorias precoces e
28 custos expressivos na previdência social, agravados pela dificuldade de acesso a centros
29 de reabilitação multidisciplinar, especialmente em regiões como o Norte do Brasil, onde
30 estudos evidenciam impactos diretos na perda produtiva pela incapacidade laboral e na
31 carga econômica do sistema de saúde (Rahbar *et al.*, 2022; Moraes *et al.*, 2021).

32 A incidência do AVCI também está relacionada ao Índice de Desenvolvimento
33 Humano (IDH) elaborado pela Organização das Nações Unidas (Cabral, 2009). De Melo
34 Lucena (2018) observou uma correlação inversa entre mortalidade por AVCI e IDH

1 global e as seguintes dimensões: renda e escolaridade nas capitais brasileiras. O
2 Ministério da Saúde do Brasil destinou R\$ 700 milhões (2023-2024) para ampliação de
3 118 centros especializados, incluindo R\$ 74 milhões/ano para trombectomia (Moraes *et*
4 *al.*, 2021). Contudo, a heterogeneidade na distribuição desses recursos mantém
5 desigualdades regionais, reforçando a urgência de estratégias integradas que associem
6 diagnóstico precoce, com a realização de ultrassonografia (USG) carotídea e
7 biomarcadores de disfunção endotelial para redução sustentável da morbimortalidade
8 (Qian *et al.*, 2023).

9 Nos Estados Unidos da América (EUA), os casos de AVCI evoluíram
10 significativamente entre as edições 2014 e 2025 do relatório anual da *American Heart*
11 *Association* (AHA), passando de 795.000 para mais de 1,01 milhão de casos anuais
12 (+27,0%), com a proporção de AVCI elevando-se de 75,0-85,0% para 87,0% dos eventos
13 totais, refletindo maior prevalência do subtipo Doença Aterosclerótica de Grandes
14 Artérias (LAAS). A mortalidade americana caiu 35,8% entre 2000-2010 na versão 2014,
15 mas a edição 2025 registra redução de 51,0% desde 1990 com platô pós-COVID devido
16 à estagnação no controle da hipertensão, enquanto os custos anuais saltaram de US\$ 315
17 bilhões para US\$ 528 bilhões (+67,0%), impulsionados principalmente pelo
18 envelhecimento populacional e avanços terapêuticos que incorporam agora inibidores do
19 inflamassoma NLRP3 como MCC950, além do Ativador do Plasminogênio Tecidual
20 Recombinante (rtPA) e trombectomia (Go *et al.*, 2014; Martin *et al.*, 2025).

21

22 1.1 Fatores de risco associados ao AVCI

23

24 Os fatores de risco associados ao AVCI são divididos em não modificáveis e
25 modificáveis que podem exacerbar a hereditariedade do AVCI. Os fatores não
26 modificáveis incluem idade avançada, sexo feminino, raça e etnia, histórico familiar e
27 fatores genéticos (Benjamin *et al.*; 2018). Os fatores de risco modificáveis incluem
28 hipertensão, doenças cardiovasculares (DCVs), diabetes mellitus tipo 2 (DM2),
29 hipercolesterolemia, fibrilação atrial, tabagismo, consumo de álcool, inatividade física,
30 uso de contraceptivos orais, hiperuricemia, bronquite crônica, doença periodontal,
31 infecções bacterianas e virais, estresse e hábitos alimentares inadequados, incluindo alta
32 ingestão de sal (Boehme *et al.*, 2017; Connor *et al.*, 2007; Li *et al.*, 2012; O'Donnell *et*
33 *al.*, 2010; Owolabi *et al.*, 2009; Palm *et al.*, 2009; Pu *et al.*, 2023; Schulz *et al.*, 2004;
34 Touzé; Rothwell, 2008;). O Quadro 1 resume os principais fatores de risco do AVCI.

1 Quadro 1 Principais fatores de risco modificáveis e não modificáveis do acidente vascular
2 cerebral isquêmico

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

3 AVC: acidente vascular cerebral; AIT: acidente isquêmico transitório; MTHFR: 5,10-
4 metilnotetrahidrofolato-redutase; CADASIL: A rteriopatia Cerebral Autossômica Dominante com
5 Enfartes Subcorticais e Leucoencefalopatia. Fonte: Adaptado de Benjamin *et al.* (2018)

7 1.2 Diagnóstico do AVCI

9 Durante o atendimento do paciente, deve-se avaliar o início preciso das
10 manifestações neurológicas e seu curso. O déficit neurológico focal de instalação súbita
11 e outros sinais de início súbito como vertigem associada à falta de equilíbrio,
12 adormecimento ou formigamento de um hemicorpo, dificuldade de enxergar em um ou
13 ambos os olhos e cefaleia súbita, intensa e sem causa aparente indicam a possibilidade de
14 AVC (Brasil, 2023).

15 A avaliação da gravidade do AVCI é realizada por escalas padronizadas que
16 uniformizam a linguagem dos profissionais de saúde sendo determinante para definição
17 de tratamento e valor prognóstico. Um das escalas mais utilizadas e que é recomendada

1 nos protocolos de tratamento ao AVCI agudo é a *National Institute of Health Stroke Scale*
2 (NIHSS), a qual quantifica o déficit neurológico após o AVCI e avalia tanto a gravidade
3 quanto a evolução clínica do paciente (Brott *et al.*, 1989). A NIHSS avalia e pontua os
4 principais itens do exame neurológico como consciência, movimentos oculares, campos
5 visuais, déficits motores e sensoriais, ataxia, fala, cognição e desatenção. Cada item
6 pontua uma habilidade entre 0 e 4 em que a função normal corresponde a 0 e a pontuação
7 entre 1 e 4 é atribuída a cada nível de comprometimento. A somatória dos itens ao final
8 varia de 0 (ausência de déficit) até 42 (maior déficit) (Brott *et al.*, 1989).

9 Para a avaliação de incapacidade funcional e prognóstico do AVCI, a escala de
10 Rankin modificada (mRS) é a mais utilizada mundialmente e nos fornece dados acerca
11 da recuperação da função motora e funcionalidade após o AVCI. A escala pontua o
12 comprometimento funcional de zero (paciente assintomático) até 6 (morte) (Bonita;
13 Beaglehole, 1988).

14 O método de imagem mais utilizado, mais disponível e de menor custo para a
15 avaliação inicial do AVCI agudo é a TC de crânio, que pode demonstrar sinais precoces
16 de isquemia em até 67,0% dos casos nas primeiras três horas do início dos sintomas e em
17 até 82,0% dos casos nas primeiras seis horas do ictó (última hora em que a pessoa foi
18 vista assintomática). A lesão isquêmica aparece como uma hipodensidade que não se
19 impregna pelo contraste, geralmente no território suprido pela artéria cerebral média. A
20 RNM é bem mais sensível e precisa na identificação e localização da lesão vascular,
21 especialmente quando são utilizadas técnicas de difusão/perfusão; no entanto, consome
22 um tempo de realização maior que pode ser decisivo para a indicação do tratamento com
23 trombolítico (Brasil, 2023).

24 O exame inicial de escolha para a suspeita de aterosclerose carotídea extracraniana
25 é a medida da espessura médio-intimal da carótida (cIMT) e a avaliação das velocidades
26 do fluxo sanguíneo utilizando técnicas de ultrasonografia com *doppler* (USGD). É o
27 exame indicado devido à sua segurança, custo-eficácia e capacidade de fornecer uma
28 avaliação em tempo real do fluxo sanguíneo (Cassola *et al.*, 2022). Em termos de precisão
29 diagnóstica, a USGD de carótida demonstrou ter alta especificidade (95,0-99,0%) e alta
30 sensibilidade (86,0-96,0%) para detetar estenose; no entanto, pode, ocasionalmente,
31 identificar erroneamente oclusões ou não detectá-las completamente.

32
33

1 1.3 Mecanismos Fisiopatológicos do AVCI

2
3 Após a injúria isquêmica aguda, diferentes vias e mecanismos são ativados na
4 progressão do AVCI. Estudos têm demonstrado que a inflamação desempenha um papel
5 importante na ocorrência e progressão do evento (Campbell *et al.*, 2019; Jurcau; Simion,
6 2022; Ramiro *et al.*, 2018). A resposta inflamatória ocorre em três fases após o AVCI: a
7 fase aguda ou de ativação que ocorre nas primeiras horas após o AVCI; a fase subaguda
8 ou de propagação que ocorre nos primeiros dias após o AVCI e a fase tardia ou de
9 resolução que ocorre semanas após o AVCI. Em cada fase há um padrão diferente de
10 resposta imune. Durante a fase aguda, a micróglia e macrófagos limpam o tecido
11 necrosado e há a primeira infiltração de leucócitos, principalmente neutrófilos. Na fase
12 subaguda/propagação, há a ativação da imunidade adaptativa e posterior resolução do
13 processo inflamatório subagudo; já na fase tardia, as células inflamatórias contribuiriam
14 para o reparo celular (Jurcau; Simion, 2022).

15 O AVCI envolve uma interação dinâmica entre disfunção endotelial e processos
16 inflamatórios sistêmicos, os quais amplificam o dano cerebral após a isquemia inicial. A
17 isquemia desencadeia a produção excessiva de espécies reativas de oxigênio (EROs), o
18 que reduz a biodisponibilidade de óxido nítrico (NO), compromete a função endotelial,
19 favorece a vasoconstrição, o aumento da permeabilidade vascular e ativação de moléculas
20 de adesão leucocitária, como a molécula de adesão intercelular 1 (ICAM-1) e molécula
21 de adesão celular vascular 1 (VCAM-1), facilitando a migração de neutrófilos e
22 macrófagos para o parênquima cerebral (Tuttolomondo; Daidone; Pinto, 2020).

23 O AVCI isquêmico induz a ativação das vias de sinalização do fator nuclear *kappa*
24 B (NF- κ B) e proteína quinase ativada por mitógeno (MAPK) em neurônios isquêmicos
25 no cérebro. A ativação do NF- κ B resulta na liberação de citocinas pró-inflamatórias,
26 como fator de necrose tumoral-alfa (TNF- α) e interleucina (IL)-1 β , que e promovem a
27 expressão de metaloproteinases (MMPs), como a MMP-9. Essas enzimas degradam as
28 junções de oclusão da barreira hematoencefálica (BHE), permitindo o extravasamento de
29 proteínas plasmáticas e exacerbando o edema cerebral (Qin *et al.*, 2022; Shirai *et al.*,
30 2019). A permeabilização da BHE acontece de quatro a seis horas pós isquemia, o que
31 permite a migração de neutrófilos e macrófagos pró-inflamatórios (fenótipo M1) para o
32 parênquima cerebral. O acúmulo de glutamato no espaço extracelular ativa receptores de
33 glutamato como N-metil-D-aspartato (NMDA) e ácido α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-

1 isoxazol-propiónico (AMPA), causando influxo exacerbado de cálcio (Ca^{2+}) nos
2 neurônios. Isso desencadeia cascatas de estresse oxidativo, mitocondriopatia e apoptose
3 neuronal, resultando em perdas sinápticas e morte celular. Novas estratégias terapêuticas
4 focam na modulação de vias como o fator induzível por hipóxia (HIF)-1 α / fator de
5 crescimento endotelial e vascular (VEGF) e na inibição de MMP-9, visando restaurar a
6 integridade vascular e reduzir o edema (Qin et al., 2022).

8 1.4 Inflamassoma NLRP3 como modulador da resposta inflamatória e angiogênese

9
10 O AVCI resulta de um conjunto complexo de mecanismos fisiopatológicos que
11 envolvem inflamação sistêmica, ativação hemostática e fatores genéticos associados à
12 resposta imune inata. Dentre esses mecanismos, o receptor do tipo domínio de
13 oligomerização de ligação a nucleotídeos (NOD) contendo domínio pirina 3 (NLRP3)
14 destaca-se como um componente molecular capaz de integrar sinais de dano tecidual e
15 desencadear respostas inflamatórias amplificadas (Campbell *et al.*, 2019; Jurcau; Simion,
16 2022; Ramiro *et al.*, 2018).

17 O inflamassoma NLRP3 é um complexo proteico multimérico expresso
18 principalmente por células da imunidade inata e por uma variedade de outras células,
19 como micróglia, linfócitos, células epiteliais, osteoblastos e neurônios (Rada *et al.*, 2014;
20 Zahid *et al.*, 2019). A proteína NLRP3 é um receptor de reconhecimento de padrões
21 (PRR) citosólico que funciona como uma proteína sensora, respondendo a padrões
22 moleculares associados a patógenos (PAMPs) ou padrões moleculares associados a danos
23 (DAMPs) gerados por estresse endógeno (Kelley *et al.*, 2019). Sua ativação pode ser via
24 canônica e não canônica. A ativação pela via canônica ocorre quando DAMPs ou outros
25 distúrbios citosólicos estéreis são detectados como a proteína β -amilóide, efluxo de
26 potássio, EROs, ATP, glicose, ácido hialurônico, cristais de ácido úrico, cristais de
27 colesterol, radiação ultravioleta, entre outros. A ativação via não canônica ocorre quando
28 PAMPs de bactérias [como o lipopolissacarídeo (LPS), ácido lipoteicoico, peptidoglicano
29 e flagelina], vírus, fungos e parasitas são reconhecidos pelos RRs. Estímulos
30 metabólicos e oxidativos são centrais na ativação crônica do NLRP3. O estresse
31 oxidativo, o efluxo iônico de potássio, a presença de ATP extracelular e o dano
32 mitocondrial que gera EROs reforçam sua ativação (Mo *et al.*, 2025). O dano
33 mitocondrial libera DAMPs específicos, como o DNA mitocondrial oxidado e a

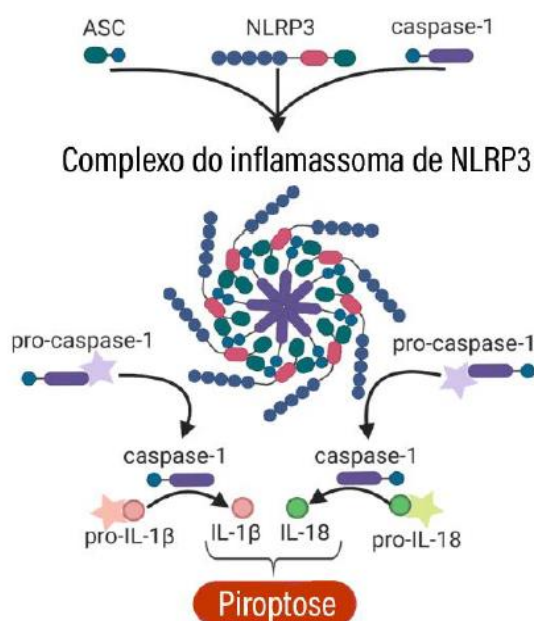
1 cardioplipina, que interagem com o NLRP3. O ATP extracelular, liberado por células
 2 morrendo, age via receptor purinérgico P2X7, um canal iônico que, ao se abrir, permite
 3 o efluxo massivo de potássio (Halle *et al.*, 2008).

4 As proteínas que compõem o inflamassoma NLRP3 incluem a proteína
 5 semelhante a *speck* associada a apoptose (ASC), caspase-1, IL-1 β e IL-18. A ASC
 6 associa-se ao receptor NLRP3 e à pró-caspase-1, formando o complexo do inflamassoma
 7 NLRP3. A pró-caspase-1 é ativada em caspase-1, que por sua vez catalisa a clivagem da
 8 pró-IL-1 β e da pró-IL-18 em IL-1 β e IL-18 ativas, respectivamente (Manji *et al.*, 2002;
 9 Liu *et al.*, 2021). A caspase-1 também cliva a Gasdermina D (GSDMD) que induz a
 10 piroptose pela formação de poros na membrana plasmática das células, liberando DAMPs
 11 e desencadeando uma resposta inflamatória (Shi *et al.*, 2015).

12

13

Figura 1 - Componentes do inflamassoma NLRP3



14

15 Uma estrutura multimérica de alto peso molecular composta pelo NLRP3, ASC e pro-caspase-1 leva à
 16 ativação proteolítica da enzima caspase-1, a qual converte a pro-IL-1 β e pro-IL-18 em formas ativas.
 17 NLRP3: receptor do tipo domínio de oligomerização de ligação a nucleotídeos (NOD) contendo domínio
 18 pirina 3 (NLRP3); ASC: Proteína Associada a Apoptose contendo CARD; IL: Interleucina.

19 Fonte: Adaptado de O'Brien, *et al.* (2020).

20

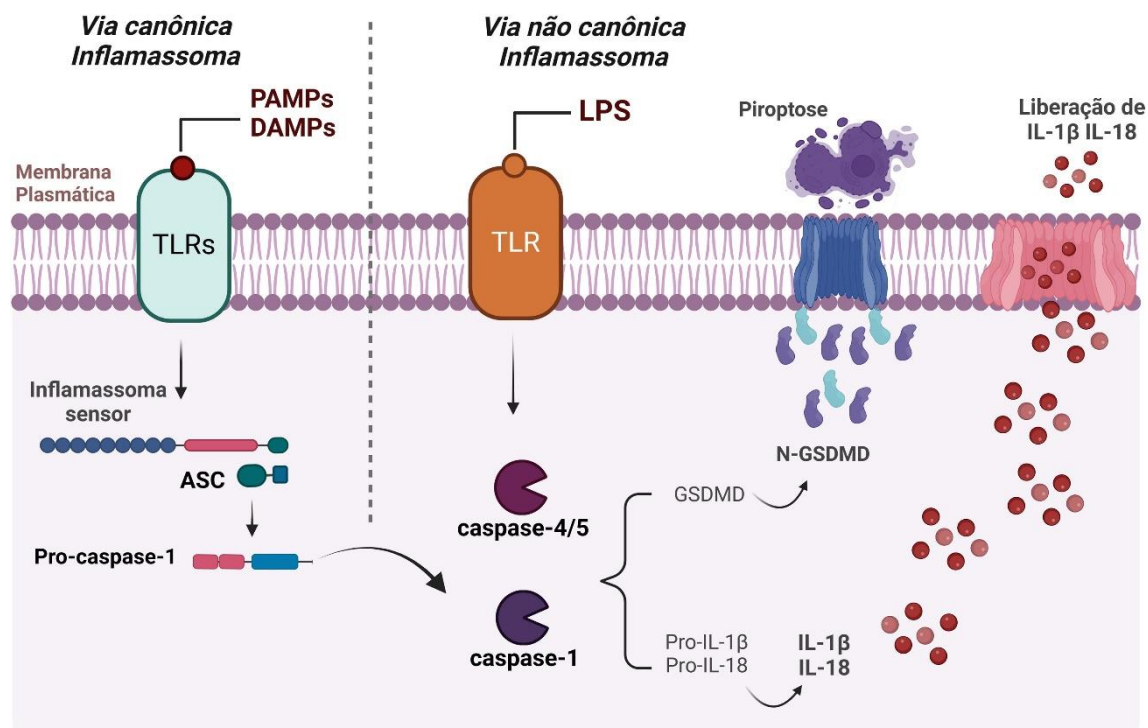
21

22

23

24

1 Figura 2 - Representação esquemática da ativação canônica e não canônica do
 2 inflamassoma.



6 A formação do inflamassoma via canônica ocorre quando PAMPs, DAMPs ou outros distúrbios citosólicos
 7 são detectados, resultando no recrutamento e ativação da caspase-1, seja diretamente ou por meio do
 8 recrutamento da proteína adaptadora ASC. A caspase-1 inicia o processo de maturação da pró-IL-1 e pró-
 9 IL-18 em suas formas ativas, além de clivar GSDM-D. Esta, por sua vez, interage com a membrana
 10 plasmática, criando poros e resultando na liberação do conteúdo intracelular, incluindo as citocinas
 11 inflamatórias IL-1 e IL-18. A ativação do inflamassoma não canônico inicia-se com a detecção de LPS
 12 citosólico pelas caspase-4/caspase-5, desencadeando a clivagem da GSDM-D e subsequente piroptose.
 13 PAMPs: padrões moleculares associados a patógenos; DAMPs: padrões moleculares associados a dano;
 14 ASC: *Apoptosis-associated Speck-like protein Containing a CARD*; GSDM-D: Proteína Gasdermina D;
 15 IL: interleucina; LPS: lipopolissacarídeo.

16 Fonte: Ramos et al. (2025).

17
 18 O papel da via NLRP3/IL-1 β na angiogênese é, notavelmente, dúbio e dependente
 19 do contexto. Em cenários de reparo tecidual agudo, como em feridas cutâneas, a IL-1 β
 20 pode ser pró-angiogênica ao induzir a expressão do VEGF em várias células, promovendo
 21 a proliferação e migração de células endoteliais. Contudo, em contextos de inflamação
 22 crônica, como na aterosclerose ou em doenças renais, a ativação persistente do
 23 inflamassoma exerce um efeito predominantemente antiangiogênico e disfuncional. As
 24 citocinas IL-1 β e IL-18 interferem negativamente na função endotelial, diminuem a
 25 biodisponibilidade de NO e promovem um estado de ativação endotelial pró-trombótico
 26 e pró-inflamatório, o que prejudica a formação de uma rede vascular funcional e estável
 27 (Kelley *et al.*, 2019;).

1 1.5 Importância do inflamassoma no AVCI

2
3 O inflamassoma NLRP3 assume um papel patofisiológico central no AVCI,
4 funcionando como sensor primário de lesão neuronal e mediador crítico da
5 neuroinflamação. Durante episódios isquêmicos, a interrupção do fluxo sanguíneo
6 cerebral desencadeia hipoxia tecidual e morte celular massiva, liberando sinais de dano
7 molecular (DAMPs) que ativam o complexo inflamatório em células residentes do
8 sistema nervoso central (Rezende *et al.*, 2025;).

9 A ativação do NLRP3 no cérebro induz neuroinflamação específica, sendo
10 predominantemente detectada em micróglia ativada, astrócitos reativos e,
11 surpreendentemente, em populações neuronais específicas. Esta distribuição celular
12 diferencial sugere mecanismos de ativação e função adaptados ao microambiente
13 neuronal. A montagem do complexo inflamatório resulta na ativação da caspase-1 e
14 processamento das interleucinas pró-inflamatórias, iniciando uma cascata
15 neuroinflamatória que amplifica progressivamente o dano neuronal inicial por meio de
16 mecanismos autoperpetuantes, aumentando sua permeabilidade e facilitando a infiltração
17 de leucócitos periféricos (neutrófilos, monócitos) no parênquima cerebral, o que agrava
18 o edema e a inflamação (Kelley *et al.*, 2019). Além disso, a IL-1 β pode induzir a morte
19 de neurônios e oligodendrócitos, aumentar a expressão de moléculas de adesão em células
20 endoteliais e promover um ambiente pró-trombótico, potencialmente piorando a oclusão
21 vascular na zona de penumbra. A piroptose de células da micróglia e de neurônios
22 contribui ainda mais para a liberação de mediadores inflamatórios, perpetuando o ciclo
23 de neuroinflamação e morte celular (Silva *et al.*, 2024).

24 O processo inflamatório mediado pelo NLRP3 transcende a simples liberação de
25 citocinas, promovendo morte celular inflamatória pelo mecanismo de piroptose. Este
26 mecanismo, embora inicialmente benéfico para eliminação de células comprometidas,
27 pode intensificar dramaticamente a lesão cerebral quando inadequadamente regulado
28 (Silva *et al.*, 2024). Proteínas plasmáticas relacionadas ao NLRP3, incluindo GSDMD e
29 fragmentos de caspase-1, são biomarcadores funcionais para desfecho pós-AVCI. Estes
30 marcadores emergem como ferramentas diagnósticas potenciais para estratificação de
31 risco e monitoramento terapêutico.

32 A montagem do inflamassoma NLRP3 compromete criticamente a integridade da
33 BHE, estrutura essencial para manutenção da homeostase neuronal. A ativação do
34 NLRP3 em neurônios impulsiona neuroinflamação em AVCI agudo, com bloqueio

1 precoce protegendo contra lesão por isquemia/reperfusão através da estabilização da
2 BHE. As interleucinas IL-1 β e IL-18 promovem disfunção endotelial cerebral,
3 aumentando a permeabilidade vascular e facilitando a infiltração de células e substâncias
4 potencialmente neurotóxicas. Este comprometimento da BHE exacerba o edema cerebral
5 e amplifica a inflamação local, contribuindo significativamente para o agravamento
6 clínico (Kelley *et al.*, 2019).

7 A ativação do NLRP3 não se limita à fase aguda. A inflamação crônica mediada
8 por essa via pode prejudicar os processos de reparo e recuperação neurológica a longo
9 prazo, incluindo a neurogênese, a sinaptogênese e a remodelação vascular. O ambiente
10 pró-inflamatório persistente pode inibir a diferenciação de precursores neurais e
11 promover a formação de uma cicatriz glial que impede a regeneração axonal. Portanto, a
12 inibição do inflamassoma NLRP3 emergiu como uma estratégia terapêutica altamente
13 promissora para o AVCI. Um estudo pré-clínico em modelos animais demonstrou que a
14 inibição farmacológica ou genética do NLRP3, ASC ou caspase-1 resulta em menor
15 volume de infarto, redução do edema cerebral, melhora da função neurológica e melhor
16 recuperação a longo prazo (Lima *et al.*, 2023). A terapia focada no inflamassoma ainda
17 enfrenta desafios de translação clínica, como a janela terapêutica estreita e a necessidade
18 de compostos que atravessem eficientemente a BHE.

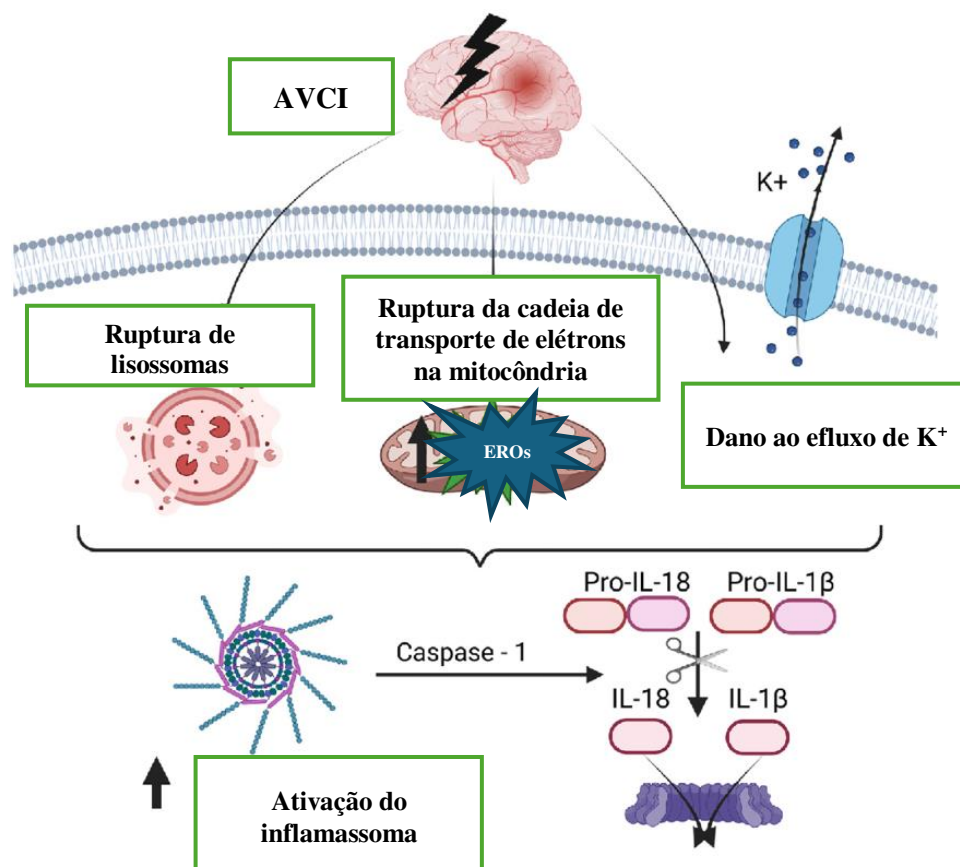
19 O inflamassoma NLRP3 é altamente expresso no cérebro e na medula espinhal e
20 desempenha um papel fundamental na modulação da resposta inflamatória à lesão
21 isquêmica (Liu *et al.*, 2018). O inflamassoma NLRP3 contribui para a lesão das células
22 cerebrais por meio de diversos mecanismos. Na aterosclerose, um processo subjacente
23 que medeia o AVCI, o NLRP3 é ativado dentro das células espumosas por EROs liberadas
24 pela ruptura dos lisossomos, levando ao aumento da liberação de citocinas inflamatórias,
25 como IL-18 e IL-1 β (Hua *et al.*, 2013). As citocinas pró-inflamatórias IL-1 β e IL-18
26 promovem a produção de interferon (IFN)- γ , disfunção endotelial cerebral, aumento da
27 permeabilidade vascular e facilitam a infiltração de células e substâncias potencialmente
28 neurotóxicas. A IL-18 promove a necrose das células musculares lisas vasculares,
29 liberando MMPs teciduais que desestabilizam a estabilidade da placa, aumentando a
30 tendência aterotrombótica e oclusiva (Zheng *et al.*, 2013). Além disso, a MMP-9 causa
31 comprometimento da BHE, o que exacerba o edema cerebral e amplifica a inflamação
32 local, contribuindo significativamente para a piora clínica (Kelley *et al.*, 2019; Iadecola;
33 Anrather, 2011; Fann *et al.*, 2013; Creagh, 2014; Dinarello, 2009).

1 A investigação aprofundada do inflamassoma NLRP3 na fisiopatologia do AVCI
2 é justificada por um corpo robusto e crescente de evidências que o posicionam como um
3 pivô central na cascata de dano secundário que define o prognóstico do paciente. Sua
4 relevância transcende a de um mero participante da resposta inflamatória, estabelecendo-
5 o como um sensor primário para os DAMPs liberados maciçamente no microambiente
6 isquêmico e um amplificador crítico da neuroinflamação estéril. A ativação do NLRP3
7 em micróglia e outras células do SNC não apenas desencadeia a produção de citocinas
8 citotóxicas, mas também induz a piroptose, uma forma de morte celular altamente
9 inflamatória que contribui diretamente para a expansão da lesão para a zona de penumbra,
10 a área de tecido cerebral que é potencialmente salvável (Rezende *et al.*, 2025).

11 O impacto do NLRP3 vai além do parênquima cerebral, afetando criticamente a
12 unidade neurovascular. A inflamação mediada pela IL-1 β compromete a integridade da
13 BHE, exacerbando o edema vasogênico, e influencia negativamente os processos de
14 reparo angiogênico, essenciais para a restauração do fluxo sanguíneo e a recuperação
15 funcional (Kelley *et al.*, 2019). O sucesso consistente da inibição do inflamassoma em
16 modelos pré-clínicos, resultando em neuroproteção significativa (Silva *et al.*, 2024; Lima
17 *et al.*, 2023), e a validação clínica da via IL-1 β em DCVs (Ridker *et al.*, 2017), reforçam
18 a premissa de que modular a atividade do NLRP3 representa uma das estratégias
19 terapêuticas mais promissoras para mitigar a devastação causada pelo AVCI, justificando
20 plenamente a contínua e intensiva investigação nesta área.

21 A ativação persistente do inflamassoma NLRP3 é amplamente reconhecida como
22 um fator chave na progressão de DCVs crônicas, incluindo a aterosclerose, hipertensão
23 arterial sistêmica e insuficiência cardíaca. O aumento da ativação do inflamassoma
24 contribui para a instabilidade de placas ateroscleróticas, um fator relevante para eventos
25 vasculares agudos como o infarto agudo do miocárdio (IAM). A liberação contínua de
26 mediadores da inflamação promove a degradação da matriz extracelular e a infiltração
27 celular, facilitando a ruptura dessas placas (Toldo *et al.*, 2022). Análises histopatológicas
28 de placas instáveis revelam expressão significativamente elevada de componentes do
29 inflamassoma NLRP3, particularmente em macrófagos da capa fibrosa e do núcleo
30 necrótico, correlacionando-se com adelgaçamento da capa e risco aumentado de ruptura.
31 A formação de cristais de colesterol no núcleo lipídico serve como potente ativador do
32 NLRP3, estabelecendo um ciclo de morte celular, liberação de DAMPs e amplificação da
33 resposta inflamatória local.

1 **Figura 3** - O inflamassoma NLRP3 e o acidente vascular cerebral isquêmico



2

3

4 O acidente vascular cerebral isquêmico (AVCI) induz a ativação do inflamassoma NLRP3. Após um AVCI,
 5 o acúmulo e a liberação de espécies reativas de oxigênio (EROs), danos ao efluxo de K⁺ e ruptura da
 6 membrana lisossomal induzem a ativação do inflamassoma NLRP3. O complexo NLRP3 ativo resulta na
 7 clivagem da caspase-1 e na produção das citocinas pró-inflamatórias interleucina (IL)-1β e IL-18.

8 Fonte: Adaptado de Torices *et al.* (2023).

9

10 Nos processos de trombose vascular, o inflamassoma desempenha um papel
 11 importante no suporte a processos pró-trombóticos, integrando a inflamação local com
 12 disfunções no sistema de coagulação, o que pode aumentar o risco de eventos
 13 cardiovasculares adversos (Mo *et al.*, 2025). A IL-1β induz a expressão de fator tecidual
 14 (TF) em células endoteliais e monócitos, iniciando a cascata de coagulação extrínseca,
 15 enquanto simultaneamente reduz a expressão de trombomodulina e do receptor endotelial
 16 de Proteína C, comprometendo vias anticoagulantes naturais. Adicionalmente, a ativação
 17 plaquetária mediada por IL-18 e a formação de agregados leucócito-plaqueta amplificam
 18 o potencial trombogênico no microambiente inflamatório.

19 O aumento da expressão e ativação desse inflamassoma promove a liberação
 20 constante de mediadores pró-inflamatórios, favorecendo a perpetuação de um estado

1 inflamatório crônico que contribui para a degradação tecidual e disfunção vascular,
2 aspectos ligados a prognósticos clínicos mais desfavoráveis nessas doenças (Toldo *et al.*,
3 2022;). Estudos clínicos demonstraram correlações entre a ativação exacerbada do
4 inflamassoma NLRP3 e biomarcadores de inflamação sistêmica em pacientes com AVCI
5 e doenças ateroscleróticas, sugerindo não apenas seu uso como ferramenta diagnóstica e
6 prognóstica, mas também como um possível alvo para intervenções precoces visando
7 melhorar o desfecho clínico (Panda *et al.*, 2022; Cao *et al.*, 2023)

8 Intervenções que bloqueiam a ação do inflamassoma, suas proteínas adaptadoras
9 ou as vias de sinalização a ele relacionadas demonstraram eficácia significativa na
10 redução da inflamação e na proteção da saúde vascular em estudos pré-clínicos. Tais
11 abordagens terapêuticas emergentes indicam o inflamassoma NLRP3 como alvo
12 promissor para o desenvolvimento de tratamentos que podem retardar ou reverter
13 processos inflamatórios nas DCVs (Panda *et al.*, 2022). Entre os inibidores mais
14 promissores, destacam-se o MCC950, que atua bloqueando diretamente a conformação
15 ativa do NLRP3, e compostos derivados de sulfonilureias como a glibenclamida, que
16 interferem na oligomerização do complexo (Karoliny, 2024; Silva *et al.*, 2024; Lima *et al.*,
17 2023). Intervenções não farmacológicas, como exercícios físicos regulares, também
18 demonstraram modular negativamente o *priming* e a ativação do inflamassoma,
19 promovendo um perfil anti-inflamatório sistêmico (Morais *et al.*, 2023; Burini *et al.*,
20 2020).

21

22 1.6 O papel específico do inflamassoma NLRP3 na função endotelial e DCVs

23

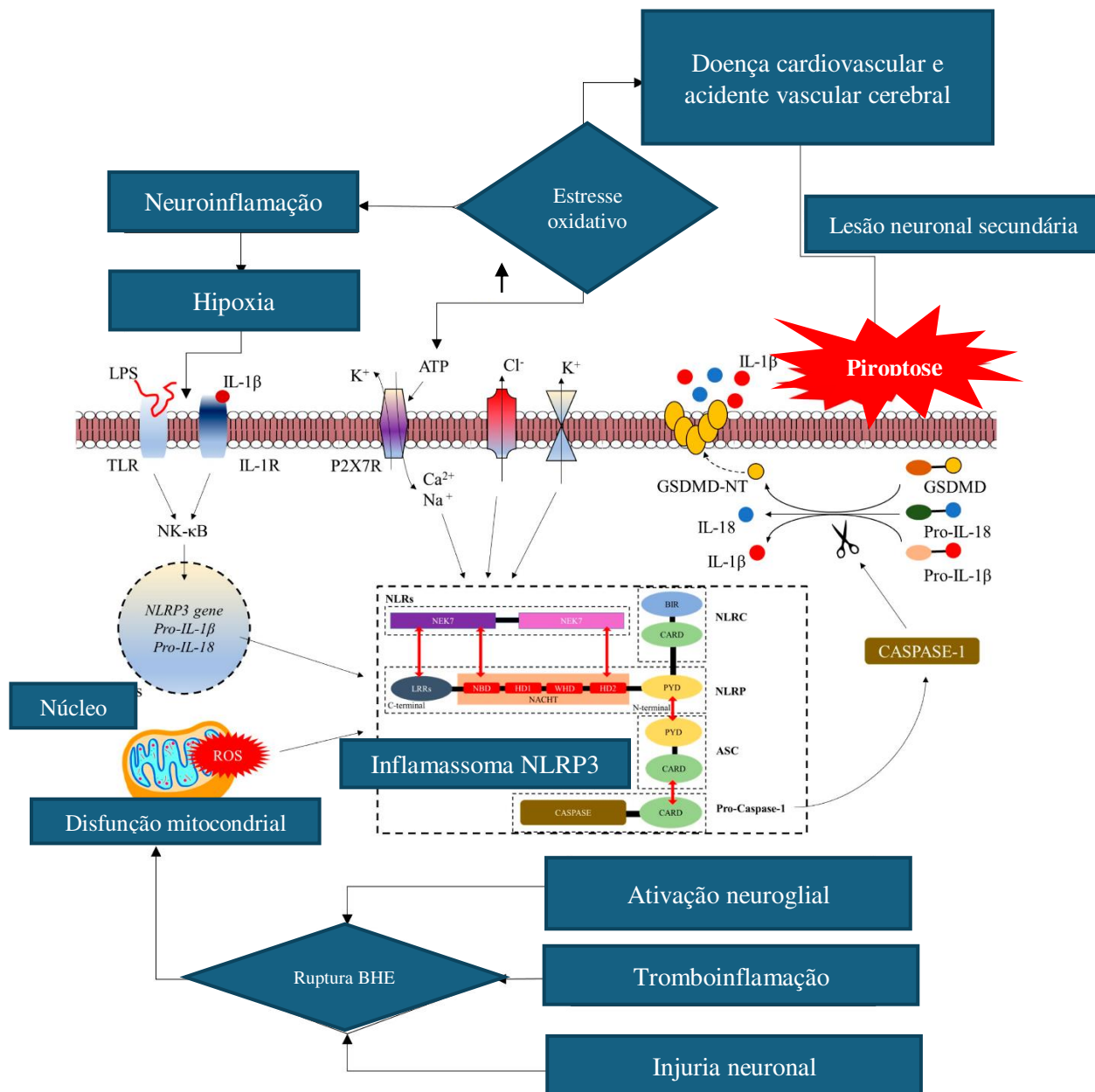
24 O inflamassoma NLRP3 exerce influência determinante sobre a função endotelial,
25 especialmente em contextos de estresse vascular e DCV. Na aterosclerose, a deposição
26 de lipoproteínas de baixa densidade (LDL) na parede do vaso e sua subsequente
27 modificação oxidativa (oxLDL) servem como sinais de *priming* e ativação para o NLRP3
28 em macrófagos. A fagocitose de cristais de colesterol por macrófagos na placa
29 aterosclerótica causa ruptura lisossomal e potente ativação do inflamassoma, levando a
30 uma produção crônica de IL-1 β . Esta citocina é um mediador central da inflamação da
31 placa, promovendo a proliferação de células musculares lisas, a degradação da matriz
32 extracelular e a morte celular, tornando a placa instável e propensa à ruptura, o evento
33 que precipita a trombose e síndromes coronarianas agudas (Ridker *et al.*, 2017).

1 Além da aterosclerose, o NLRP3 está implicado na hipertensão, onde a inflamação
2 vascular contribui para o remodelamento e o enrijecimento arterial. Em cardiomiopatias
3 e insuficiência cardíaca, o inflamassoma é ativado em cardiomiócitos e fibroblastos
4 cardíacos em resposta ao estresse mecânico, isquemia ou sobrecarga de pressão,
5 contribuindo para a fibrose cardíaca, hipertrofia patológica e disfunção contrátil. A
6 inibição do NLRP3 em modelos experimentais demonstrou atenuar o remodelamento
7 cardíaco adverso e melhorar a função cardíaca (Mo *et al.*, 2025).

8 Em resposta a certos estresses celulares e/ou tromboinflamação elevada, o
9 aumento do estresse oxidativo induz a ativação do trifosfato de adenosina (ATP), que
10 ativa o receptor do canal iônico purinérgico controlado por ligante 7 (P2X7R), elevando,
11 assim, o influxo de íons de cálcio (Ca^{2+}) e sódio (Na^+) e o efluxo de íons de potássio (K^+).
12 Em seguida, ocorre o aumento da produção de EROs. A produção elevada de EROs
13 também se deve à disfunção mitocondrial mediada pelo estresse oxidativo. Além disso,
14 após estresse fisiológico, o aumento da estimulação dos receptores *toll-like* (TLRs) pelo
15 LPS e do receptor de interleucina (IL)-1 (IL-1R) pela IL-1 β extracelular induziu a
16 ativação do NF- κ B, que subsequentemente elevou a expressão gênica de *NLRP3*, pró-IL-
17 18 e pró-IL-1 β . O inflamassoma NLRP3 ativado medeia a autoclivagem da pró-caspase
18 em caspase-1. A caspase-1 cliva a pró-IL-1 β , a pró-IL-18 e a morte celular mediada por
19 GSDMD em suas formas ativas, levando à piroptose ou morte celular. A ruptura da BHE
20 causada por tromboinflamação elevada, lesão neuronal e ativação de células neurogliciais
21 medeia a disfunção mitocondrial, levando ao aumento da produção de EROs. As EROs
22 ativam o inflamassoma NLRP3, levando à piroptose e lesão neuronal secundária, o que
23 pode resultar no desenvolvimento e progressão da doença cardiovascular e acidente
24 vascular cerebral. Além disso, o estresse oxidativo celular também causa hipóxia, seguida
25 pela ativação da via do fator nuclear NF- κ B, que subsequentemente leva à inflamação do
26 NLRP3 (Che Mohd Nassir *et al.*, (2023). Estes mecanismos estão ilustrados na Figura
27 4.

28
29
30
31
32
33
34

1 Figura 4 - Mecanismos de ativação do inflamassoma NLRP3 e seu papel nas
 2 doenças cardiovasculares



Em resposta a certos estresses celulares e/ou tromboinflamação elevada, o aumento do estresse oxidativo induz a ativação do trifosfato de adenosina (ATP), que ativa o receptor do canal iônico purinérgico controlado por ligante 7 (P2X7R), elevando, assim, o influxo de íons de cálcio (Ca^{2+}) e sódio (Na^+) e o efluxo de íons de potássio (K^+). Em seguida, ocorre o aumento da produção de espécies reativas de oxigênio (EROs). A produção elevada de EROs também se deve à disfunção mitocondrial mediada pelo estresse oxidativo. Além disso, após estresse fisiológico, o aumento da estimulação dos receptores *toll-like* (TLRs) pelo lipopolissacarídeo (LPS) e do receptor de interleucina (IL)-1 (IL-1R) pela IL-1 β extracelular induziu a ativação do fator nuclear *kappa* B (NF- κ B), que subsequentemente elevou a expressão gênica de *NLRP3*, pró-IL-18 e pró-IL-1 β . O inflamassoma NLRP3 ativado medeia a autoclivagem da pró-caspase em caspase-1. A caspase-1 cliva a pró-IL-1 β , a pró-IL-18 e a morte celular mediada por Gasdermina-D (GSDMD) em

1 suas formas ativas, levando à piroptose ou morte celular. A ruptura da barreira hematoencefálica (BHE)
2 causada por tromboinflamação elevada, lesão neuronal e ativação de células neurogliais medeia a disfunção
3 mitocondrial, levando ao aumento da produção de EROs. As EROs ativam o inflamassoma NLRP3,
4 levando à piroptose e lesão neuronal secundária, o que pode resultar no desenvolvimento e progressão da
5 doença cardiovascular e acidente vascular cerebral. Além disso, o estresse oxidativo celular também causa
6 hipóxia, seguida pela ativação da via do fator nuclear NF- κ B, que subsequentemente leva à inflamação do
7 NLRP3.

8 Fonte: Adaptado de Che Mohd Nassir *et. al* (2023).

9 10 1.7 Variações genéticas do *NLRP3*

11
12 Cerca de 60 variantes de nucleotídeo único (SNVs) no gene *NLRP3* foram
13 identificadas e estudos funcionais revelaram que algumas delas podem levar a alterações
14 em sua função, aumentando (ganho de função) ou diminuindo (perda de função) a
15 ativação do inflamassoma e os níveis de IL-1 β (Wu *et al.*, 2021). O gene *NLRP3* está
16 localizado na região cromossômica 1q43-q44 e contém 3 kilobases a montante do sítio de
17 início da transcrição (éxons e íntrons) e 2 kilobases a jusante do códon de parada (total
18 de 37.953 kilobases). Diferentes estudos relataram a associação de variantes do gene
19 *NLRP3* com doenças autoimunes, inflamatórias, cardiovasculares e metabólicas (Wu *et*
20 *al.*, 2021; Lee; Bae, 2016; Schunk *et al.*, 2021; Wang *et al.*, 2015). A Figura 5 ilustra a
21 estrutura de éxons e íntrons do gene *NLRP3* e as principais variantes genéticas
22 identificadas.

23 A variante rs10754558 (C>G), localizada na região 3' não transcrita (3'UTR) do
24 gene *NLRP3*, tem um certo impacto na estabilidade do mRNA, uma vez que o alelo
25 minoritário (G) aumenta a expressão do mRNA do *NLRP3* em 1,3 vezes e sua estabilidade
26 em comparação com o outro alelo mais frequente (C), além de aumentar a expressão de
27 componentes da via de sinalização NLRP3-IL-1 β (Hitomi *et al.*, 2009). Na presença do
28 alelo G, há um sítio de ligação para o micro-RNA (miR)-3529-3p e miR- 549a, enquanto
29 o alelo C anula tal sítio, mas dá origem a um sítio de ligação para miR-146a- 5p, miR-
30 146b-5p, miR-589-5p e miR-7153-5p (Addobbati *et al.*, 2017).

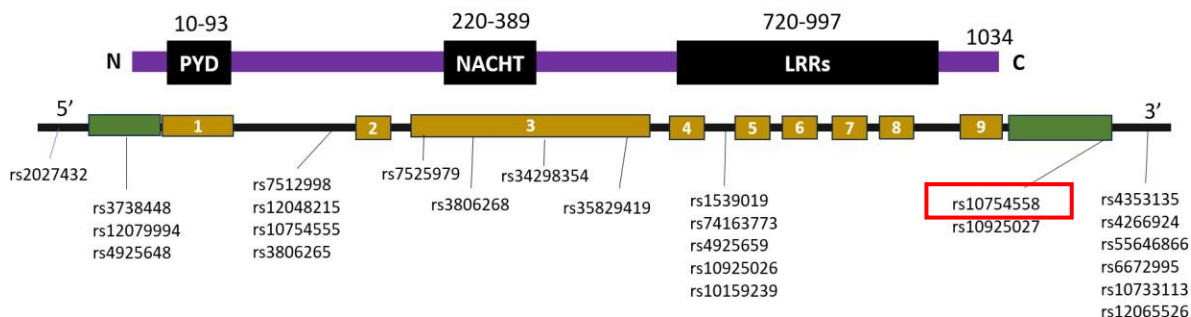
31
32
33
34
35 Figura 5 - Estrutura de éxons e íntrons do gene *NLRP3* e as principais variantes

1 genéticas identificadas.

2

3

NLRP3 (1q44)



4

5 O gene *NLRP3* está localizado no cromossomo 1 (1q44), possui uma região C-terminal com o domínio
 6 LRRs e uma região N-terminal com o domínio PYD, possui nove exons e mais de 60 variantes de um único
 7 nucleotídeo que estão associados a diferentes níveis de ativação do complexo, como ganho ou perda de
 8 função. Especificamente, a variante *NLRP3* rs10754558 G>C está localizada na região 3' não transcrita
 9 (3'UTR) e aumenta a estabilidade do mRNA do *NLRP3* e, portanto, a expressão do *NLRP3*. O tamanho
 10 dos exons é proporcional dentro cada região de codificação. O tamanho dos íntrons não é proporcional. O
 11 número de aminoácidos é indicado acima dos domínios principais. PYD: Domínio pirin; NACHT: domínio
 12 de ligação a nucleotídeos; LRRs: domínio de oligomerização, repetições ricas em leucina.

13 Fonte: Adaptado de Fernandes *et al.* (2020).

14

15 Até o momento, estudos sobre possíveis associações entre variantes genéticas do
 16 *NLRP3* e DCVs revelaram resultados contraditórios. Um estudo demonstrou uma
 17 associação significativa entre a variante *NLRP3* rs10754558 e a ocorrência e gravidade
 18 da doença arterial coronariana, bem como aumentos nas concentrações séricas de IL-1 β
 19 (Zhou *et al.*, 2016). A variante *NLRP3* rs4612666 aumentou a suscetibilidade ao AVCII
 20 subtipo LAAS ao influenciar a vulnerabilidade da placa (Cheng L. *et al.*, 2018). Em outro
 21 estudo, não foram observadas diferenças significativas na frequência dos genótipos
 22 *NLRP3* rs10754558 ou *CARD8* rs2043211 em pacientes com AVCII em comparação com
 23 controles. No entanto, após estratificação por sexo, os resultados mostraram que homens
 24 portadores dos alelos *CARD8* rs2043211 AT e *NLRP3* rs10754558 CG (ambos genótipos
 25 heterozigotos) apresentaram probabilidade sete vezes maior de desenvolver AVCII em
 26 comparação com mulheres, quando aplicado um modelo genético codominante e a análise
 27 de regressão logística (Lv *et al.*, 2020). Kumar *et al.* (2022) descobriram que um haplótipo
 28 putativo de susceptibilidade GTGTA dentro do gene *NLRP3* conferia um risco duas vezes
 29 maior de AVCII em portadores e potencializava o aumento dos níveis de Proteína C

1 Reativa (PCR) e IL-1 β de maneira dose-dependente. Por outro lado, outro estudo que
2 testou variantes de *NLRP3* não conseguiu confirmar esse resultado (Zhao *et al.*, 2016).

3 4 1.8 Acidente vascular cerebral isquêmico e distúrbios da coagulação

5
6 Em paralelo, o AVCI também ativa as cascatas de hemostasia, coagulação,
7 formação de coágulos de fibrina e fibrinólise, além de disfunções endoteliais (Wiseman
8 *et al.*, 2014; Lehmann *et al.*, 2021a), refletindo um estado de tromboinflamação que
9 conecta inflamação e hemostasia, contribuindo para a progressão do dano neuronal.
10 Níveis elevados do fator de von Willebrand (vWF) e do fibrinogênio, juntamente com
11 níveis reduzidos de anticoagulantes naturais, incluindo proteína C, proteína S e
12 antitrombina, são biomarcadores associados a um risco aumentado de progressão,
13 desfecho e prognóstico do AVCI (Alakbarzade *et al.*, 2018; Lehmann *et al.*, 2021; Donkel
14 *et al.*, 2019; Tzoulaki *et al.*, 2007). No entanto, ainda não se compreende completamente
15 como esses mediadores interagem com as variações genéticas no inflamassoma.

16 Portanto, considerando os mecanismos fisiopatogênicos subjacentes ao AVCI e a
17 conexão relatada entre inflamação e coagulação, este estudo se justifica pela necessidade
18 de identificar mecanismos biológicos que nos permitam compreender por que alguns
19 pacientes desenvolvem maior gravidade ou incapacidade funcional após um AVCI. A
20 elucidação das vias que conectam a inflamação e a coagulação ao componente genético
21 do inflamassoma *NLRP3* pode contribuir para o aprimoramento de modelos prognósticos,
22 apoiar o desenvolvimento de estratégias terapêuticas individualizadas, assim como
23 sugerir novas perspectivas sobre a fisiopatologia do AVCI. Nesse contexto, o objetivo
24 deste estudo foi investigar a contribuição da variante genética *NLRP3* rs10754558, bem
25 como de biomarcadores inflamatórios e hemostáticos, para o prognóstico clínico de
26 pacientes com AVCI, avaliando a interação entre essas vias e seu impacto nos desfechos
27 pós-AVC.

28
29
30
31
32

1 1.9 Hipóteses do Estudo

2

3 Algumas hipóteses que justificam a realização do estudo são:

4

- 5 • A variante *NLRP3* rs10754558 está associada a maior ativação inflamatória
- 6 sistêmica em pacientes com AVCI.
- 7 • A presença de perfis inflamatórios e hemostáticos mais intensos está relacionada
- 8 a pior prognóstico clínico após o AVCI.
- 9 • A inflamação sistêmica atua como mediadora central entre a variação genética
- 10 do inflamassoma NLRP3 e a ativação hemostática, contribuindo para os
- 11 desfechos clínicos observados.
- 12 • A integração do genótipo *NLRP3* rs10754558 com biomarcadores inflamatórios
- 13 e hemostáticos permite identificar subgrupos de pacientes com maior risco de
- 14 evolução desfavorável após o AVCI.

15

16

17

18

19

20

21

22

23

24

25

26

27

28

29

30

31

32

33

2 JUSTIFICATIVA

O AVCI resulta de um conjunto complexo de mecanismos fisiopatológicos que envolve inflamação sistêmica, ativação hemostática e fatores genéticos associados à resposta imune inata. Entre esses mecanismos, o inflamassoma NLRP3 destaca-se como um componente molecular capaz de integrar sinais de dano tecidual e desencadear respostas inflamatórias amplificadas. Evidências recentes indicam que variantes genéticas que modulam a atividade do NLRP3 podem influenciar tanto a intensidade da inflamação pós-AVCI quanto a evolução clínica do paciente. Nesse contexto, a variante *NLRP3* rs10754558 (C>G), localizada na região 3'UTR do gene, tem sido associada à regulação da estabilidade do mRNA e à modulação da produção de IL-1 β (Hitomi *et al.*, 2009), sugerindo um possível impacto sobre a resposta inflamatória após o evento isquêmico.

Paralelamente, distúrbios da coagulação e hiperativação hemostática desempenham papel central na progressão do dano neuronal, refletindo um estado de trombo-inflamação que conecta inflamação e hemostasia. Biomarcadores inflamatórios e de coagulação têm sido associados a pior prognóstico, porém ainda não está completamente esclarecido como esses mediadores interagem com variações genéticas do inflamassoma. A lacuna de conhecimento reside, portanto, na compreensão integrada de como fatores genéticos, inflamatórios e hemostáticos se articulam para influenciar o desfecho clínico do AVCI.

Diante desse cenário, este estudo justifica-se pela necessidade de identificar mecanismos biológicos que permitam compreender por que alguns pacientes evoluem com maior gravidade ou incapacidade funcional após o AVCI. A elucidação de vias que conectam a inflamação e a coagulação ao componente genético do inflamassoma NLRP3 pode contribuir para o refinamento de modelos prognósticos, apoiar o desenvolvimento de estratégias terapêuticas individualizadas e sugerir novas perspectivas sobre a fisiopatologia do AVCI.

Assim, ao propor uma abordagem integrada que conecta genética, inflamação e hemostasia, este estudo pretende não apenas ampliar o entendimento da fisiopatologia do AVCI, mas também contribuir para a identificação de potenciais biomarcadores prognósticos e vias terapêuticas emergentes.

1 **3 OBJETIVOS**

2

3 3.1 Objetivo Geral

- 4 • Investigar a contribuição da variante genética *NLRP3* rs10754558 (C>G), bem
5 como de biomarcadores inflamatórios e hemostáticos, para o prognóstico clínico
6 de pacientes com AVCI, avaliando a interação entre essas vias e seu impacto nos
7 desfechos pós-AVCI.

8

9 3.2 Objetivos Específicos

- 10 • Determinar a frequência dos genótipos e alelos da variante *NLRP3* rs10754558
11 (C>G) em pacientes com AVCI;
- 12 • Avaliar a associação da variante *NLRP3* rs10754558 (C>G) com biomarcadores
13 inflamatórios e hemostáticos em pacientes com AVCI;
- 14 • Investigar a relação entre esses biomarcadores (inflamatórios e hemostáticos) e os
15 desfechos clínicos pós-AVCI;
- 16 • Examinar se a inflamação sistêmica medeia a relação entre a variante *NLRP3*
17 rs10754558 (C>G), a ativação hemostática e o prognóstico clínico do AVCI;
- 18 • Identificar possíveis perfis combinados (genéticos, inflamatórios e hemostáticos)
19 que possam contribuir para a estratificação prognóstica de pacientes com AVCI.

20

21

22

23

24

25

26

27

28

29

30

31

32

1 **4 MATERIAIS E MÉTODOS**

2 4.1. Aspectos Éticos

3 O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres
4 Humanos da Universidade Estadual de Londrina (UEL) (CAAE 0176.0.268.000-10,
5 Parecer CEP/UEL 181/2010, Anexo 1). Os indivíduos foram convidados a participar
6 voluntariamente da pesquisa e um termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) foi
7 obtido dos indivíduos envolvidos na pesquisa ou de seus responsáveis (Apêndice 1A e
8 1B).

9

10 4.2. Delineamento

11 Foi realizado um estudo observacional, descritivo, prospectivo de prognóstico.

12

13 4.3 População

14 Foram convidados a participar do estudo pacientes com provável diagnóstico
15 de AVCI agudo, adultos, de ambos os sexos, que deram entrada no Pronto Socorro do
16 Hospital Universitário da UEL (HU/UEL), em Londrina, Paraná. O convite foi realizado
17 de forma consecutiva, no período de janeiro de 2013 a janeiro de 2015.

18

19 4.4 Critérios de Exclusão

20 Foram seguidos os seguintes critérios de exclusão: pacientes que se recusaram a
21 participar do estudo; presença de processo inflamatório agudo, autoimune ou infeccioso;
22 pacientes em uso crônico de corticosteroides ou imunossupressores; portadores de doença
23 renal crônica, hepatopatia crônica, neoplasias, doença de Alzheimer, doença de
24 Parkinson; os que apresentaram AIT, AVC hemorrágico ou IAM; pós-operatório
25 imediatos; trauma nos últimos 30 dias; pacientes com dados incompletos ou que não
26 tinham amostra biológica para as análises laboratoriais previstas.

27 4.5 Amostra

28 Trata-se de uma amostra consecutiva, de conveniência de tempo e local, com a
29 inclusão, prospectivamente, de 134 pacientes com AVCI agudo, diagnosticados pelo
30 exame clínico e TC de crânio e/ou RNM. O AVCI agudo foi diagnosticado como déficit
31 focal ao exame neurológico, com ou sem distúrbio de consciência; início súbito, agudo

1 ou rapidamente progressivo que persistiu por >24 horas confirmado por TC de crânio
2 e/ou RNM. Os subtipos de AVCI foram classificados segundo os critérios definidos pelo
3 TOAST, que inclui 5 categorias dependendo dos dados clínicos, dos exames laboratoriais
4 e de imagem, tais como LAAS, CEI, LAC, ODE e UDE (Adams *et al.*, 1993).

5 A avaliação da gravidade basal do AVCI foi realizada pela NIHSS durante o
6 primeiro atendimento do paciente e categorizada em leve (NIHSS < 5), moderada (NIHSS
7 5–14), ou grave (NIHSS \geq 15) (Brott *et al.*, 1989). A avaliação do estado de incapacidade
8 funcional foi realizada pela escala de Rankin modificada (mRS) (Bonita; Beaglehole,
9 1988) aplicada em até oito horas da admissão no hospital (*baseline*) e os valores foram
10 categorizados em comprometimento funcional leve (mRS <3) e comprometimento
11 funcional moderado/grave (mRS \geq 3), como descrito previamente (Alfieri *et al.*, 2017).

12 Os pacientes foram prospectivamente acompanhados após três meses do
13 evento isquêmico, por meio de consulta ambulatorial ou entrevista telefônica com o
14 paciente ou o mais próximo dele ou responsável, quando apropriado (OH *et al.*, 2011).
15 Neste momento, foram coletados dados sobre os cuidados médicos recebidos durante o
16 período de seguimento, o estado funcional após o AVCI ou a mortalidade, de acordo com
17 o instrumento descrito no Apêndice 1C. No caso de óbito, o avaliador solicitava a data do
18 mesmo e se foi em decorrência do AVCI ou por outra causa não relacionada ao evento
19 isquêmico. Os pacientes com AVCI foram categorizados como bom (mRS <3) ou pior
20 desfecho (mRS \geq 3) (Park *et al.*, 2015).

21 4.6 Dados demográficos, epidemiológicos, clínicos e de imagem

22 Foram coletados dados demográficos (idade, sexo e etnia), epidemiológicos
23 como fatores de risco associados ao AVCI (hipertensão, sedentarismo, tabagismo,
24 dislipidemia e DM2), antropométricos [peso, altura e índice de massa corporal (IMC)] e
25 clínicos como pressão sanguínea sistólica (PAS), pressão sanguínea diastólica (PAD) e
26 medicamentos em uso no período que antecedeu o evento isquêmico. As medidas
27 antropométricas avaliadas foram peso corporal (kg) e altura (m), obtidas, por
28 interrogatório, durante a aplicação do questionário. O IMC foi calculado como peso (kg)
29 dividido pela altura (m) ao quadrado e expresso em kg/m². PAD e PAS foram obtidas no
30 período da admissão pelo uso de aparelho digital devidamente calibrado e expressas em
31 mmHg.
32

33 PAS \geq 130 mmHg e PAD \geq 90 mmHg ou uso de anti-hipertensivo foram os
34 critérios considerados para definir hipertensão (James *et al.*, 2014). Presença de DM2 foi

1 definida como glicose em jejum ≥ 126 mg/dL e não-jejum ≥ 200 mg/dL e/ou o uso de
2 medicamentos antidiabéticos (*American Diabetes Association*, 2014). Dislipidemia foi
3 definida pela presença de uma ou mais das concentrações anormais de lipídeos no soro,
4 como colesterol total ≥ 200 mg/dL, LDL ≥ 130 mg/dL e lipoproteína de alta densidade
5 (HDL) < 40 mg/dL (Grundy et al. 2019)

6 Os dados foram coletados pela aplicação de um questionário padrão
7 (Apêndice 1C), respondidos pelo paciente ou por seus responsáveis. Os dados foram,
8 também, obtidos por meio de consulta aos prontuários médicos e à base de dados
9 LABHOS do Laboratório de Análises Clínicas do HU/UEL e do Hemocentro Regional
10 de Londrina.

11 Dois desfechos funcionais foram avaliados: incapacidade e mortalidade após três
12 meses. Para o primeiro desfecho, os pacientes foram categorizados como incapacidade
13 leve (mRS < 3) e incapacidade moderada/grave (mRS ≥ 3) (PARK *et al.*, 2015). Os casos
14 de morte (mRS=6) também foram incluídos no grupo de pacientes com mRS ≥ 3 para
15 garantir que usamos uma amostra de estudo não restrita que reflete o resultado geral do
16 prognóstico. No caso de óbito, o avaliador solicitou a data da ocorrência do mesmo. Esses
17 desfechos de mortalidade foram definidos como qualquer causa de morte, com exceção
18 da morte acidental (Wei *et al.*, 2018).

19 O exame de USGD da carótida foi realizado utilizando o aparelho Siemens
20 Acuson X300 com *Doppler* colorido (Siemens, Muenchen, Alemanha). Todos os
21 pacientes foram avaliados pelo mesmo examinador, um médico vascular. A cIMT, como
22 variável contínua (expressa em mm), foi calculada como a média de três medições das
23 artérias carótidas esquerda e direita. Além disso, os pacientes foram classificados de
24 acordo com a cIMT categorizada ($< 0,9$ mm e $\geq 0,9$ mm). A cIMT aumentada foi definida
25 como $\geq 0,9$ mm (Eickemberg et al. 2019; Pirs *et al.*, 2014).

26

27 4.7 Exames Laboratoriais

28 Amostras de sangue periférico, com e sem condições de jejum para os
29 pacientes, foram coletadas nas primeiras 24 horas da admissão no hospital pelos
30 participantes do projeto, segundo a requisição de exames laboratoriais padronizada pelo
31 hospital. Foram coletados 10 mL em tubo de coleta a vácuo sem anticoagulante e dois
32 tubos de 10 mL com anticoagulantes ácido etilenodiaminotetracético e fluoreto. O
33 material foi encaminhado imediatamente ao laboratório para registro, processamento e
34 armazenamento das amostras. Plasma, soro e *buffy coat* foram obtidos após centrifugação

1 (10 min 2500 rpm) e armazenados a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ até o momento das análises quando as
2 amostras não eram analisadas no mesmo dia. Todos os pacientes e controles e suas
3 respectivas amostras foram identificados por número e letra para garantir o anonimato e
4 confidencialidade dos indivíduos e dos resultados obtidos.

5 Os biomarcadores inflamatórios avaliados foram leucócitos periféricos
6 determinados por autoanalisador hematológico (*Auto Hematology Analyzer Mindray*
7 *BC6800, Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics, Shenzhen, China*), PCR
8 determinada por imunoturbidimetria de alta sensibilidade (PCRus) (*Architect C8000,*
9 *Abbott Laboratory, Abbott Park, IL, EUA*) e albumina, determinada por turbidimetria
10 (*Architect C8000, Abbott Laboratory, Abbott Park, IL, EUA*). Os biomarcadores de
11 hemostasia/coagulação foram fibrinogênio determinado pelo método Clauss, proteína C
12 e antitrombina III determinadas pelo ensaio cromogênico, proteína S determinada pelo
13 imunoenensaio ao látex e o FVIII determinado pelo método coagulométrico. O biomarcador
14 de disfunção endotelial foi o FvW mensurado pelo imunoenensaio ao látex. Todos esses
15 biomarcadores foram determinados usando o coagulômetro automatizado (*ACL TOP*
16 *300; Instrumentation Laboratory, Lexington, Massachusetts, EUA*), de acordo com as
17 recomendações do fabricante.

18 Dois escores foram propostos no presente estudo: 1) Índice de Inflamação
19 composto pelo escore z da PCRus (z-PCRus) + escore z da contagem de leucócitos
20 periféricos (z-leucócitos) – escore z da albumina (z-albumina); 2) Desfecho Composto
21 (Escala NIHSS basal, Escala de mRS basal/três meses, mortalidade em três meses).

22 4.8 Genotipagem da Variante rs10754558 do *NLRP3*

23 A variante genética rs10754558 C>G do *NLRP3* foi avaliada por reação em cadeia
24 da polimerase em tempo real (qPCR) pelo método de TaqMan®. Para tanto, foram
25 utilizados ensaios *Taqman® SNP Genotyping Assay 40X* (Applied Biosystems, Foster
26 City, CA, USA) contendo dois *primers* e duas sondas TaqMan® MGB alelo-específicas
27 com um corante repórter na extremidade 5' (VIC® ou FAM®) e *TaqMan® Universal*
28 *Genotyping Master Mix* (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). Os níveis de
29 fluorescência dos produtos da qPCR foram avaliados pelo termociclador QuantStudio®
30 (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA).

31
32
33

1 4.9 Análise Estatística

2 As variáveis categóricas foram expressas como número absoluto (n) e
3 porcentagem (%) e as variáveis contínuas foram expressas como média \pm erro padrão da
4 média (SEM). Análises de tabelas de contingência (teste do χ^2) foram empregadas para
5 verificar as associações entre variáveis categóricas e grupos diagnósticos. O teste de
6 Kolmogorov-Smirnov foi utilizado para avaliar a normalidade da distribuição. A
7 transformação logarítmica (Ln) de dados contínuos foi utilizada na análise quando as
8 variáveis não estavam normalmente distribuídas ou quando havia heterogeneidade de
9 variância, conforme avaliado pelo teste de Levene. As diferenças nas variáveis contínuas
10 entre os grupos foram avaliadas usando análises de variância (ANOVA). A associação
11 dos genótipos da variante *NLRP3* rs10754558 (C>G) com as variáveis de estudo foi
12 avaliada nos modelos genéticos codominante, dominante, recessivo e overdominante. A
13 distribuição dos genótipos foi comparada para o equilíbrio de Hardy-Weinberg.

14 Regressão linear múltipla *stepwise*, regressão logística binária e gráfico de
15 regressão parcial (PLS) foram aplicadas para identificar preditores independentes,
16 determinantes da inflamação e efeitos de mediação. As análises foram controladas por
17 covariáveis que poderiam confundir a associação de interesse. *Odds ratio* (OR) e intervalo
18 de confiança de 95% (IC) foram determinados. Todas as análises estatísticas foram
19 realizadas usando o IBM SPSS, versão do Windows 24. Os testes foram bicaudais e um
20 valor de $p < 0,05$ indicou resultados estatisticamente significativos.

21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34

1 **5 RESULTADOS**

2 Os resultados do presente estudo serão apresentados e discutidos em um artigo
3 original que será submetido a jornais internacionais nas áreas específicas de neurologia,
4 neuroinflamação e imunologia translacional.

5 **Contribution of the *NLRP3* rs10754558 (C>G) variant and inflammatory and** 6 **hemostatic biomarkers to ischemic stroke prognosis**

7 Natalia Scaneiro Boy Sardinha^{1,2}, Tainah Mendes Ahrens¹, Daniela Frizon Alfieri³,
8 Sayonara Rangel Oliveira^{1,4}, Marcell Alisson Batisti Lozovoy^{1,4}, Michael Maes^{5,6,7*} Edna
9 Maria Vissoci Reiche^{1,8}

10

11 ¹ Postgraduate Program of Clinical and Laboratory Pathophysiology, Health Sciences
12 Center, State University of Londrina, Londrina, Paraná, Brazil;

13 ² Department of Clinical Medicine, Health Sciences Center, State University of Londrina,
14 Londrina, Paraná, Brazil;

15 ³ Department of Pharmaceutical Sciences, Health Sciences Center, State University of
16 Londrina, Londrina, Paraná, Brazil;

17 ⁴ Department of Pathology, Clinical Analysis and Toxicology, Health Sciences Center,
18 State University of Londrina, Londrina, PR, Brazil.

19 ⁵ Sichuan Provincial People's Hospital, School of Medicine, Sichuan Provincial Center
20 for Mental Health, University of Electronic Science and Technology of China,
21 Chengdu, 610072 China

22 ⁶ Department of Psychiatry, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, Bangkok,
23 Thailand,

24 ⁷Center of Excellence in Cognitive Impairment and Dementia, Faculty of Medicine,
25 Chulalongkorn University, Bangkok, 10330 Thailand

26 ⁸ Pontifical Catholic University of Paraná, Campus Londrina, School of Medicine,
27 Londrina, Paraná, Brazil;

28

29

30 * Corresponding Author: Prof. Dr. Michael Maes, M.D., Ph.D.

31 Michael Maes, Sichuan Provincial Center for Mental Health, Sichuan Provincial
32 People's Hospital, School of Medicine, University of Electronic Science and

1 Technology of China, Chengdu, 610072, People's Republic of China, Tel +86 028 8102
2 0064, Email michaelmaes@uestc.edu.cn

3

4 Natalia Scaneiro Boy Sardinha, natalia.s.b.sardinha@gmail.com; ORCID: 0009-0000-
5 7330-3764

6 Tainah Mendes Arhens, tainah.m.arhens@uel.br; ORCID: 0000-0003-2851-6634

7 Daniela Frizon Alfieri, frizon.alfieri@gmail.com; ORCID: 0000.0002.0217.9329

8 Sayonara Rangel Oliveira, sayonara@uel.br; ORCID: 0009-0000-7673-2329

9 Marcell Alysson Batisti Lozovoy, lozovoy@uel.br; ORCID: 0000-0002-4023-9548

10 Michael Maes, dr.michaelmaes@hotmail.com; ORCID:0000-0002-2012-871X

11 Edna Maria Vissoci Reiche reiche@sercomtel.com.br; ORCID: 0000-0001-6507-2839

12

13 **Conflict of interest**

14 There is no conflict of interest to declare. None of the authors are involved in the
15 publication process or have a financial or other beneficial interest in the products or
16 concepts mentioned in the submitted manuscript.

17

18 **Compliance with ethical standards**

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

22

23 **Human rights**

24 All procedures performed in this study involving human participants were in accordance
25 with the ethical standards of the Institution and/or National Research Committee and with
26 the World Medical Association 1964 Helsinki Declaration.

27

28 **Standards for reporting**

29 The manuscript was prepared in accordance with the recommendations of the
30 Strengthening the Reporting of Observational studies in Epidemiology (STROBE)
31 guidelines. STROBE is used for observational studies (cohort, case-control, or cross-
32 sectional designs) according to the STROBE statement (www.strobe-statement.org)

33

1 **Consent to participate**

2 Informed consent was obtained from all individual participants included in the study.

3

4

5 **Consent for publication**

6 The studied participants were informed about the present research, and a written consent
7 form was taken from all of them before their enrollment. Moreover, all the authors and
8 co-authors participated and contributed sufficiently in the research, and all of them concur
9 with the submission. The manuscript has been approved by the responsible authorities
10 where the work was carried out. The authors also concur that, if accepted, the manuscript
11 shall not be published elsewhere in the same form in either the same or any other
12 language, without the consent of the Editor of the journal.

13

14 **Availability of data and material**

15 The data and materials are available.

16

17 **Authors' contributions**

18 1) conception and design of the study: EMVR; 2) acquisition of data: NSBS, TMA, DFA,
19 MABL; 3) statistical analysis: DFA, MM; 4) analysis and interpretation of data: NSBS,
20 MM, EMVR; 5) drafting of the manuscript, tables and figures: NCBS, MM, EMVR 6)
21 manuscript review: SRAO, MM, EMVR.

22

23

24

25

26

27

28

29

30

1 ABSTRACT

2

3 **Background:** The interaction between inflammation, hemostatic pathways, and genetic
4 susceptibility in the ischemic stroke (IS) outcomes, particularly involving the *NLRP3*
5 inflammasome, remains incompletely understood. This study investigated the
6 contribution of the *NLRP3* rs10754558 C>G variant, along with inflammatory and
7 hemostatic biomarkers, to clinical after ischemic stroke

8 **Methods:** A total of 134 patients with ischemic stroke were included and stratified
9 according to a composite clinical outcome index (PC outcome) integrating baseline
10 National Institute Health Stroke Scale (NIHSS) and three-month modified Rankin Scale
11 scores, and three-month mortality. Clinical, anthropometric, biochemical, inflammatory,
12 and hemostatic variables were assessed. An Inflammation Index was constructed using
13 values of C-reactive protein, white blood cell count, and inverse albumin levels. *NLRP3*
14 rs10754558 (C>G) genotypes were analyzed using real-time polymerase chain reaction.
15 Stepwise multiple linear regression, binary logistic regression, and partial least squares
16 (PLS) path modeling were applied to identify independent predictors, determinants of
17 inflammation, and mediation effects.

18 **Results:** Patients with worse outcomes were older ($p<0.001$), had lower body mass index
19 (BMI) ($p=0.028$), and exhibited higher Inflammation Index ($p<0.001$) and von
20 Willebrand factor levels ($p=0.002$). Atrial fibrillation was the only categorical variable
21 associated with worse outcome ($p=0.014$). The Inflammation Index was the strongest
22 independent predictor of PC outcome and together with age explained 22.6% ($R^2=0.226$).
23 Factor VIII activity, *NLRP3* GG genotype, Protein C levels, and male sex, collectively
24 explained 24.1% of the variance in the Inflammation Index. Baseline NIHSS and the
25 Inflammation Index predicted three-month mortality ($p<0.001$), while lower BMI and
26 higher inflammation predicted worse clinical outcomes ($p=0.028$ and $p<0.001$,
27 respectively). PLS analysis confirmed that the effects of *NLRP3* genotype, Factor VIII,
28 and Protein C on clinical outcome were mediated through inflammation.

29 **Conclusions:** Systemic inflammation is a central and independent determinant of
30 mortality and unfavorable clinical evolution after ischemic stroke mediating the effects
31 of coagulation imbalance and *NLRP3* genetic background on prognosis. These findings
32 support an integrated inflammation–coagulation–genetic model of ischemic stroke
33 outcomes and highlight inflammation as a potential target for prognostic stratification and
34 therapeutic intervention.

1 **KEYWORDS:** Ischemic stroke; systemic inflammation; NLRP3 inflammasome;
2 coagulation biomarkers; clinical outcome

4 **INTRODUCTION**

5 Stroke remains one of the leading causes of death worldwide and the third cause
6 of death and disability combined, with more than 12 million new strokes and over 6.5
7 million deaths per year, and almost 90% of this burden occurring in low- and
8 middle-income countries. Ischemic stroke (IS) results from the interruption of blood flow
9 to a specific region of the brain, depriving cells of oxygen and nutrients and leading to
10 cell death and brain damage (Feigin *et al.*, 2022).

11 Non-modifiable and modifiable risk factors that may exacerbate IS heritability
12 and trigger stroke are well identified. The non-modifiable factors include old age, female
13 sex, race and ethnicity, family history, and genetic factors, while modifiable risk factors
14 include but are not limited to hypertension, cardiovascular diseases, type 2 diabetes
15 mellitus (T2DM), hypercholesterolemia, atrial fibrillation, smoking, alcohol
16 consumption, physical inactivity, use of oral contraceptives, hyperuricemia, chronic
17 bronchitis, periodontal disease, bacterial and viral infections, and poor dietary lifestyle
18 including high salt intake (Boehme *et al.*, 2017; Connor *et al.*, 2007; Li *et al.*, 2012;
19 O'Donnell *et al.*, 2010; Owolabi *et al.*, 2009; Palm *et al.*, 2009; Pu *et al.*, 2023; Schulz *et*
20 *al.*, 2004; Touzé and Rothwell, 2008;).

21 After the acute IS, a cascade of pathophysiological events is triggered, involving
22 excitotoxicity, oxidative stress, neuroinflammation, blood–brain barrier (BBB) disruption
23 and activation of hemostasis. In this context, the NLRP3 inflammasome has emerged as
24 a key molecular platform integrating damage-associated molecular patterns (DAMPs),
25 promoting caspase-1 activation, interleukin (IL)-1 β and IL-18 release, Gasdermin-D–
26 mediated pyroptosis, and amplification of neuroinflammation, thereby contributing to
27 neuronal death and BBB breakdown (Fann *et al.*, 2018;).

28 More than 60 single nucleotide variants (SNVs) have been identified in the *NLRP3*
29 gene, and functional studies show that some of them modify inflammasome activation
30 and IL-1 β production (Wu *et al.*, 2021). The rs10754558 variant, located in the 3'
31 untranslated region (3'UTR), increases NLRP3 mRNA stability and expression, and has
32 been associated with susceptibility to a range of autoimmune, inflammatory,
33 cardiovascular, and metabolic diseases, suggesting a potential impact on vascular and
34 cerebrovascular risk (Hitomi *et al.*, 2009; Wu *et al.*, 2021).

1 Previous studies evaluating *NLRP3* variants in cardiovascular and cerebrovascular
2 diseases have reported heterogeneous results. Certain variants, including rs10754558 and
3 rs4612666, have been associated with increased risk or severity of coronary artery disease
4 and large-artery atherosclerotic stroke, and with higher IL-1 β or C-reactive protein (CRP)
5 levels, while other cohorts did not confirm these associations or showed effects restricted
6 to specific haplotypes or sex strata (Cheng *et al.*, 2018; Lv *et al.*, 2020; Kumar *et al.*,
7 2022; Zhao *et al.*, 2016; Zhou *et al.*, 2016).

8 In parallel, multiple inflammatory and hemostatic biomarkers, such as CRP, IL-6,
9 fibrinogen, D-dimer, von Willebrand factor (vWF), and reduced natural anticoagulants
10 (protein C, protein S, and antithrombin), have been linked to worse functional outcome
11 and higher short-term mortality after IS, supporting a thrombo-inflammatory model that
12 integrates inflammation and coagulation in IS prognosis (Alakbarzade *et al.* 2018; Donkel
13 *et al.*, 2019; Tzoulaki *et al.*, 2007). However, it is still unclear how *NLRP3* genetic
14 variation, systemic inflammation, and hemostatic imbalance interact to shape clinical
15 outcomes after IS. Therefore, this study aimed to investigate the contribution of the
16 *NLRP3* rs10754558 C>G variant and of inflammatory and hemostatic biomarkers to the
17 clinical prognosis of patients with IS, exploring the interplay between these pathways and
18 their impact on post-IS outcomes.

19 20 **METHODS**

21 This study included 134 eligible participants of both sexes with acute neurological
22 signs or symptoms attributed to IS, confirmed by brain computed tomography and clinical
23 examination. The patients with IS were recruited at the emergency room of the University
24 Hospital, State University of Londrina in Londrina, Paraná, from January 2017 to January
25 2018.

26 The IS subtypes were classified according to the Trial of Org in 10172 Acute
27 Stroke Treatment (TOAST) criteria (Adams *et al.*, 1993); the baseline severity was
28 determined using National Institute Health Stroke Scale (NIHSS) and categorized as mild
29 (NIHSS < 5), moderate (NIHSS 5–14), or severe (NIHSS \geq 15) (Brott *et al.*, 1989). All
30 patients were treated according to national standards for IS treatment (Brazil, 2023). The
31 functional disability status was assessed using the Modified Rankin Scale (mRS) (Bonita;
32 Beaglehole, 1988), applied within eight hours of hospital admission (baseline), and scores
33 were categorized as mild functional impairment (mRS <3) and moderate/severe functional
34 impairment (mRS \geq 3), as previously described (Alfieri *et al.*, 2017). After three months,

1 patients or their families were contacted via telephone (Wang et al., 2014), and the mRS
2 was again used to assess the degree of disability of IS patients; moreover, after three
3 months, patients were classified as survivors or non-survivors (Park et al., 2015).

4 The exclusion criteria for IS patients were hemorrhagic stroke, transient ischemic
5 attack (TIA), history of myocardial infarction, malignancies, chronic infections such as
6 human immunodeficiency virus type 1, hepatitis virus B and hepatitis virus C infections,
7 the presence of immune-inflammatory disorders, inflammatory bowel disease, chronic
8 kidney disease, and liver failure, fever within the last seven days prior to the onset of IS
9 symptoms, surgery or trauma within the last 30 days, angiography within the last seven
10 days, and use of steroid or non-steroidal anti-inflammatory and immunosuppressive
11 drugs.

12 A clinical evaluation and a standard questionnaire were used to obtain baseline
13 demographic, lifestyle, and medical data of the IS patients. Anthropometric
14 measurements included weight and height as reported by patients or their families. Body
15 mass index (BMI) was determined using weight (kg) divided by height (m) squared. The
16 ethnicity (Caucasian and non-Caucasian) was self-reported. Baseline systolic and
17 diastolic blood pressures (SBP and DBP, respectively) were taken twice and the mean of
18 these two values was utilized in the analysis; systemic arterial hypertension (SAH) was
19 defined as SBP 140 mmHg or DBP 90 mmHg following the acute phase of IS.
20 Antihypertensive medication use was also considered to diagnose SAH (James et al.,
21 2014). T2DM was defined as a fasting blood glucose level of 126 mg/dL, a non-fasting
22 serum glucose level of 200 mg/dL, or the use of oral hypoglycemic drugs (ADA, 2022).
23 Dyslipidemia was defined as the presence of one or more of the abnormal serum lipid
24 concentrations: total cholesterol > 200 mg/dL, low-density lipoprotein (LDL) cholesterol
25 > 130 mg/dL, high-density lipoprotein (HDL) cholesterol < 40 mg/dL, and triglycerides
26 > 150 mg/dL (Grundy et al. 2019)

27 The protocol of the study was authorized by the State University of Londrina's
28 Institutional Research Ethic Committee in Paraná, Brazil (CAAE
29 61361416.9.0000.5231). All of the patients gave their informed consent. When the IS
30 patients were unable to communicate, their legal guardians signed a consent form.

31 *Carotid intima-media thickness measurement*

32 Carotid ultrasonography with doppler (USGD) examination was performed using
33 the *Siemens Acuson X300 Color Doppler Machine* (Siemens, Muenchen, Germany). All
34

1 patients were evaluated by the same examiner, a vascular trained physician. The carotid
2 intima-media thickness (cIMT) was expressed in mm and calculated as the average of
3 three measurements of the left and right carotid artery. Further, the patients were
4 classified according to the categorized cIMT as <0.9 mm (normal) and ≥ 0.9 mm
5 (increased). Increased cIMT was defined as ≥ 0.9 mm (Pirs et al., 2014).

6 7 *Laboratory Biomarkers*

8 Peripheral blood samples, with and without fasting conditions for IS patients, were
9 collected within the first 24 hours of hospital admission, according to the standardized
10 laboratory test request form provided by the hospital. The samples were collected in
11 vacuum collection tubes without anticoagulant (10 mL) and with EDTA anticoagulant
12 (10 mL) and fluoride (5 mL). The material was immediately sent to the laboratory for
13 registration, processing, and storage of the samples. Plasma, serum, and buffy coat were
14 obtained after centrifugation (10 min 2500 rpm) and stored at -80 °C until analysis when
15 samples were not analyzed on the same day. All patients and their respective samples
16 were identified by number and letter to ensure the anonymity and confidentiality of the
17 individuals and the results obtained.

18 Inflammatory biomarkers were peripheral white blood cells (WBC) determined
19 by automated hematology analyzer (Auto Hematology Analyzer Mindray BC6800,
20 Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics, Shenzhen, China), CRP determined by high-
21 sensitivity immunoturbidimetry (hsCRP) (Architect C8000, Abbott Laboratory, Abbott
22 Park, IL, USA), and albumin determined using immunoturbidimetry (Architect C8000,
23 Abbott Laboratory, Abbott Park, IL, USA). Hemostatic biomarkers were Protein C
24 determined by the chromogenic assay, Protein S determined by latex immunoassay,
25 Factor VIII (FVIII) determined by the coagulometric method, and vWF determined by
26 latex immunoassay. All hemostatic biomarkers were determined using the automated
27 coagulometer (ACL TOP 300; Instrumentation Laboratory, Lexington, Massachusetts,
28 USA), according to the manufacturer's recommendations. A z unit-based composite score
29 was constructed as z hsCRP + z WBC – z albumin, labeled as Inflammation Index.

30 31 *NLRP3 Genotyping*

32 The *NLRP3* rs10754558 C>G genetic variant was evaluated by qualitative real-
33 time polymerase chain reaction (qPCR) using the TaqMan™ method. For this purpose,

1 Taqman™ SNP Genotyping Assay 40X (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA)
2 containing two primers and two allele-specific TaqMan™ MGB probes with a reporter
3 dye at the 5' end (VIC™ or FAM™) and TaqMan™ Universal Genotyping Master Mix
4 (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) were used. For the rs10754558 variant (C
5 26052028_10), the primer was
6 GACAATGACAGCATCGGGTGTGTT[C/G]TCATCACAGCGCCTCAGTTAGAG
7 GA (ThermoFisher, 2025). The fluorescence levels of the qPCR products were evaluated
8 by the QuantStudio™ equipment (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA).

9 10 Statistical Analysis

11 Categorical data were assessed using the chi-square test (χ^2) or Fisher's exact test,
12 as appropriate. Results were expressed as absolute number (n) and percentage (%).
13 Continuous data were analyzed using analysis of variance, with results expressed as mean
14 \pm standard deviation, or the non-parametric Mann-Whitney test. Hardy-Weinberg
15 equilibrium was determined and the frequency and associations of *NLRP3* variants were
16 analyzed under dominant, codominant, recessive, and overdominant genetic models.
17 Analysis of variance (ANOVA) was utilized to compare continuous variables among the
18 study groups. Contingency table analysis was utilized to examine the association between
19 categorical variables. Pearson's product-moment correlations were utilized to examine
20 the associations among continuous variables. We utilized multiple regression analysis,
21 including both manual and automated sequential methods, to predict clinical outcome
22 data based on biomarkers while accounting for the effects of age, sex, and other relevant
23 factors. The automated methodology employed automated linear modeling with measures
24 to prevent overfitting, wherein the criteria for variable inclusion and exclusion were set
25 at p-values of 0.05 and 0.07, respectively. This analysis encompassed model evaluation
26 metrics, including standardized beta coefficients, degrees of freedom (df), p-values, R²,
27 and F-statistics. We utilized the White test and the modified Breusch-Pagan test to
28 examine heteroskedasticity, while collinearity was evaluated using tolerance and the
29 variance inflation factor. We used binary logistic regression analysis to delineate the most
30 important variables predicting death or a worse clinical outcome (based on the binned
31 outcome index). We computed odds ratio (OR) with 95% confidence intervals (CI). All
32 tests utilized a two-tailed approach, with a significance level established at p < 0.05. We
33 employed IBM SPSS 30 for Windows for all statistical analyses conducted in this study.

1 To normalize the data, we applied various transformations as appropriate, including log₁₀
2 and square root.

3 Partial least squares Structural (PLS) Equation Modeling (PLS-SEM) analysis
4 was utilized to investigate the causal relationships among the *NLRP3* genotypes, protein
5 S, protein C, FVIII, vWF, the Inflammation Index, and the global clinical outcome index
6 (PC outcome). The latter was defined as a factor derived from basal NIHSS scores, as
7 well as baseline and 3-month mRS, and whether the individual had died within three
8 months following the IS. Consequently, we constructed a latent vector representing an
9 integrative index of the severity of the clinical outcome over time (from baseline to three
10 months thereafter; referred to as the 'outcome index'). The factor scores are likewise
11 employed in the multiple regression analysis. We performed PLS analysis exclusively
12 when both the outer and inner models satisfied the predetermined quality standards: a)
13 the overall model fit, as indicated by the standardized root mean square residual (SRMR),
14 is acceptable with a value below 0.08; b) the latent constructs demonstrate strong
15 construct and convergent validity, evidenced by an average variance extracted (AVE)
16 exceeding 0.5, Cronbach's alpha surpassing 0.7, composite reliability exceeding 0.8, and
17 rho A exceeding 0.8; c) all outer loadings are greater than 0.7 with $p < 0.001$; d)
18 Confirmatory Tetrad Analysis (CTA) verifies that the model is correctly specified as a
19 reflective model; and e) discriminant validity is established. Upon meeting the specified
20 model quality data criteria, we conduct a PLS-SEM path analysis using 5,000 bootstrap
21 samples, deriving path coefficients (with associated p-values), and additionally
22 calculating both specific and total indirect (mediated) effects, as well as the overall total
23 effects.

24

25 **RESULTS**

26 *Clinical and Laboratory Characteristics*

27

28 A total of 134 patients with IS were included, stratified into two groups according
29 to their PC outcome (cut off value >0.3): a better outcome group ($n = 88$) and a worse
30 outcome group ($n = 46$). **Table 1** presents the sociodemographic, clinical, and
31 biochemical characteristics according to the outcome of the patients. Patients with worse
32 outcome were older and had a lower BMI compared with those with better outcome. In
33 addition, biomarkers of systemic inflammation were consistently higher among patients
34 with worse outcomes, as demonstrated by Inflammation Index. Among hemostatic

1 biomarkers, vWF was significantly elevated in the worse outcome group, whereas Protein
2 C and Protein S levels tended to be lower but did not reach statistical significance. No
3 significant differences were observed between the two groups in terms of cIMT. Atrial
4 fibrillation was the only significant categorical variable associated with worse outcome.
5 No significant associations were found for sex, hypertension, T2DM, dyslipidemia,
6 myocardial infarction, or previous stroke.

7 8 *Predictors of Clinical Outcome*

9 The distribution of the *NLRP3* C>G rs10754558 genotypes among the ischemic
10 stroke patients was in Hardy–Weinberg equilibrium ($p=0.85$). The frequency of the C
11 and G allele was 0.598 and 0.402, respectively. **Table 2** shows the distribution of the
12 *NLRP3* rs10754558 C>G variant in a codominant model, according to clinical outcome
13 of 122 patients with IS. The association between genotypes and clinical outcome was
14 assessed using Pearson’s chi-square test ($\chi^2 = 2.243$, $df = 2$, $p = 0.326$). The Fisher–
15 Freeman–Halton exact test showed consistent results ($p = 0.320$).

16 **Table 3** shows a stepwise multiple linear regression analysis that identified the
17 Inflammation Index as the strongest independent predictor of the IS PC outcome.
18 In the initial model, inflammation explained 17.2% of the variance. After inclusion of age
19 as an additional covariate, the adjusted R^2 increased to 0.226 (22.6%), with both
20 inflammation and age remaining significant predictors. These results indicate that the
21 effect of inflammation on IS severity and recovery is independent of age.

22 23 *Determinants of Inflammation*

24 **Table 4** displays the outcomes of stepwise regression model using the
25 Inflammation Index as the dependent variable to identify significant predictors that
26 distinguish patients with worse outcome from those with better outcome. FVIII activity,
27 *NLRP3* GG genotype in a recessive genetic model (GG vs. GC+CC), Protein C, and sex
28 emerged as significant predictors, explaining 24.1% of its variance.

29 In our cohort, male sex emerged as an independent determinant of systemic
30 inflammation, together with FVIII, *NLRP3* GG genotype and Protein C. Men present
31 higher post-IS mortality mainly due to earlier stroke incidence at a younger age (about 10
32 years before women), a higher prevalence of modifiable risk factors such as smoking,
33 excessive alcohol consumption, and occupational sedentarism, as well as lower adherence
34 to rehabilitation, which increases the risk of aspiration pneumonia and poorer blood

1 pressure and glycemic control (Reeves et al., 2008; Silva et al., 2025). In Brazil, male
2 stroke mortality exceeds that of women up to 85 years of age, with young men
3 predominantly affected by atherosclerotic and tobacco-related IS, whereas women
4 accumulate a higher absolute number of events at older ages (De Souza et al., 2024). More
5 severe comorbidities such as heart failure and Chronic Obstructive Pulmonary Disease
6 (COPD) in men further contribute to reduced 12-month survival, reinforcing the need for
7 sex-specific stratification in vascular prevention and post-IS follow-up (Scrutinio et al.,
8 2020).

9 **Table 5** presents the results of the binary logistic regression analyses, with the
10 following dependent variables: (i) death up to three months after the IS, and (ii) a worse
11 clinical outcome, defined by the composite index (PC outcome). In the analysis for
12 predicting death, it was observed that both the baseline NIHSS score and the
13 Inflammation Index were statistically significant independent predictors ($\chi^2=45.85$, $df=2$,
14 $p<0.001$, Nagelkerke $R^2=0.456$, accuracy=85.6%). The baseline NIHSS score and the
15 Inflammation Index both increased the probability of death. In the model predicting worse
16 clinical outcome, BMI and the Inflammation Index were significant predictors ($\chi^2=22.92$,
17 $df=2$, $p<0.001$, Nagelkerke $R^2=0.269$, accuracy=73.6%). The Inflammation Index was a
18 risk factor, whereas BMI was a protective factor. Together, these findings demonstrate
19 that systemic inflammation is a consistent and independent determinant of both mortality
20 and unfavorable clinical evolution following IS.

21 **Figure 1** demonstrated the partial regression of PC outcome on the Inflammation
22 Index. After adjustment for other covariates included in the model, higher Inflammation
23 Index values were associated with increased PC outcome scores. **Figure 2** showed an
24 independent inverse association between Protein C levels and the Inflammation Index.

25 **Figure 3** demonstrated an independent positive association between FVIII levels
26 and the Inflammation Index. These results demonstrated the relationship between
27 inflammation-coagulation-IS outcome of our model. **Figure 4** illustrates the results of the
28 PLS analysis, with the outcome as the dependent variable and Inflammation Index and
29 age as direct input variables, while protein C, the *NLRP3* GG (recessive model), and sex
30 functioned as direct predictors of the Inflammation Index. This PLS analysis shows that
31 the G allele in a recessive model is associated with increased inflammation.

32 Furthermore, FVIII acted as an intermediary between age and the Inflammation
33 Index. The model demonstrates satisfactory convergence and construct reliability validity
34 for the outcome latent vector, with AVE = 0.686, Cronbach's alpha = 0.849, rho A =

1 0.870, and composite reliability = 0.897. All four manifestations of the outcome exhibited
2 strong loadings on this latent vector (all exceeding 0.7). The overall quality of the model
3 is satisfactory, as demonstrated by an SRMR of 0.062. We determined that 25.0% of the
4 variance in the outcome data was accounted for by the Inflammation Index and age. The
5 model indicates that 21.2% of the variance in the Inflammation Index is accounted for by
6 FVIII, Protein C, sex (male=1, female=0), and the predominant *NLRP3* GC+CC
7 genotype. Most importantly, the specific indirect effects (mediation effects) indicate that
8 the influence of the *NLRP3* GG (recessive model) on the outcome is mediated through
9 the Inflammation Index ($t = -2.48$, $p = 0.013$). Furthermore, the effects of FVIII ($t=3.43$,
10 $p=0.001$) and Protein C ($t=-2.39$, $p=0.017$) on the PC outcome are mediated through the
11 Inflammation Index.

14 DISCUSSION

16 The first major finding of this study is that systemic inflammation constitutes a
17 key mediator between innate immune *NLRP3* C>G rs10754558 genetic variation,
18 hemostatic activation, and clinical outcome after IS. In particular, our findings align with
19 and extend the emerging paradigm that the NLRP3 inflammasome acts as a mechanistic
20 bridge linking genotype to outcome via inflammatory–coagulation pathways (Wu et al.,
21 2025; Chen et al., 2024). Our findings suggest that both hemostatic imbalance and *NLRP3*
22 C>G rs10754558 genetic variation contribute to systemic inflammatory activation
23 following IS. Overall, patients with worse IS outcomes exhibited higher inflammatory
24 activity, altered hemostatic profiles, and a higher prevalence of atrial fibrillation.

25 The higher prevalence of atrial fibrillation among the IS patients with worse
26 outcome reinforce the notion that, beyond embolic burden, atrial fibrillation is
27 increasingly recognized as a pro-inflammatory condition characterized by endothelial
28 dysfunction, platelet activation, and activation of innate immune pathways, including the
29 *NLRP3* inflammasome (Yao et al 2018). Atrial fibrillation has been associated with
30 systemic inflammatory activation and inflammasome signaling, suggesting that patients
31 with atrial fibrillation may experience a synergistic effect in which cardioembolism
32 determines infarct size while inflammasome-mediated inflammation exacerbates tissue
33 injury and impairs recovery (Guo et al., 2012). Therefore, we hypothesize that atrial
34 fibrillation influences IS outcomes both directly through cardioembolism and indirectly

1 via inflammasome-mediated inflammation. A study showed that post-stroke patients with
2 atrial fibrillation have a more severe prognosis, although atrial fibrillation itself does not
3 have an independent negative effect on long-term outcomes after stroke (Tracz et al.,
4 2023). In our study, multivariable analyses indicated that inflammation is a key mediator
5 linking coagulation, inflammation, and genetic *NLRP3* pathway mechanisms to clinical
6 outcomes after IS.

7 The *NLRP3* inflammasome has been recognized for its central role in innate
8 immunity and neurovascular inflammation. Experimental studies demonstrate that
9 *NLRP3* activation after cerebral ischemia amplifies IL-1 β /IL-18 release, exacerbates
10 neurovascular damage, and increases infarct size (Alishahi et al., 2019). Genetic variation
11 in the *NLRP3* has been associated with increased susceptibility to IS. The rs4612666 T
12 allele was associated with large artery atherosclerotic IS and microembolic signals in a
13 Chinese Han population (Cheng et al., 2018). A review highlights the *NLRP3* genetic
14 variants and haplotypes as modulators of IS severity and outcome (Masenga and Kirabo,
15 2024). Our study showing that the GG (recessive model) genotype was associated with
16 inflammation and IS outcome supports the concept that certain genetic profiles predispose
17 to a pro-inflammatory phenotype in the post-stroke setting.

18 Five SNVs of the *NLRP3* gene (rs10754558, rs4612666, rs2027432, rs3738488
19 and rs1539019) were investigated for the risk of IS (Kumar et al., 2022). Minor alleles of
20 3 out of 5 SNVs (rs10754558, rs4612666 and rs1539019) exhibited association with IS
21 risk in additive, recessive, and multiplicative models. Haplotype analysis revealed a
22 susceptibility putative haplotype GTGTA, which approximately doubled the risk of IS in
23 dominant mode after adjusting the effect with confounding variables. This susceptibility
24 putative haplotype GTGTA was significantly associated with increased concentrations of
25 CRP and IL-1 β in dose-dependent manner (less in carriers of 1 copy than those who had
26 2 copies of GTGTA). One previous study demonstrated a significant association between
27 the *NLRP3* rs10754558 variant and the occurrence and severity of coronary artery disease
28 as well as increases in IL-1 β serum concentrations (Zhou et al., 2016). This finding could
29 be explained by a prior functional analysis of the *NLRP3* rs10754558 variant which is
30 located in the 3'UTR of the *NLRP3* gene, and was shown to increase *NLRP3* mRNA
31 stability (Hitomi et al., 2009). Conversely, another study testing various *NLRP3* variants
32 could not confirm this result (Zhao et al 2016). However, the cohort size in both studies
33 was relatively small, therefore, larger studies will be needed to clearly assess the effect
34 of *NLRP3* variants on cardiovascular diseases.

Inflammation as mediator and link to coagulation and clinical outcome

The second major finding of this study is that our data demonstrate that inflammation and coagulation biomarkers were markedly elevated, while anticoagulation biomarkers were reduced in patients with worse IS outcomes, independent of age and BMI. These findings align with previous studies reporting that inflammasome activation promotes endothelial dysfunction, upregulates tissue factor (TF) and vWF, and amplifies thrombo-inflammation in IS (Grebe et al., 2018). In this study, we identified a coherent pattern linking coagulation dysregulation, systemic inflammation, and clinical outcome of IS. Reduced Protein C levels and increased FVIII levels were independently associated with higher inflammatory burden, as measured by a composite Inflammation Index. Moreover, inflammation was independently associated with worse IS clinical outcomes, suggesting that inflammatory activation may represent a key intermediate pathway. This dual imbalance may amplify systemic inflammation, thereby contributing to unfavorable clinical outcomes. The pattern of independent associations observed across the regression models is consistent with a mediation framework. Although the effects were moderate, the results are consistent with the multifactorial nature of the pathophysiology mechanisms involved in the clinical outcome of IS.

The observed association of higher vWF and the Inflammation Index in our cohort reinforces this pathway, suggesting that inflammation may act as the intermediate linking genetic predisposition to hemostatic derangements. Regression analyses showed that inflammation predicted outcome (adjusted $R^2 \sim 0.21$), and that upstream hemostatic variables (FVIII, vWF, Protein C) predicted inflammation. These results mirror mechanistic models in which innate immune activation via NLRP3 triggers cytokine cascades, leads to vascular endothelial activation, and ultimately to a procoagulant state that worsens cerebral ischemic injury (Puleo et al., 2022).

A growing body of evidence highlights the pivotal regulatory role of the NLRP3 inflammasome in thrombosis (Wu et al., 2025). NLRP3, through IL-1 β , induces TF expression and inhibits fibrinolysis, upregulating Plasminogen Activator-1 Inhibitor (PAI-1), forming immunothrombosis (van der Poll et al., 2017). The neuro-thrombo-inflammation and the NLRP3 inflammasome are jointly implicated in the pathophysiological mechanism of cerebral small vascular disease and IS or cerebrovascular disease in general. At the outset of cerebral ischemia, the neuro-thrombo-inflammation may disrupt the integrity of the BBB, thus promoting neuronal

1 degeneration, axonal loss, neuronal cell death, and parenchymal damage (Xiao et al.,
2 2020).

3 It appears that death due to IS is predicted by an integrated response in a network
4 which comprises strongly interconnected immune and hemostasis subnetworks. This
5 indicates that both the immune response, as indicated by increased IL-6, IL-10, tumor
6 necrosis factor (TNF)- α , vascular cell adhesion molecule (VCAM)-1, E-selectin, and
7 CRP but lowered transforming growth factor (TGF)- β 1 and albumin, and the activated
8 hemostasis, thrombosis and coagulation pathways (as indicated by increased FVIII, vWF,
9 and fibrinogen, but lowered Protein C, Protein S, antithrombin, and albumin levels) are
10 intertwined phenomena leading to death from IS (Maes et al., 2021).

11 The vWF shows many interactions with genes from both the immune and
12 hemostasis networks. Such data agree with the view that vWF mediates the crosstalk
13 between immune cells and hemostasis mechanisms and contributes to inflammation,
14 including vascular inflammation (Luo et al., 2021; Gragnano et al., 2017). The vWF
15 factor is released during the rupture of the endothelial layer of the vessels, whereby the
16 consequent exposure of collagen to platelets leads to clot formation (Sidelmann et al.,
17 2000). Consequently, endothelial cells release vWF, P selectin, and inflammatory
18 mediators (Kozuka et al., 2002). vWF promotes platelet adhesion to the damaged site by
19 forming a molecular bridge between the subendothelial collagen matrix and the platelet
20 surface receptor complex glycoprotein Ib-IX-V (Gragnano et al., 2017). vWF levels are
21 increased in IS patients and are associated with the cardioembolic and large-vessel disease
22 subtypes (Hanson et al., 2011). Additionally, vWF levels are associated with severity of
23 arterial thrombus formation and poor functional outcomes (Ancedy et al., 2018; Tóth et
24 al., 2018). Furthermore, vWF may function as a biomarker of the response to thrombolytic
25 or endovascular treatment in IS patients (Tóth et al., 2018; Schuppner et al., 2018).

26 Our finding that lower BMI independently predicted worse clinical outcome is
27 consistent with the so-called obesity paradox in IS. Patients with low BMI (below 18.5
28 kg/m²) have higher post-stroke mortality, reflecting malnutrition, sarcopenia, and frailty
29 that deplete metabolic reserves during ischemic hypercatabolism, immunosuppression,
30 and infectious complications, such as pneumonia, which accounts for a large proportion
31 of deaths in the first year (Dehlendorff et al., 2014). Experimental data indicate that low
32 BMI and cachexia may hyperactivate the NLRP3 inflammasome via increased DAMPs
33 and ATP derived from muscle proteolysis, enhanced mitochondrial reactive oxygen
34 species and urate or lipid crystals from accelerated lipolysis, amplifying IL-1 β /IL-18

1 signaling and thereby promoting cytotoxic edema, BBB breakdown, and apoptosis in the
2 penumbra (Feng et al., 2020). In contrast, higher adiposity may provide metabolic
3 substrates and exert anti-inflammatory effects, partially explaining the paradoxical
4 protective association of higher BMI with outcome. Notably, pharmacological or genetic
5 suppression of NLRP3 reversed the excess mortality in lean experimental models, further
6 supporting inflammasome activation as a causal link between low body weight and
7 adverse stroke outcomes (Feng et al., 2020).

8 9 *Clinical and translational implications*

10 From a translational perspective, our findings highlight multiple intervention
11 points. First, that systemic inflammation, assessed by a composite inflammatory index, is
12 an independent predictor of both short-term mortality and worse clinical outcomes after
13 IS, even after accounting for baseline neurological severity. This supports the concept
14 that inflammatory pathways act as key modulators of IS prognosis rather than mere
15 epiphenomena of tissue injury. Second, the composite inflammation index may serve as
16 prognostic biomarkers in acute IS care. Third, genotyping for *NLRP3* C>G variant could
17 stratify patients for targeted anti-inflammasome or anti-IL-1 β therapies. Indeed, small-
18 molecule *NLRP3* inhibitors and IL-1 β antagonists are emerging in other
19 inflammatory/vascular settings (Cabral et al., 2025). Finally, the dual targeting of
20 inflammation and coagulation may yield additive benefits in preventing poor outcomes
21 after IS.

22 23 *Limitations and future directions*

24 This study has several limitations that should be acknowledged. Firstly, the cross-
25 sectional design prevents us from establishing firm causal relationships between the
26 inflammatory response and IS clinical outcome. Secondly, although we controlled for key
27 confounders, residual influences from unmeasured variables such as diet, physical
28 activity, and other genetic factors cannot be ruled out. Additionally, despite excluding
29 major comorbid conditions, the potential impact of undiagnosed or subclinical disorders
30 remains. Although the explained variances (R^2) are moderate, they are consistent with
31 complex multifactorial processes involved in IS. Given the heterogeneity and dynamic
32 nature of the cellular and molecular changes that occur after IS, a single biomarker will
33 not accurately predict all adverse outcomes of the ischemic event.

34 The use of partial regression plots strengthens this interpretation by illustrating the unique

1 contribution of each predictor after controlling for confounding variables. Together, these
2 findings support inflammation as a potential mediator linking coagulation abnormalities
3 to IS clinical prognosis. Future longitudinal and interventional studies are needed to
4 formally test this mediation pathway and to establish causal relationships.

6 **CONCLUSION**

7 Synthesizing our findings with the literature, we propose the following sequence
8 in IS pathophysiology: 1) *NLRP3* C>G genetic variant confers increased inflammasome
9 activation in response to ischemic injury or circulating danger-signals (DAMPs/PAMPs);
10 2) this heightened inflammasome activity raises systemic inflammation (IL-1 β , IL-18)
11 and endothelial activation, reflected by elevated vWF and decreased anticoagulant
12 Protein C and Protein S; and 3) the resulting pro-inflammatory/pro-thrombotic milieu
13 exacerbates cerebral tissue injury, impairs reperfusion, and translates into worse
14 functional outcomes. This mechanistic chain is supported by both our regression models,
15 partial regression plots, and prior experimental/clinical reviews (Masenga and Kirabo,
16 2024)

17 Taking all together, our study provides compelling evidence that the *NLRP3* C>G
18 genetic variant influences systemic inflammation, which in turn drives hemostatic
19 disturbances and worsens clinical outcomes in IS. This supports the conceptualization
20 that the *NLRP3* inflammasome modulates inflammation and coagulation, and
21 consequently IS clinical outcomes, and suggests novel biomarker and therapeutic
22 strategies in IS management.

24 **Acknowledgments**

26 Thanks to the Institutional Program for Scientific Initiation Scholarship (PIBIC)
27 of the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq);
28 Coordination for the Improvement of Higher Level of Education Personnel (CAPES) of
29 Brazilian Ministry of Education: Finance Code 001; Araucaria Foundation, Paraná State,
30 Brazil, Conv. 001/2017, Call n° 09/2016, Protocol 47.396; Clinical and Laboratory
31 Pathophysiology Postgraduate Program, Health Sciences Center, State University of
32 Londrina, Londrina, Paraná, Brazil.

1 Table 1 Demographic and clinical differences between ischemic stroke patients
 2 with better *versus* worse outcome

Variable	Better outcome n=88	Worse outcome n=46	p-value
PC outcome ^a	-0.620 ±0.481	1.186 ±0.566	<0.001
Age (years)	63.25 ± 12.45	70.78 ± 11.49	<0.001
Sex Male/ Female	48/40 (54.5/45.5)	22/24 (47.8/52.2)	0.460
Ethnicity C/NC ^b	57/31 (54.8/(35.2)	32/12 (72.7/(27.3)	0.358
BMI (kg/m ²) ^c	27.69 ± 4.77	25.64 ± 3.95	0.028
Hypertension (Yes/ No) ^d	62/23 (72.9/27.1)	32/13 (71.1/28.9)	0.824
T2DM (Yes/No) ^d	28/57 (32.9/67.1)	11/34 (24.4/75.6)	0.315
Dyslipidemia (Yes/No) ^d	39/46 (45.9/54.1)	20/25 (44.4/55.6)	0.876
Myocardial infarction (Yes/No) ^d	7/78 (8.2/91.8)	7/38 (0,16/84.4)	0.200
Atrial fibrillation (Yes/No) ^d	4/81 (4.7/95.3)	8/37 (17.8/82.2)	0.014
Inflammation index 1 ^e	-0.70 ± 2.02	1.36 ± 2.75	<0.001
Log cIMT ^a	0.86 ± 0.36	0.90 ± 0.31	0.453
Protein C (mg/dL) ^d	112.44 ± 20.07	104.84 ± 26.28	0.064
Protein S (mg/dL) ^d	96.82 ± 17.49	90.90 ± 15.10	0.054
vWF (%) ^d	218.30 ± 77.29	277.02 ± 139.68	0.002

3 Continuous variables were expressed as mean ± standard deviation (SD) and comparison between groups
 4 was performed using one-way ANOVA. Categorical variables were expressed as absolute number (n) and
 5 percentage (%) and comparison between groups was performed using the chi-square test. PC outcome,
 6 global clinical outcome index; C, Caucasian; NC, non-Caucasian; BMI, body mass index; T2DM, type 2
 7 diabetes mellitus; Inflammation index 1, C-reactive protein/albumin/white blood cells ratio; Log cIMT, log
 8 of carotid intima-media thickness; vWF, von Willebrand Factor; ANOVA, analysis of variance; χ^2 test and
 9 statistical significance was set at p<0.05. PC outcome: Defined as a latent vector derived from basal NIHSS
 10 scores, baseline and 3-month Rankin scores, and whether the individual had died within three months
 11 following the stroke. It represents an integrative index of the severity of the clinical outcome over time
 12 (from baseline to three months thereafter. Number of samples: a: 133; b: 132; c:107; d:130; e:131
 13
 14
 15

Table 2 Distribution of the *NLRP3* rs10754558 C>G genotypes, in a codominant model, according to clinical outcome of patients with ischemic stroke

Genotype	Better outcome	Worse outcome	Total
	n (%)	n (%)	n (%)
CC	32 (72.7)	12 (27.3)	44 (100.0)
CG	36 (62.1)	22 (37.9)	58 (100.0)
GG	11 (55.0)	9 (45.0)	20 (100.0)
Total	79 (64.8)	43 (35.2)	122 (100.0)

Data are expressed as absolute number (n) and row percentage (%). The association between genotypes and clinical outcome was assessed using Pearson's chi-square test ($\chi^2 = 2.243$, $df = 2$, $p = 0.326$). The Fisher–Freeman–Halton exact test showed consistent results ($p = 0.320$). The C and G allele frequencies were 0.598 and 0.402, respectively. The sample showed Hardy–Weinberg equilibrium ($p=0.85$). *: Number of samples: 122

Table 3 Results of linear regression model predicting the global clinical outcome index (PC outcome) by inflammation

Predictor	β coefficient (B)	T	p value	R ²	F (df)	p value
Inflammation Index	0.380	4.51	<0.001	0.226	16.52	<0.001
Age	0.222	2.63	0.010		(2/113)	

Stepwise multiple linear regression model with the Inflammation Index and age as predictors of the clinical PC outcome index. β , regression coefficient; R², coefficient of determination; df: degree of freedom; statistical significance was considered at $p < 0.05$. PC outcome: Defined as a latent vector derived from basal NIHSS scores, baseline and 3-month Rankin scores, and whether the individual had died within three months following the stroke. It represents an integrative index of the severity of the clinical outcome over time (from baseline to three months thereafter).

Table 4 Linear regression model predicting the inflammatory index as dependent variable

Predictor	β coefficient	T	p value	model R ²	model F (df)	model p value
Factor VIII	0.267	3.82	0.001	0.241	9.14 df=4/115	<0.001
<i>NLRP3</i> (GC+CC <i>versus</i> GG)	-0.230	3.54	0.006			
Protein C	-0.325	3.41	<0.001			
Sex (male=1, female=0)	-0.219	3.29	0.013			

Stepwise multiple linear regression model with hemostatic and genetic variables predicting inflammation index (Inflamindex1). β , regression coefficient; R², coefficient of determination; df: degree of freedom; *NLRP3*, nucleotide-binding domain leucine-rich repeat family pyrin domain containing 3. Statistical significance was considered at $p < 0.05$. Inflammation Index: A z unit-based composite score was constructed as z hsCRP + z WBC – z albumin; hsCRP, high sensitivity C-reactive protein; WBC: white blood cell count. GG is coded as 1, GC+CC is coded as 0.

Table 5 Results of binary logistic regression analysis with death three months after ischemic stroke or an increased PC outcome as dependent variables.

Dependent variables	Explanatory Variables	B	SE	Wald	p value	OR	95% CI
Death	NIHSS score	0.145	0.036	15.95	<0.001	1.155	1.076 - 1.240
	Inflammation index	0.398	0.114	12.26	<0.001	1.489	1.192 - 1.861
Worse clinical outcome	BMI	-0.123	0.056	4.84	0.028	0.884	0.792 - 0.987
	Inflammation index	0.389	0.103	14.27	<0.001	1.476	1.206 - 1.807

Inflammation Index: A z unit-based composite score was constructed as z hsCRP + z WBC – z albumin. Worse clinical outcome: based on PC outcome score: defined as a factor derived from basal NIHSS scores, as well as baseline and 3-month Rankin scores, and whether the individual had died within three months following the stroke. B, beta coefficient; SE: standard error; OR, odds ratio; CI, confidence interval; NIHSS, National Institute Health Scale Score; BMI: body mass index; z , z score; hsCRP, high sensitivity C-reactive protein; WCB, white blood cell count

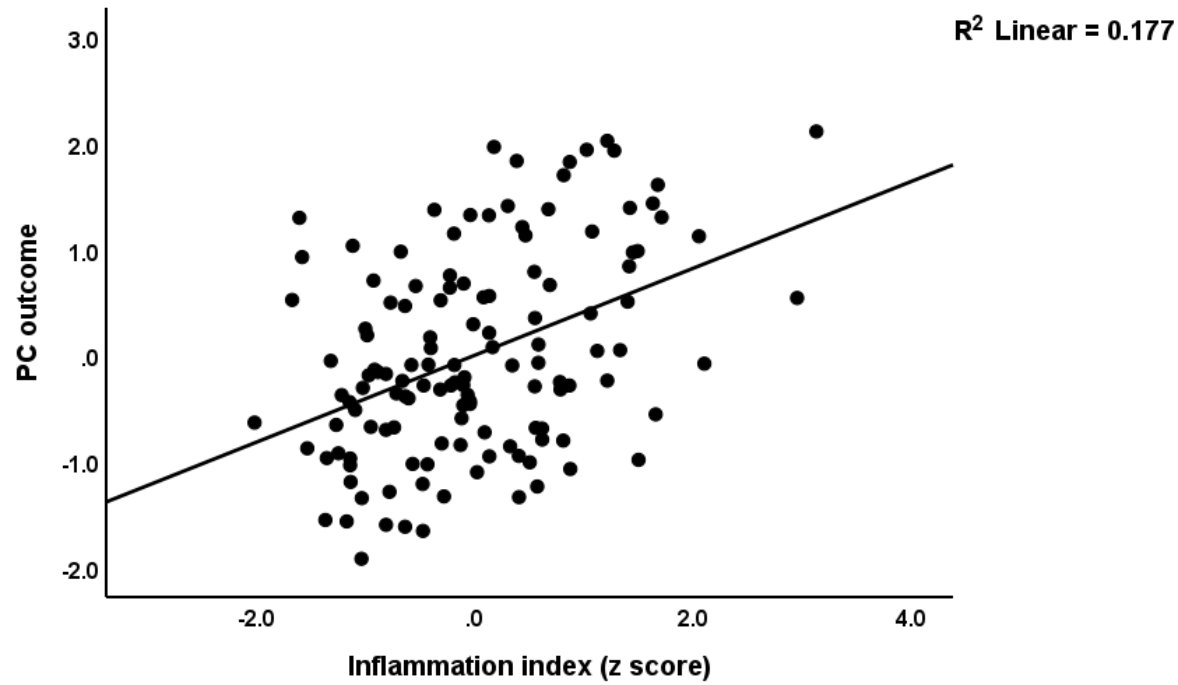


Figure 1 Partial Regression Plot demonstrating a positive association between the Inflammation Index and the clinical outcome index. After adjustment for other covariates included in the model, higher inflammatory index values were associated with increased PC outcome scores ($p < 0.001$).

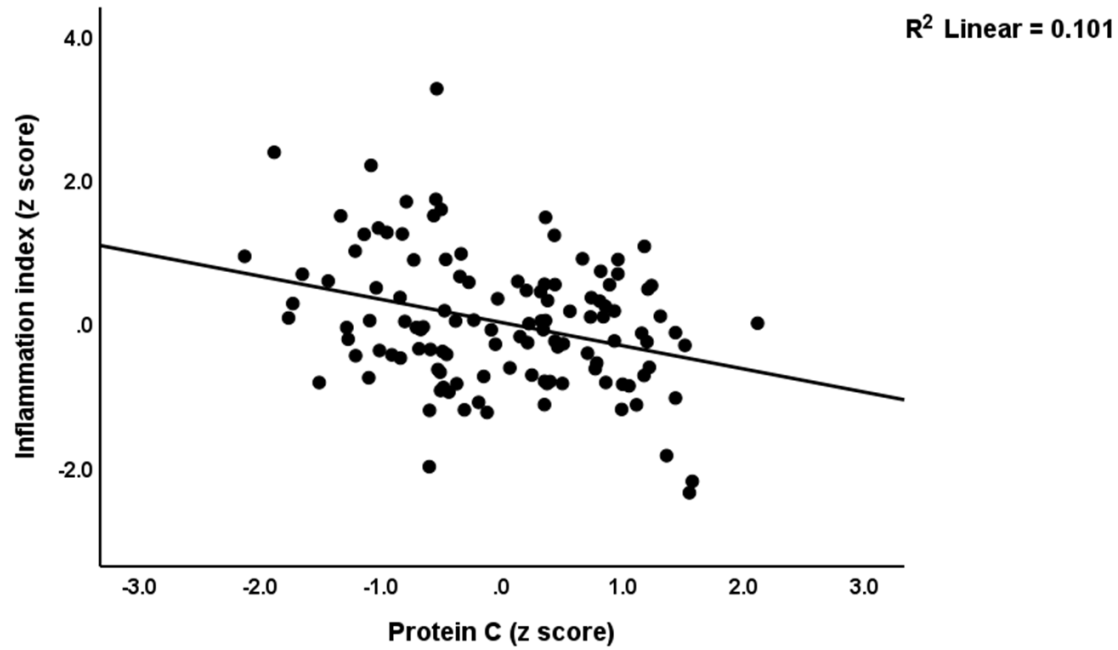


Figure 2 Partial regression plot showing an independent inverse association between Protein C levels and the Inflammation Index. These findings support a protective role of the protein C pathway in modulating systemic inflammation, which may partially mediate the relationship between coagulation dysfunction and adverse clinical outcomes ($p < 0.001$).

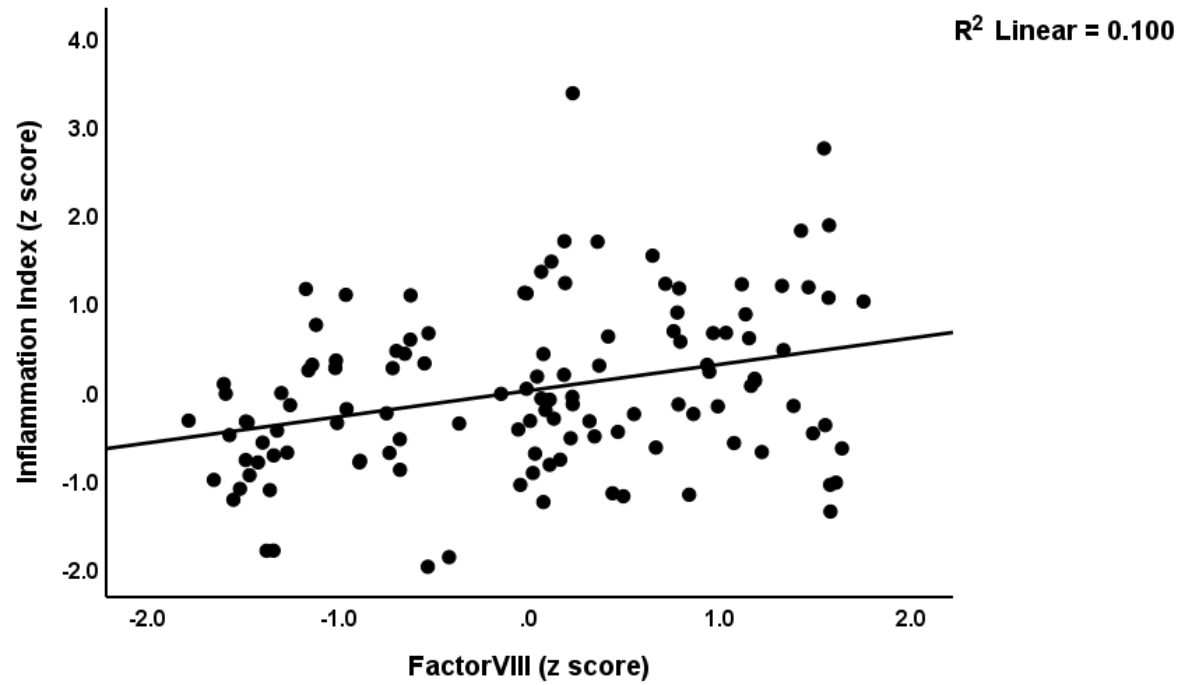


Figure 3 Results of partial regression analysis with the Inflammation Index as dependent variable and Factor VIII as independent variable ($p < 0.001$).

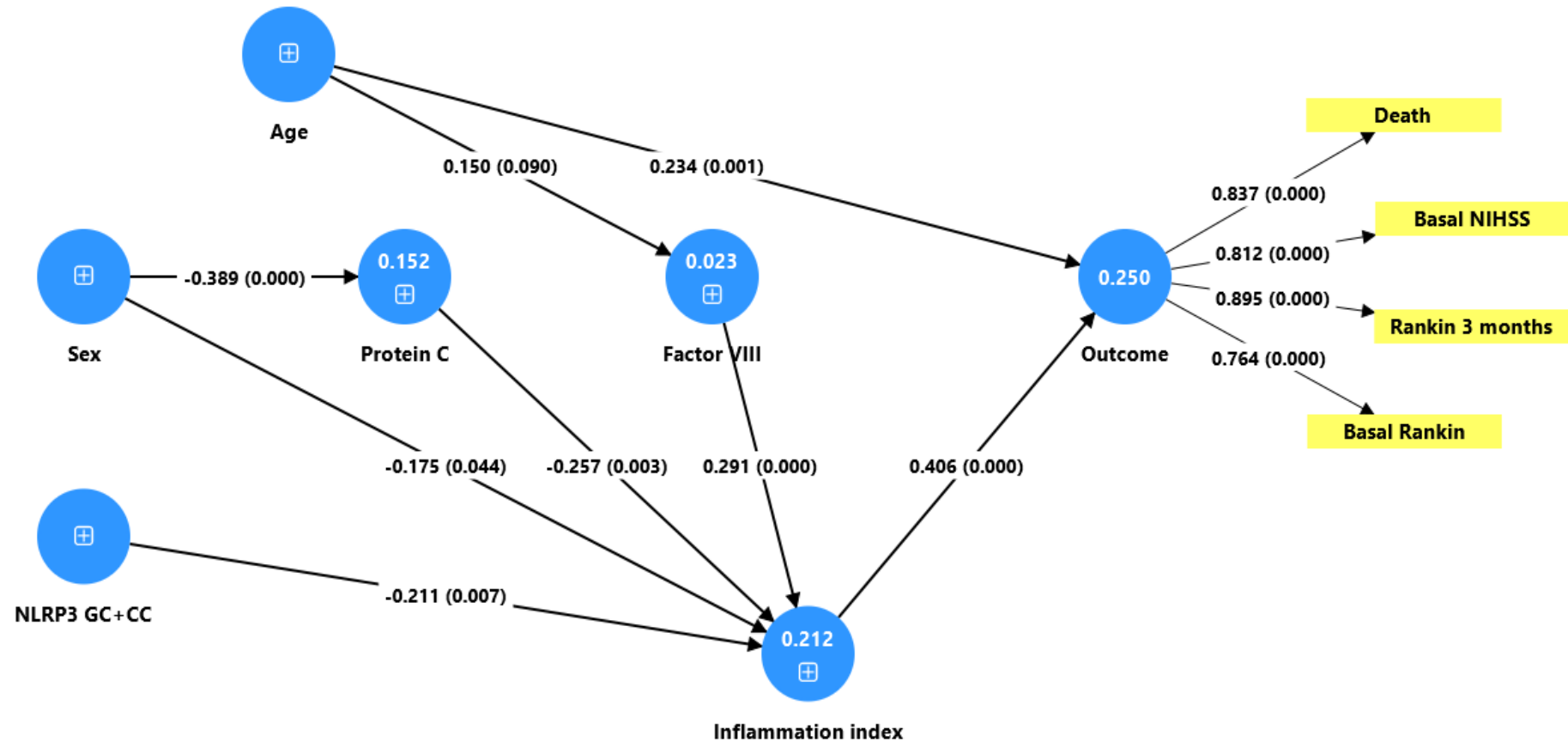


Figure 4 Results of partial least squares (PLS) analysis. A latent vector extracted from the baseline NIHSS score, the baseline and three-month Rankin scores, and death after three months after stroke was used as outcome. Direct predictors were the Inflammation Index and age and together they explained 25.0% of the variance. Factor VIII mediated the effects of age on the Inflammation Index. We found that 21.2% of the variance in the latter was explained by the regression on Factor VIII, Protein C, age and the *NLRP3* genotype variant. The G recessive model was coded as: GG 1 and GC+CC 0.

1 **References**

- 2
- 3 Adams HP Jr, Bendixen BH, Kappelle LJ, Biller J, Love BB, Gordon DL, Marsh EE
4 3rd. Classification of subtype of acute ischemic stroke. Definitions for use in a
5 multicenter clinical trial. TOAST. Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment.
6 Stroke. 1993; 24(1):35-41. doi: 10.1161/01.str.24.1.35.
- 7
- 8 Alakbarzade V, Taylor A, Scully M, Simister R, Chandratheva A. Utility of current
9 thrombophilia screening in young patients with stroke and TIA. Stroke Vasc Neurol.
10 2018; 3(4):231-236. doi: 10.1136/svn-2018-000169.
- 11
- 12 Alishahi M, Farzaneh M, Ghaedrahmati F, Nejabatdoust A, Sarkaki A, Khoshnam SE.
13 NLRP3 inflammasome in ischemic stroke: As possible therapeutic target. International
14 Journal of Stroke. 2019;14(6):574-591. doi:10.1177/1747493019841242
- 15
- 16 American Diabetes Association Professional Practice Committee. Summary of
17 Revisions: Standards of Medical Care in Diabetes-2022. Diabetes Care. 2022; 45(Suppl
18 1):S4-S7. doi: 10.2337/dc22-Srev.
- 19
- 20 Ancedy Y, Berthelot E, Lang S, Ederhy S, Boyer-Chatenet L, Di Angelantonio E,
21 Soulat-Dufour L, Etienney A, Adavane-Scheubl  S, Boccara F, Cohen A. Is von
22 Willebrand factor associated with stroke and death at mid-term in patients with non-
23 valvular atrial fibrillation? Arch Cardiovasc Dis. 2018; 111(5):357-369. doi:
24 10.1016/j.acvd.2017.08.004.
- 25
- 26 Bai B, Yang Y, Wang Q, Li M, Tian C, Liu Y, Aung LHH, Li PF, Yu T, Chu XM.
27 NLRP3 inflammasome in endothelial dysfunction. Cell Death Dis. 2020; 11:776.
- 28
- 29 Boehme AK, Esenwa C, Elkind MS. Stroke Risk Factors, Genetics, and Prevention.
30 Circ Res. 2017; 120(3):472-495. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.116.308398.
- 31
- 32 Bonita, R, and R Beaglehole. "Recovery of motor function after stroke." Stroke vol.
33 19,12 (1988): 1497-500. doi:10.1161/01.str.19.12.1497
- 34
- 35 BRAZIL. Clinical Protocol and Therapeutic Guidelines for Acute Ischemic Stroke.
36 Available at: [https://www.gov.br/conitec/pt-](https://www.gov.br/conitec/pt-br/midias/consultas/relatorios/2021/20211230_relatorio_recomendacao_avci_agudo_cp_110.pdf)
37 [br/midias/consultas/relatorios/2021/20211230_relatorio_recomendacao_avci_agudo_cp](https://www.gov.br/conitec/pt-br/midias/consultas/relatorios/2021/20211230_relatorio_recomendacao_avci_agudo_cp_110.pdf)
38 110.pdf. Accessed at January, 1 2026.
- 39
- 40 Brott T, Adams HP Jr, Olinger CP, Marler JR, Barsan WG, Biller J, Spilker J, Holleran
41 R, Eberle R, Hertzberg V, et al. Measurements of acute cerebral infarction: a clinical
42 examination scale. Stroke. 1989; 20(7):864-70. doi: 10.1161/01.str.20.7.864.
- 43
- 44 Cabral JE, Wu A, Zhou H, Pham MA, Lin S, McNulty R. Targeting the NLRP3
45 inflammasome for inflammatory disease therapy. Trends Pharmacol Sci. 2025;
46 46(6):503-519. doi: 10.1016/j.tips.2025.04.007.
- 47
- 48 Campbell BCV, De Silva DA, Macleod MR, Coutts SB, Schwamm LH, Davis SM,
49 Donnan GA. Ischaemic stroke. Nat Rev Dis Primers. 2019; 5(1):70. doi:
50 10.1038/s41572-019-0118-8.

- 1
2 Chen X, Li J, Liu P, Zhou Y, Zhang T, Li L, et al. Inflammasome-independent
3 mechanism of NLRP3 is critical for platelet GPIb-IX function and thrombosis. *Thromb*
4 *Haemost.* 2024; 124:1095–113. doi: 10.1055/a-2263-8372
5
- 6 Chen Y, Wang W, Zhou Y, et al. NLRP3 inflammasome activation in deep vein
7 thrombosis: a potential therapeutic target. *Blood Adv.* 2020; 4(1):220–229.
8 doi:10.1182/bloodadvances.2019000513
9
- 10 Cheng L, Yin R, Yang S, Pan X, Ma A. Rs4612666 Polymorphism of the *NLRP3* Gene
11 Is Associated with the Occurrence of Large Artery Atherosclerotic Ischemic Strokes
12 and Microembolic Signals. *Biomed Res Int.* 2018; 2018:6345805. doi:
13 10.1155/2018/6345805.
14
- 15 Connor MD, Walker R, Modi G, Warlow CP. Burden of stroke in black populations in
16 sub-Saharan Africa. *Lancet Neurol.* 2007 Mar;6(3):269-78. doi: 10.1016/S1474-
17 4422(07)70002-9. Erratum in: *Lancet Neurol.* 2007; 6(6):479.
18
- 19 Creagh EM. Caspase crosstalk: integration of apoptotic and innate immune signaling
20 pathways. *Trends Immunol.* 2014; 35(12):631-640. doi: 10.1016/j.it.2014.10.004.
21
- 22 Dehlendorff, Christian et al. “Body mass index and death by stroke: no obesity
23 paradox.” *JAMA neurology* vol. 71,8 (2014): 978-84.
24 doi:10.1001/jamaneurol.2014.1017
25
- 26 de Souza, Orivaldo Florencio et al. “Sex Disparity in Stroke Mortality among Adults: A
27 Time Series Analysis in the Greater Vitoria Region, Brazil (2000-
28 2021).” *Epidemiologia (Basel, Switzerland)* vol. 5,3 402-410. 17 Jul. 2024,
29 doi:10.3390/epidemiologia5030029
30 Dinarello CA. Immunological and inflammatory functions of the interleukin-1 family.
31 *Annu Rev Immunol.* 2009; 27:519-50. doi: 10.1146/annurev.immunol.021908.132612.
32
- 33 Eickemberg, Michaela, et al. “Indicators of Abdominal Adiposity and Carotid Intima-
34 Media Thickness: Results from the Longitudinal Study of Adult Health (ELSA-
35 Brazil)”. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, v. 112, n. 3, 2019, p. 220–227,
36 doi:10.5935/abc.20180273
37
- 38 Donkel SJ, Benaddi B, Dippel DWJ, Ten Cate H, de Maat MPM. Prognostic
39 Hemostasis Biomarkers in Acute Ischemic Stroke. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.*
40 2019; 39(3):360-372. doi: 10.1161/ATVBAHA.118.312102.
41
- 42 Eickemberg, Michaela *et al.* Indicators of abdominal adiposity and carotid intima-media
43 thickness: Results from the longitudinal study of adult health (ELSA-Brazil). *Arquivos*
44 *brasileiros de cardiologia*, v. 112, n. 3, p. 220–227, 2019.
45
- 46 Fann DY-W, Lim Y-A, Cheng Y-L, Lok K-Z, Chunduri P, Baik S-H, Drummond GR,
47 Dheen ST, Sobey CG, Jo D-G, et al. Evidence that NF-KB and MAPK signaling
48 promotes NLRP inflammasome activation in neurons following ischemic stroke. *Mol.*
49 *Neurobiol.* 2018 (55): 1082–1096.
50

- 1 Fann DY-W, Lee S-Y, Manzanero S, Chunduri P, Sobey CG, Arumugam TV.
2 Pathogenesis of acute stroke and the role of inflammasomes. *Ageing Res. Rev.* 2013
3 (12): 941–966.
4
- 5 Feigin VL, Brainin M, Norrving B, Martins S, Sacco RL, Hacke W, Fisher M, Pandian
6 J, Lindsay P. World Stroke Organization (WSO): Global Stroke Fact Sheet 2022. *Int J*
7 *Stroke.* 2022; 17(1):18-29. doi: 10.1177/17474930211065917. Erratum in: *Int J Stroke.*
8 2022; 17(4):478. doi: 10.1177/17474930221080343.
9
- 10 Feng YS, Tan ZX, Wang MM, Xing Y, Dong F, Zhang F. Inhibition of NLRP3
11 Inflammasome: A Prospective Target for the Treatment of Ischemic Stroke. *Front Cell*
12 *Neurosci.* 2020 Jun 3;14:155. doi: 10.3389/fncel.2020.00155. PMID: 32581721;
13 PMCID: PMC7283578.
14
- 15 Gagnano F, Sperlongano S, Golia E, Natale F, Bianchi R, Crisci M, Fimiani F,
16 Pariggiano I, Diana V, Carbone A, Cesaro A, Concilio C, Limongelli G, Russo M,
17 Calabrò P. The Role of von Willebrand Factor in Vascular Inflammation: From
18 Pathogenesis to Targeted Therapy. *Mediators Inflamm.* 2017; 2017:5620314. doi:
19 10.1155/2017/5620314.
20
- 21 Grebe A, Hoss F, Latz E. NLRP3 Inflammasome and the IL-1 Pathway in
22 Atherosclerosis. *Circ Res.* 2018; 122(12):1722-1740. doi:
23 10.1161/CIRCRESAHA.118.311362.
24
- 25 Grundy, Scott M., Neil J. Stone, Alison L. Bailey, Craig Beam, Kim K. Birtcher, Roger
26 S. Blumenthal, Lynne T. Braun, et al. 2019. “2018
27 AHA/ACC/AACVPR/AAPA/ABC/ACPM/ADA/AGS/APhA/ASPC/NLA/PCNA
28 Guideline on the Management of Blood Cholesterol: A Report of the American College
29 of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines:
30 A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task
31 Force on Clinical Practice Guidelines”. *Circulation* 139 (25): e1082–1143.
32 <https://doi.org/10.1161/CIR.0000000000000625>.
33
- 34 Guo Y, Lip GY, Apostolakis S. Inflammation in atrial fibrillation. *J Am Coll Cardiol.*
35 2012 Dec 4;60(22):2263-70. doi: 10.1016/j.jacc.2012.04.063.
36
- 37 Hitomi Y, Ebisawa M, Tomikawa M, et al. Associations of functional NLRP3
38 polymorphisms with susceptibility to food-induced anaphylaxis and aspirin-induced
39 asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 2009; 124:779–785. e6. doi:
40 10.1016/j.jaci.2009.07.044.
41
- 42 Hua KF, Yang SM, Kao TY, Chang JM, Chen HL, Tsai YJ, Chen A, Yang SS, Chao
43 LK, Ka SM. Osthole mitigates progressive IgA nephropathy by inhibiting reactive
44 oxygen species generation and NF- κ B/NLRP3 pathway. *PLoS One.* 2013;
45 8(10):e77794. doi: 10.1371/journal.pone.0077794.
46
- 47 Iadecola C, Anrather J. The immunology of stroke: from mechanisms to translation. *Nat*
48 *Med.* 2011; 17(7):796-808. doi: 10.1038/nm.2399.
49
- 50 James PA, Oparil S, Carter BL, Cushman WC, Dennison-Himmelfarb C, Handler J,

- 1 Lackland DT, LeFevre ML, MacKenzie TD, Ogedegbe O, Smith SC Jr, Svetkey LP,
2 Taler SJ, Townsend RR, Wright JT Jr, Narva AS, Ortiz E. 2014 evidence-based
3 guideline for the management of high blood pressure in adults: report from the panel
4 members appointed to the Eighth Joint National Committee (JNC 8). *JAMA*. 2014;
5 311(5):507-20. doi: 10.1001/jama.2013.284427. Erratum in: *JAMA*. 2014;
6 311(17):1809.
7
- 8 Kelley N, Jeltema D, Duan Y, He Y. The NLRP3 Inflammasome: An Overview of
9 Mechanisms of Activation and Regulation. *Int J Mol Sci*. 2019; 20(13):3328. doi:
10 10.3390/ijms20133328.
11
- 12 Kozuka K, Kohriyama T, Nomura E, Ikeda J, Kajikawa H, Nakamura S. Endothelial
13 markers and adhesion molecules in acute ischemic stroke--sequential change and
14 differences in stroke subtype. *Atherosclerosis*. 2002; 161(1):161-8. doi: 10.1016/s0021-
15 9150(01)00635-9.
16
- 17 Kumar N, Kaur M, Singh G, Valecha S, Khinda R, Di Napoli M, Singh M, Singh P,
18 Mastana S. A susceptibility putative haplotype within NLRP3 inflammasome gene
19 influences ischaemic stroke risk in the population of Punjab, India. *Int J Immunogenet*.
20 2022; 49(4):260-270. doi: 10.1111/iji.12589.
21
- 22 Lee YH, Bae S-C. Association between Functional NLRP3 Polymorphisms and
23 Susceptibility to Autoimmune and Inflammatory Diseases: A Meta-Analysis. *Lupus*.
24 2016; 25:1558–1566. doi: 10.1177/0961203316644336.
25
- 26 Lehmann ALCF, Alfieri DF, de Araújo MCM, Trevisani ER, Nagao MR, Pesente FS,
27 Gelinski JR, de Freitas LB, Flauzino T, Lehmann MF, Lozovoy MAB, Breganó JW,
28 Simão ANC, Maes M, Reiche EMV. Immune-inflammatory, coagulation, adhesion, and
29 imaging biomarkers combined in machine learning models improve the prediction of
30 death 1 year after ischemic stroke. *Clin Exp Med*. 2022; 22(1):111-123. doi:
31 10.1007/s10238-021-00732-w.
32
- 33 Li XY, Cai XL, Bian PD, Hu LR. High salt intake and stroke: meta-analysis of the
34 epidemiologic evidence. *CNS Neurosci Ther*. 2012; 18(8):691-701. doi:
35 10.1111/j.1755-5949.2012.00355.x.
36
- 37 Liu J, Zheng J, Xu Y, Cao W, Wang J, Wang B, Zhao L, Zhang X, Liao W. Enriched
38 Environment Attenuates Pyroptosis to Improve Functional Recovery After Cerebral
39 Ischemia/Reperfusion Injury. *Front Aging Neurosci*. 2021; 13:717644. doi:
40 10.3389/fnagi.2021.717644.
41
- 42 Liu Q, Zhang D, Hu D, Zhou X, Zhou Y. The role of mitochondria in NLRP3,
43 inflammasome activation. *Mol. Immunol*. 2018; 103:115–124.
44
- 45 Luo GP, Ni B, Yang X, Wu YZ. von Willebrand factor: more than a regulator of
46 hemostasis and thrombosis. *Acta Haematol*. 2012;128(3):158-69. doi:
47 10.1159/000339426.
48
- 49 Lv J, Jiang X, Zhang J, Peng X, Lin H. Combined polymorphisms in genes encoding
50 the inflammasome components NLRP3 and CARD8 confer risk of ischemic stroke in

- 1 men. *J Stroke Cerebrovasc Dis.* 2020; 29(8):104874. doi:
2 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2020.104874.
3
- 4 Maes M, Nikiforov NG, Plaimas K, Suratane A, Alfieri DF, Vissoci Reiche EM. New
5 Drug Targets to Prevent Death Due to Stroke: A Review Based on Results of Protein-
6 Protein Interaction Network, Enrichment, and Annotation Analyses. *Int J Mol Sci.*
7 2021; 22(22):12108. doi: 10.3390/ijms222212108.
8
- 9 Manji GA, Wang L, Geddes BJ, Brown M, Merriam S, Al-Garawi A, Mak S, Lora JM,
10 Briskin M, Jurman M, Cao J, DiStefano PS, Bertin J. PYPAF1, a PYRIN-containing
11 Apaf1-like protein that assembles with ASC and regulates activation of NF-kappa B. *J*
12 *Biol Chem.* 2002; 277(13):11570-5. doi: 10.1074/jbc.M112208200.
13
- 14 Masenga SK, Kirabo A. The NLRP3 inflammasome in ischemic stroke. *Front. Stroke.*
15 2024; 3:1382379. doi: 10.3389/fstro.2024.1382379
16
- 17 O'Donnell MJ, Xavier D, Liu L, Zhang H, Chin SL, Rao-Melacini P, Rangarajan S,
18 Islam S, Pais P, McQueen MJ, Mondo C, Damasceno A, Lopez-Jaramillo P, Hankey
19 GJ, Dans AL, Yusuf K, Truelsen T, Diener HC, Sacco RL, Ryglewicz D, Czlonkowska
20 A, Weimar C, Wang X, Yusuf S; INTERSTROKE investigators. Risk factors for
21 ischaemic and intracerebral haemorrhagic stroke in 22 countries (the INTERSTROKE
22 study): a case-control study. *Lancet.* 2010; 376(9735):112-23. doi: 10.1016/S0140-
23 6736(10)60834-3.
24
- 25 Owolabi MO, Ugoya S, Platz T. Racial disparity in stroke risk factors: the Berlin-
26 Ibadan experience; a retrospective study. *Acta Neurol Scand.* 2009; 119(2):81-7. doi:
27 10.1111/j.1600-0404.2008.01077.x.
28
- 29 Palm F, Urbanek C, Grau A. Infection, its treatment and the risk for stroke. *Curr Vasc*
30 *Pharmacol.* 2009; 7(2):146-52. doi: 10.2174/157016109787455707.
31 Park KY, Chung PW, Kim YB, Moon HS, Suh BC, Won YS, Kim JM, Youn YC,
32 Kwon OS. Serum Vitamin D Status as a Predictor of Prognosis in Patients with Acute
33 Ischemic Stroke. *Cerebrovasc Dis.* 2015; 40(1-2):73-80. doi: 10.1159/000434691.
34
- 35 Pirš M, Jug B, Eržen B, Šabović M, Karner P, Poljak M, Tomažič J. Relationship
36 between markers of endothelial dysfunction and inflammation and subclinical
37 atherosclerosis in HIV-infected male patients below 55 years of age. *Acta*
38 *Dermatovenerol Alp Pannonica Adriat.* 2014;23(3):49-52. doi:
39 10.15570/actaapa.2014.12.
40
- 41 Pu L, Wang L, Zhang R, Zhao T, Jiang Y, Han L. Projected Global Trends in Ischemic
42 Stroke Incidence, Deaths and Disability-Adjusted Life Years From 2020 to 2030.
43 *Stroke.* 2023; 54(5):1330-1339. doi: 10.1161/STROKEAHA.122.040073. Erratum in:
44 *Stroke.* 2024; 55(1):e23. doi: 10.1161/STR.0000000000000452.
45
- 46 Puleo MG, Miceli S, Di Chiara T, Pizzo GM, Della Corte V, Simonetta I, Pinto A,
47 Tuttolomondo A. Molecular Mechanisms of Inflammasome in Ischemic Stroke
48 Pathogenesis. *Pharmaceuticals (Basel).* 2022; 15(10):1168. doi: 10.3390/ph15101168.
49
- 50 Rada B, Park JJ, Sil P, Geiszt M, Leto TL. NLRP3 inflammasome activation and

- 1 interleukin-1 β release in macrophages require calcium but are independent of calcium-
2 activated NADPH oxidases. *Inflamm Res.* 2014; 63(10):821-30. doi: 10.1007/s00011-
3 014-0756-y.
- 4
- 5 Ramiro L, Simats A, García-Berrocoso T, Montaner J. Inflammatory molecules might
6 become both biomarkers and therapeutic targets for stroke management. *Ther Adv*
7 *Neurol Disord.* 2018; 11:1756286418789340. doi: 10.1177/1756286418789340.
- 8
- 9 Reeves, Mathew J et al. “Sex differences in stroke: epidemiology, clinical presentation,
10 medical care, and outcomes.” *The Lancet. Neurology* vol. 7,10 (2008): 915-26.
11 doi:10.1016/S1474-4422(08)70193-5
- 12
- 13 Schulz UG, Flossmann E, Rothwell PM. Heritability of ischemic stroke in relation to
14 age, vascular risk factors, and subtypes of incident stroke in population-based studies.
15 *Stroke.* 2004; 35(4):819-24. doi: 10.1161/01.STR.0000121646.23955.0f.
- 16
- 17 Schunk SJ, Kleber ME, März W, Pang S, Zewinger S, Triem S, Ege P, Reichert MC,
18 Krawczyk M, Weber SN, et al. Genetically determined NLRP3 inflammasome
19 activation associates with systemic inflammation and cardiovascular Mortality. *Eur.*
20 *Heart J.* 2021; 42:1742–1756. doi: 10.1093/eurheartj/ehab107.
- 21
- 22 Schuppner R, Dirks M, Grosse GM, Böckmann M, Goetz F, Pasedag T, Bode-Böger
23 SM, Martens-Lobenhoffer J, Budde U, Lanfermann H, Lichtinghagen R, Weissenborn
24 K, Worthmann H. ADAMTS-13 Activity Predicts Outcome in Acute Ischaemic Stroke
25 Patients Undergoing Endovascular Treatment. *Thromb Haemost.* 2018; 118(4):758-767.
26 doi: 10.1055/s-0038-1637732.
- 27
- 28 Scrutinio, Domenico et al. Sex differences in long-term mortality and functional
29 outcome after rehabilitation in patients with severe stroke. *Frontiers in Neurology*, v.
30 11, p. 84, 2020.
- 31
- 32 Silva, Gisele Sampaio et al. “Sex Differences in Patients with Stroke: A Hospital-Based
33 Multicenter Prospective Study in Brazil.” *Cerebrovascular diseases (Basel,*
34 *Switzerland)* vol. 54,5 (2025): 711-717. doi:10.1159/000542940
- 35
- 36 Shi J, Zhao Y, Wang K, Shi X, Wang Y, Huang H, Zhuang Y, Cai T, Wang F, Shao F.
37 Cleavage of GSDMD by inflammatory caspases determines pyroptotic cell death.
38 *Nature.* 2015; 526(7575):660-5. doi: 10.1038/nature15514.
- 39 Sidelmann JJ, Gram J, Jespersen J, Kluft C. Fibrin clot formation and lysis: basic
40 mechanisms. *Semin Thromb Hemost.* 2000; 26(6):605-18. doi: 10.1055/s-2000-13216.
- 41
- 42 Tóth NK, Székely EG, Czuriga-Kovács KR, Sarkady F, Nagy O, Láncki LI, Berényi E,
43 Fekete K, Fekete I, Csiba L, Bagoly Z. Elevated Factor VIII and von Willebrand Factor
44 Levels Predict Unfavorable Outcome in Stroke Patients Treated with Intravenous
45 Thrombolysis. *Front Neurol.* 2018; 8:721. doi: 10.3389/fneur.2017.00721.
- 46
- 47 Touzé E, Rothwell PM. Sex differences in heritability of ischemic stroke: a systematic
48 review and meta-analysis. *Stroke.* 2008; 39(1):16-23. doi:
49 10.1161/STROKEAHA.107.484618.
- 50

- 1 Tracz J, Gorczyca-Głowacka I, Rosołowska A, Wożakowska-Kapłon B. Long-Term
2 Outcomes after Stroke in Patients with Atrial Fibrillation: A Single Center Study. *Int J*
3 *Environ Res Public Health*. 2023; 20(4):3491. doi: 10.3390/ijerph20043491.
4
- 5 Tzoulaki I, Murray GD, Lee AJ, Rumley A, Lowe GD, Fowkes FG. Relative value of
6 inflammatory, hemostatic, and rheological factors for incident myocardial infarction and
7 stroke: the Edinburgh Artery Study. *Circulation*. 2007; 115(16):2119-27. doi:
8 10.1161/CIRCULATIONAHA.106.635029.
9
- 10 van der Poll T, van de Veerdonk FL, Scicluna BP, Netea MG. The immunopathology of
11 sepsis and potential therapeutic targets. *Nat Rev Immunol*. 2017; 17:407–20. doi:
12 10.1038/nri.2017.36
13
- 14 Wang S, Fang F, Jin WB, Wang X, Zheng XS. Investigation into the Association
15 between NLRP3 gene polymorphisms and susceptibility to type 2 diabetes mellitus.
16 *Genet. Mol. Res*. 2015;1 4:17447–17452. doi: 10.4238/2015.December.21.15.
17
- 18 Wang Y, Ji H, Tong Y, Zhang Z (2014) Prognostic Value of Serum 25-Hydroxyvitamin
19 D in 1 Patients with Stroke. *Neurochem Res* 2014; 39:1332–1337.
20
- 21 Wiseman S, Marlborough F, Doubal F, Webb DJ, Wardlaw J. Blood markers of
22 coagulation, fibrinolysis, endothelial dysfunction and inflammation in lacunar stroke
23 versus non-lacunar stroke and non-stroke: systematic review and meta-analysis.
24 *Cerebrovasc Dis*. 2014; 37(1):64-75. doi: 10.1159/000356789.
25
- 26 Wu Z, Wu S, Liang T. Association of NLRP3 rs35829419 and rs10754558
27 polymorphisms with risks of autoimmune diseases: a systematic review and meta-
28 analysis. *Front. Genet*. 2021; 12:690860. doi: 10.3389/fgene.2021.690860.
29
- 30 Wu J, Wang Z, Shao W, Mo J. Bridging inflammation and venous thrombosis: the
31 NLRP3 inflammasome connection. *Front. Cardiovasc. Med*. 2025; 12:1584745. doi:
32 10.3389/fcvm.2025.1584745
33
- 34 Xiao L, Zheng H, Li J, Wang Q, Sun H. Neuroinflammation mediated by NLRP3
35 inflammasome after intracerebral hemorrhage and potential therapeutic targets. *Mol.*
36 *Neurobiol*. 2020; 57: 5130–5149.
37
- 38 Yao C, Veleva T, Scott L Jr, Cao S, Li L, Chen G, et al. Enhanced Cardiomyocyte
39 NLRP3 Inflammasome Signaling Promotes Atrial Fibrillation. *Circulation*. 2018 Nov
40 13;138(20):2227-2242. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.118.035202. Erratum in:
41 *Circulation*. 2019 Apr 23;139(17):e889. doi: 10.1161/CIR.0000000000000694.
42
- 43 Zahid A, Li B, Kombe AJK, Jin T, Tao J. Pharmacological Inhibitors of the NLRP3
44 Inflammasome. *Front Immunol*. 2019; 10:2538. doi: 10.3389/fimmu.2019.02538.
45
- 46 Zhao X, Gu C, Yan C, Zhang X, Li Y, Wang L, Ren L, Zhang Y, Peng J, Zhu Z, Han Y.
47 NALP3-inflammasome-related gene polymorphisms in patients with prehypertension
48 and coronary atherosclerosis. *Biomed Res Int*. 2016; 2016:7395627.
49 doi: 10.1155/2016/7395627.
50

1 Zheng F, Xing S, Gong Z, Xing Q. NLRP3 inflammasomes show high expression in
2 aorta of patients with atherosclerosis. *Heart Lung Circ.* 2013; 22(9):746-50. doi:
3 10.1016/j.hlc.2013.01.012.

4
5 Zhou D, Wang X, Chen T, Wen W, Liu Y, Wu Y, Yuan Z. The NLRP3 rs10754558
6 polymorphism is associated with the occurrence and prognosis of coronary artery
7 disease in the Chinese Han population. *Biomed Res Int.* 2016; 2016:3185397. doi:
8 10.1155/2016/3185397.

9
10 Zhu Z, Yan J, Geng C, Wang D, Li C, Feng S, Wang H. A Polymorphism within the
11 3'UTR of NLRP3 is associated with susceptibility for ischemic stroke in Chinese
12 population. *Cell Mol Neurobiol.* 2016; 36(6):981-988. doi: 10.1007/s10571-015-0288-
13 1.

14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48

6 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos permitem as seguintes conclusões:

- A frequência dos genótipos da variante *NLRP3* rs10754558 (C>G) em pacientes com AVCI estava em equilíbrio de Hardy-Weinberg; a frequência do alelo C foi de 0,598 e do alelo G foi de 0,402;
- Pacientes com AVCI com piores desfechos eram mais velhos, tinham menor IMC e exibiam níveis mais altos de inflamação sistêmica e vWF;
- A fibrilação atrial foi a única variável categórica associada a um pior desfecho (OR = 4,38, IC 95%: 1,35–14,25).
- Não se observou associação direta entre os genótipos da variante *NLRP3* rs10754558 C>G com o desfecho clínico dos pacientes com AVCI ($\chi^2 = 2.243$, $p = 0.326$);
- A regressão linear múltipla identificou o Índice de Inflamação como o preditor independente mais forte do desfecho do AVCI, explicando 17,2% de sua variância, que aumentou para 22,6% ($R^2=0,226$) após o ajuste para a idade;
- Os determinantes da inflamação incluíram a atividade do FVIII, o genótipo *NLRP3* GG (modelo recessivo), os níveis de Proteína C e o sexo masculino, explicando coletivamente 24,1% ($R^2=0,241$) da variância no Índice de Inflamação;
- A regressão logística binária demonstrou que a pontuação NIHSS basal e o Índice de Inflamação previram, independentemente, a mortalidade em três meses, enquanto um IMC mais baixo e uma inflamação mais elevada previram independentemente piores desfechos clínicos;
- O genótipo GG, FVIII e a Proteína C exerceram efeitos no desfecho clínico que foram mediados pela inflamação sistêmica.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS FUTURAS

A integração de dados genômicos, epigenômicos, proteômicos e metabolômicos em plataformas de medicina de precisão promete revolucionar o tratamento das DCVs e cerebrovasculares. Esta abordagem integrativa permitirá identificar subpopulações de pacientes que se beneficiariam maximamente de terapias anti-inflamassoma baseadas em perfis moleculares individualizados, incluindo polimorfismos genéticos no NLRP3, padrões de metilação epigenética, assinaturas de expressão de microRNAs e perfis metabólicos específicos (Panda *et al.*, 2022; Cao *et al.*, 2023).

Este estudo apresenta diversas limitações que devem ser reconhecidas. Em primeiro lugar, o desenho transversal impede o estabelecimento de relações causais firmes entre a resposta inflamatória e o desfecho do AVCI. Em segundo lugar, embora tenhamos controlado os principais fatores de confusão, não se pode descartar a influência residual de variáveis não mensuradas, como dieta, atividade física e outros fatores genéticos. Além disso, apesar da exclusão de comorbidades importantes, o impacto potencial de distúrbios não diagnosticados ou subclínicos permanece. Embora as variâncias explicadas (R^2) sejam moderadas, elas são consistentes com processos multifatoriais complexos. Dada a heterogeneidade e a natureza dinâmica das alterações celulares e moleculares que ocorrem após o AVCI, um único biomarcador não preverá com precisão todos os desfechos adversos do evento isquêmico.

Em conjunto, os resultados obtidos corroboram a inflamação como um potencial mediador que liga as anormalidades da coagulação ao prognóstico clínico. Estudos longitudinais e intervencionais futuros são necessários para testar formalmente essa via de mediação e estabelecer relações causais.

A visão detalhada e integrada do inflamassoma NLRP3 como elo essencial nas vias inflamatórias que sustentam a progressão das doenças vasculares e neurovasculares inaugura nova era no tratamento dessas condições, otimizando a relação risco-benefício através de estratégias terapêuticas personalizadas, inovadoras e eficazes, com impacto potencial significativo na saúde pública global.

1 REFERÊNCIAS

2
3 ADAMS, H. P. *et al.* Classification of subtype of acute ischemic stroke: definitions for
4 use in a multicenter clinical trial. *Stroke*, v. 24, n. 1, p. 35-41, 1993.

5
6 ADDOBBATI, C. *et al.* Polymorphisms and expression of inflammasome genes are
7 associated with the development and severity of rheumatoid arthritis in Brazilian patients.
8 *Inflammation Research*, v. 67, p. 255-264, 2018

9
10 ALAKBARZADE, V. *et al.* Utility of current thrombophilia screening in young patients
11 with stroke and TIA. *Stroke and Vascular Neurology*, v. 3, n. 4, p. 231–236, 12 set. 2018.

12
13 ALFIERI, D. F. *et al.* Vitamin D deficiency is associated with acute ischemic stroke, C-
14 reactive protein, and short-term outcome. *Metabolic Brain Disease*, v. 32, n. 2, p. 493–
15 502, 14 dez. 2016.

16
17 ALISHAHI, M. *et al.* NLRP3 inflammasome in ischemic stroke: as possible therapeutic
18 target. *International Journal of Stroke*, v. 14, n. 6, p. 574–591, 2019.

19
20 AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Standards of medical care in diabetes -
21 2014. *Diabetes Care*, v.37, n.1, p.14-80. 2014.

22 BAI, Baochen *et al.* NLRP3 inflammasome in endothelial dysfunction. *Cell Death &*
23 *Disease*, v. 11, n. 9, p. 776, 2020.

24 BENJAMIN, E. J. *et al.* Heart disease and stroke statistics—2018 update: a report from
25 the American Heart Association. *Circulation*, v. 137, n. 12, p. e67–e492, 2018.

26
27 BONITA, R.; BEAGLEHOLE, R. Recovery of motor function after stroke. *Stroke*, v.
28 19, n. 12, p. 1497–1500, dez. 1988.

29
30 BOEHME, A. K.; ESENWA, C.; ELKIND, M. S. V. Stroke risk factors, genetics, and
31 prevention. *Circulation research*, v. 120, n. 3, p. 472–495, 3 fev. 2017.

32
33 BROTT, T. *et al.* Measurements of acute cerebral infarction: a clinical examination
34 scale. *Stroke*, v. 20, p. 864–70, Jul. 1989. doi: 10.1161/01.str.20.7.864.

35
36 BRASIL. *Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas do Acidente Vascular Cerebral*
37 *Isquêmico Agudo*. Disponível em: <[https://www.gov.br/conitec/pt-](https://www.gov.br/conitec/pt-br/midias/consultas/relatorios/2021/20211230_relatorio_recomendacao_avci_agudo_cp110.pdf)
38 [br/midias/consultas/relatorios/2021/20211230_relatorio_recomendacao_avci_agudo_cp](https://www.gov.br/conitec/pt-br/midias/consultas/relatorios/2021/20211230_relatorio_recomendacao_avci_agudo_cp110.pdf)
39 [110.pdf](https://www.gov.br/conitec/pt-br/midias/consultas/relatorios/2021/20211230_relatorio_recomendacao_avci_agudo_cp110.pdf)

40
41 BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. *Acidente vascular cerebral: informações básicas*.
42 Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/a/avc>. Acesso
43 em: 5 ago. 2025.

44
45 BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Vigilância em Saúde e
46 Ambiente. *Sistema de Informações sobre Mortalidade (SIM)*. Brasília: Ministério da
47 Saúde, 2025. Disponível em: <http://sim.saude.gov.br/>. Acesso em: 10 fev. 2026

48
49 BURINI, R. C. *et al.* Inflamação, atividade física e doenças crônicas. *Revista Brasileira*

- 1 *de Medicina do Esporte*, 2020.
- 2
- 3 CABRAL, A. C. Perfil epidemiológico de doenças cerebrovasculares e aspectos sociais
4 relacionados. *Revista Brasileira de Saúde*, 2009.
- 5 CAMPBELL, B. C. V. *et al.* Ischaemic stroke. *Nature Reviews. Disease Primers*, v. 5, n.
6 1, p. 70, 2019.
- 7
- 8 CAO, Y. *et al.* The NLRP3 inflammasome: contributions to inflammation-related
9 diseases. *Cellular & Molecular Biology Letters*, v. 28, n. 1, 27 jun. 2023.
- 10
- 11 CHE MOHD NASSIR, C. M. N. *et al.* The NLRP3 inflammasome in age-related cerebral
12 small vessel disease manifestations: untying the innate immune response
13 connection. *Life*, v. 13, n. 1, p. 216, 12 jan. 2023.
- 14
- 15 CHEN, X. *et al.* Inflammasome-independent mechanism of NLRP3 is critical for
16 platelet GPIb-IX function and thrombosis. *Thrombosis and Haemostasis*, v. 124, n. 12,
17 p. 1095–1113, 2024.
- 18
- 19 CHENG, L. *et al.* Rs4612666 polymorphism of the NLRP3 gene is associated with the
20 occurrence of large artery atherosclerotic ischemic strokes and microembolic
21 signals. *BioMed Research International*, v. 2018, p. 1–9, 1 jan. 2018.
- 22
- 23 CHENG, Y. *et al.* Association between polymorphisms in the NLRP3 gene and
24 ischemic stroke in a Chinese Han population. *J Neuroinflammation*, v. 15, n. 1, 2018.
- 25
- 26 CONNOR, M. D. *et al.* Burden of stroke in black populations in sub-Saharan
27 Africa. *The Lancet Neurology*, v. 6, n. 3, p. 269–278, mar. 2007.
- 28
- 29 CREAGH, E. M. Caspase crosstalk: integration of apoptotic and innate immune
30 signaling pathways. *Trends in Immunology*, v. 35, n. 12, p. 631–640, dez. 2014.
- 31
- 32 CUI, Y. *et al.* The role of the NLRP3 inflammasome in central nervous system
33 diseases. *Neurochemistry Research*, v. 46, n. 4, p. 905–917, 2021.
- 34
- 35 DEHLENDORFF, C. *et al.* Body mass index and death by stroke: no obesity paradox:
36 No obesity paradox. *JAMA Neurology*, v. 71, n. 8, p. 978–984, 2014.
- 37
- 38 DENORME, F. *et al.* Neutrophil extracellular traps regulate ischemic stroke brain
39 injury. *Circulation Research*, v. 125, n. 5, p. 507–518, 2019.
- 40
- 41 DE SOUZA, O. F. *et al.* Sex disparity in stroke mortality among adults: A time series analysis in
42 the Greater Vitoria region, Brazil (2000-2021). *Epidemiologia (Basel, Switzerland)*, v. 5, n. 3, p.
43 402–410, 2024.
- 44
- 45 DÍAZ-GARCÍA, E. *et al.* Inflammasome activation: a keystone of proinflammatory
46 response in obstructive sleep apnea. *IBJ Plus*, v. 1, n. s5, p. 12–12, 2022.
- 47
- 48 DING, Sujuan *et al.* Modulatory mechanisms of the NLRP3 inflammasomes in
49 diabetes. *Biomolecules*, v. 9, n. 12, p. 850, 2019.
- 50

- 1 DINARELLO, C. A. Immunological and inflammatory functions of the interleukin-1
2 family. *Annual Review of Immunology*, v. 27, n. 1, p. 519–550, 1 abr. 2009.
3
- 4 DONKEL, S. J. *et al.* Prognostic hemostasis biomarkers in acute ischemic
5 stroke. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, v. 39, n. 3, p. 360–372, 1
6 mar. 2019.
7
- 8 FANN, D. Y.W. *et al.* Pathophysiology and therapeutic potential of inflammasomes in
9 ischemic stroke. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, v. 40, n. 4, p. 457–
10 475, 2020.
11
- 12 FANN, D.Y-W. *et al.* Pathogenesis of acute stroke and the role of
13 inflammasomes. *Ageing Research Reviews*, v. 12, n. 4, p. 941–966, 2013.
14
- 15 FANN, D.Y-W. *et al.* Evidence that NF-KB and MAPK signaling promotes NLRP
16 inflammasome activation in neurons following ischemic stroke. *Molecular*
17 *Neurobiology*, n. 55, p. 1082–1096, 2018.
18
- 19 FANN, D. Y.-W. *et al.* Intravenous immunoglobulin suppresses NLRP1 and NLRP3
20 inflammasome-mediated neuronal death in ischemic stroke. *Cell Death & Disease*, v. 4,
21 n. 9, p. e790–e790, set. 2013.
22
- 23 FEIGIN, V. L. *et al.* World Stroke Organization (WSO): Global stroke fact sheet
24 2022. *International Journal of Stroke*, v. 17, n. 1, p. 18–29, 5 jan. 2022.
25
- 26 FENG, Y.-S. *et al.* Inhibition of NLRP3 inflammasome: a prospective target for the
27 treatment of ischemic stroke. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, v. 14, p. 155, 2020.
28
- 29 FERNANDES, F. P. *et al.* Inflammasome genetics and complex diseases: a
30 comprehensive review. *European Journal of Human Genetics*, v. 28, n. 10, p. 1307-1321,
31 2020.
32
- 33 GO, A. S. *et al.* Heart disease and stroke statistics—2014 update: a report from the
34 American Heart Association. *Circulation*, v. 129, n. 3, p. e28–e292, 2014.
35
- 36 GREBE, A.; HOSS, F.; LATZ, E. NLRP3 inflammasome and the IL-1 pathway in
37 atherosclerosis. *Circulation Research*, v. 122, n. 12, p. 1722–1740, 2018.
38
- 39 GRUNDY, Scott M. *et al.* 2018
40 AHA/ACC/AACVPR/AAPA/ABC/ACPM/ADA/AGS/APhA/ASPC/NLA/PCNA
41 guideline on the management of blood cholesterol: A report of the American college of
42 cardiology/American heart association task force on clinical practice guidelines: A report
43 of the American college of cardiology/American heart association task force on clinical
44 practice guidelines. *Circulation*, v. 139, n. 25, p. e1082–e1143, 2019
45
- 46 GUIMARAES, J.; AZEVEDO, E. Causas genéticas de acidente vascular cerebral
47 isquémico. *Arquivos de Medicina*, v. 24, n. 1, p. 23-28, 2010.
48
- 49 GUO, Yutao; LIP, Gregory Y. H.; APOSTOLAKIS, Stavros. Inflammation in atrial
50 fibrillation. *Journal of the American College of Cardiology*, v. 60, n. 22, p. 2263–2270,

- 1 2012
2
- 3 HALLE, A. *et al.* The NALP3 inflammasome is involved in the innate immune response
4 to amyloid-beta. *Nature Immunology*, v. 9, n. 8, p. 857-865, 2008.
5
- 6 HEGER, L. A. *et al.* Neutrophil NLRP3 promotes cardiac injury following acute
7 myocardial infarction through IL-1 β production, VWF release and NET deposition in the
8 myocardium. *Scientific Reports*, v. 14, n. 1, p. 14524, 2024.
9
- 10 HITOMI, Y. *et al.* Associations of functional NLRP3 polymorphisms with
11 susceptibility to food-induced anaphylaxis and aspirin-induced asthma. *The Journal of*
12 *Allergy and Clinical Immunology*, v. 124, n. 4, p. 779-785.e6, 1 out. 2009.
13
- 14 HOSEINI, Z. *et al.* NLRP3 inflammasome: its regulation and involvement in
15 atherosclerosis. *Journal of Cellular Physiology*, v. 233, n. 3, p. 2116–2132, 2018.
16
- 17 HUA, K.-F. *et al.* Osthole mitigates progressive IgA nephropathy by inhibiting reactive
18 oxygen species generation and NF- κ B/NLRP3 pathway. *PloS One*, v. 8, n. 10, p.
19 e77794–e77794, 28 out. 2013.
20
- 21 IADECOLA, C.; ANRATHER, J. The immunology of stroke: from mechanisms to
22 translation. *Nature Medicine*, v. 17, n. 7, p. 796–808, 2011.
- 23 JACOB, M. A. *et al.* Global differences in risk factors, etiology, and outcome of
24 ischemic stroke in young adults-A worldwide meta-analysis: The GOAL initiative: The
25 GOAL initiative. *Neurology*, v. 98, n. 6, p. e573–e588, 2022.
26
- 27 JAMES, P. A. *et al.* 2014 evidence-based guideline for the management of high blood
28 pressure in adults: report from the panel members appointed to the Eighth Joint National
29 Committee (JNC 8). *JAMA*, v.311, n.5, p.507-520. 2014.
- 30 JURCAU, A.; SIMION, A. Inflammation in ischemic stroke: mechanisms, clinical
31 consequences, and therapeutic approaches. *Archives of Medical Research*, v. 53, n. 3, p.
32 382-394, 2022.
33
- 34 CASSOLA, N. *et al.* Duplex ultrasound for diagnosing symptomatic carotid stenosis in
35 the extracranial segments. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, v. 7, n. 7, p.
36 CD013172, 2022
37
- 38 KAROLINY, S. *Avaliação da função de células endoteliais frente a inibição do*
39 *inflamasoma NLRP3 em modelo in vitro de pré-eclâmpsia*. Disponível em:
40 <[https://repositorio.unesp.br/entities/publication/dd14cfd5-49d5-4497-9c4c-](https://repositorio.unesp.br/entities/publication/dd14cfd5-49d5-4497-9c4c-732b0353b3ff)
41 [732b0353b3ff](https://repositorio.unesp.br/entities/publication/dd14cfd5-49d5-4497-9c4c-732b0353b3ff)>. Acesso em: 3 ago. 2025
42
- 43 KASTBOM, A. *et al.* Genetic variants of the NLRP3 inflammasome are associated with
44 stroke in patients with rheumatoid arthritis. *The Journal of Rheumatology*, v. 42, n. 10, p.
45 1740–1745, 2015.
46
- 47 KELLEY, N. *et al.* The NLRP3 inflammasome: an overview of mechanisms of
48 activation and regulation. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 20, n. 13, p.
49 3328, 6 jul. 2019.

- 1
2 KUMAR, N. *et al.* A susceptibility putative haplotype within NLRP3 inflammasome
3 gene influences ischaemic stroke risk in the population of Punjab, India. *International*
4 *Journal of Immunogenetics*, v. 49, n. 4, p. 260–270, ago. 2022.
5
- 6 LEE, Y. H.; BAE, S-C. Association between functional *NLRP3* polymorphisms and
7 susceptibility to autoimmune and inflammatory diseases: a meta-analysis. *Lupus*, v. 25,
8 n. 14, p. 1558–1566, 9 abr. 2016.
9
- 10 LEHMANN, A. L.C.F. *et al.* Immune-inflammatory, coagulation, adhesion, and
11 imaging biomarkers combined in machine learning models improve the prediction of
12 death 1 year after ischemic stroke. *Clinical and Experimental Medicine*, v. 22, n. 1, p.
13 111–123, 12 jun. 2021.
14
- 15 LEHMANN, A. L. C. F. *et al.* Carotid intima media thickness measurements coupled
16 with stroke severity strongly predict short-term outcome in patients with acute ischemic
17 stroke: a machine learning study. *Metabolic Brain Disease*, v. 36, n. 7, p. 1747–1761, 4
18 ago. 2021.
19
- 20 LI, T. *et al.* Interaction of coagulation and inflammation after ischemic stroke: Potential
21 mechanisms and therapeutic targets. *Cellular and Molecular Neurobiology*, v. 43, n. 8,
22 p. 3089–3104, 2023.
23
- 24 LI, X. *et al.* Caspase-1 and gasdermin D afford the optimal targets with distinct
25 switching strategies in NLRP1b inflammasome-induced cell death. *Research*
26 *(Washington, D.C.)*, v. 2022, p. 9838341, 2022.
27
- 28 LI, X.-Y. *et al.* High salt intake and stroke: meta-analysis of the epidemiologic
29 evidence. *CNS Neuroscience & Therapeutics*, v. 18, n. 8, p. 691–701, 28 jun. 2012.
30
- 31 LIMA, F. S. *et al.* Ativação e regulação do inflamassoma NLRP3 em modelos
32 experimentais de neuroinflamação. *Revista Neurociências*, 2023.
33
- 34 LIU, J. *et al.* Enriched environment attenuates pyroptosis to improve functional
35 recovery after cerebral ischemia/reperfusion injury. *Frontiers in Aging Neuroscience*, v.
36 13, 27 set. 2021.
37
- 38 LIU, Q. *et al.* The role of mitochondria in NLRP3 inflammasome activation. *Molecular*
39 *Immunology*. v.103, p. 115–124. 2018,
40
- 41 LV, J. *et al.* Combined polymorphisms in genes encoding the inflammasome
42 components NLRP3 and CARD8 confer risk of ischemic stroke in men. *Journal of*
43 *Stroke and Cerebrovascular Diseases*, v. 29, n. 8, p. 104874, ago. 2020.
44
- 45 MANGAN, M. S. J. *et al.* Targeting the NLRP3 inflammasome in inflammatory
46 diseases. *Nature Reviews. Drug Discovery*, v. 17, n. 8, p. 588–606, 2018.
47
- 48 MANJI, G. A. *et al.* PYPAF1, a PYRIN-containing Apaf1-like protein that assembles
49 with ASC and regulates activation of NF- κ B. *Journal of Biological Chemistry*, v. 277, n.
50 13, p. 11570–11575, mar. 2002.

- 1 MARTIN, S. S. *et al.* 2025 Heart disease and stroke statistics: a report of US and global
2 data from the American Heart Association. *Circulation*, v. 151, n. 8, 27 jan. 2025.
3
- 4 MARTINS, S. C. O. *et al.* Priorities to reduce the burden of stroke in Latin American
5 countries. *The Lancet Neurology*, v. 18, n. 7, p. 674–683, 1 jul. 2019.
6
- 7 MASENGA, S. K.; ANNET KIRABO. The NLRP3 inflammasome in ischemic
8 stroke. *Frontiers in Stroke*, v. 3, 14 jun. 2024.
9
- 10 MO, B.; DING, Y.; JI, Q. NLRP3 inflammasome in cardiovascular diseases: an
11 update. *Frontiers in Immunology*, v. 16, p. 1550226, 2025.
12
- 13 MORAES, M. de A. *et al.* Clinical characterization, disability, and mortality in people
14 with strokes during 90 days. *Revista Brasileira de Enfermagem*, v. 75, n. 2, p. e20201383,
15 2021.
16
- 17 MORAIS, D. F. *et al.* A modulação do inflamassoma NLRP3 pelo exercício físico na
18 hipertensão arterial sistêmica: uma revisão de escopo. *Revista Brasileira de Prescrição e*
19 *Fisiologia do Exercício*, v.17, n.112, p. 548-566, 2023.
20
- 21 AHA/ACC/AACVPR/AAPA/ABC/ACPM/ADA/AGS/APhA/ASPC/NLA/PCNA
22 guideline on the management of blood cholesterol: A report of the American college of
23 cardiology/American heart association task force on clinical practice guidelines: A report
24 of the American college of cardiology/American heart association task force on clinical
25 practice guidelines. *Circulation*, v. 139, n. 25, p. e1082–e1143, 2019.
26
- 27 O'BRIEN, W. T. *et al.* The NLRP3 inflammasome in traumatic brain injury: potential as
28 a biomarker and therapeutic target. *Journal of Neuroinflammation*, 17, n. 1, p. 104, Apr
29 6 2020.
- 30 O'DONNELL, M. J. *et al.* Risk factors for ischaemic and intracerebral haemorrhagic
31 stroke in 22 countries (the INTERSTROKE study): a case-control study. *Lancet*, v. 376,
32 n. 9735, p. 112–123, 2010.
- 33 OVBIAGELE, B. *et al.* Forecasting the future of stroke in the United States: a policy
34 statement from the American Heart Association and American Stroke Association.
35 *Stroke*, v. 44, p. 2361-2375. 2013.
- 36 OWOLABI, M. O.; UGOYA, S.; PLATZ, T. Racial disparity in stroke risk factors: the
37 Berlin-Ibadan experience; a retrospective study. *Acta Neurologica Scandinavica*, v. 119,
38 n. 2, p. 81–87, fev. 2009.
39
- 40 PALM, F.; URBANEK, C.; GRAU, A. Infection, its treatment and the risk for
41 stroke. *Current Vascular Pharmacology*, v. 7, n. 2, p. 146–152, 1 abr. 2009.
42
- 43 PARK, K. Y. *et al.* Serum vitamin D status as a predictor of prognosis in patients with
44 acute ischemic stroke. *Cerebrovascular Diseases*, v.40, n.1–2, p.73-80. 2015.
45
- 46 PANDA, P. *et al.* Biomarkers of oxidative stress tethered to cardiovascular
47 diseases. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, v. 2022, p. 1–15, 24 jun. 2022.

- 1 PRÓCHNICKI, T. *et al.* Mitochondrial damage activates the NLRP10
2 inflammasome. *Nature Immunology*, p. 1–9, 20 mar. 2023.
3
- 4 PU, L. *et al.* Projected Global Trends in Ischemic Stroke Incidence, Deaths and
5 Disability-Adjusted Life Years from 2020 to 2030: *Stroke*, v. 54, n. 5, p. 1330–1339, 1
6 maio 2023.
7
- 8 PULEO, M. G. *et al.* Molecular mechanisms of inflammasome in ischemic stroke
9 pathogenesis. *Pharmaceuticals (Basel, Switzerland)*, v. 15, n. 10, p. 1168, 2022.
10
- 11 QIAN, G. *et al.* Advances in imaging diagnosis and clinical research of carotid
12 plaque. *Advances in Clinical Medicine*, v. 13, n. 11, p. 17591–17595, 2023
13
- 14 QIN, C. *et al.* Signaling pathways involved in ischemic stroke: molecular mechanisms
15 and therapeutic interventions. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, v. 7, n. 1, p.
16 215, 2022.
17
- 18 RADA, B. *et al.* NLRP3 inflammasome activation and interleukin-1 β release in
19 macrophages require calcium but are independent of calcium-activated NADPH
20 oxidases. *Inflammation Research*, v. 63, n. 10, p. 821–830, 22 jul. 2014.
21
- 22 RAHBAR, M. H. *et al.* Younger age of stroke in low-middle income countries is related
23 to healthcare access and quality. *Annals of Clinical and Translational Neurology*, v. 9, n.
24 3, p. 415–427, 2022
25
- 26 RAMIRO, L. *et al.* Inflammatory molecules might become both biomarkers and
27 therapeutic targets for stroke management. *Therapeutic Advances in Neurological*
28 *Disorders*, v. 11, p. 1756286418789340, 6 ago. 2018.
29
- 30 REEVES, M.J. *et al.* Sex differences in stroke: epidemiology, clinical presentation,
31 medical care, and outcomes. *Lancet Neurology*, v. 7, n. 10, p. 915–926, 2008.
32
- 33 REZENDE, G. M. *et al.* Inflamassoma NLRP3: papel central na resposta
34 imunoinflamatória e potenciais alvos terapêuticos. *Sociedade Brasileira de Imunologia*,
35 2025. Disponível em: [https://sbi.org.br/sblogi/inflamassoma-o-vigia-da-integridade-](https://sbi.org.br/sblogi/inflamassoma-o-vigia-da-integridade-mitocondrial/)
36 [mitocondrial/](https://sbi.org.br/sblogi/inflamassoma-o-vigia-da-integridade-mitocondrial/). Acesso em: 1 ago. 2025.
37
- 38 RIDKER, P. M. *et al.* Anti-inflammatory therapy with canakinumab for atherosclerotic
39 disease. *New England Journal of Medicine*, v. 377, n. 12, p. 1119–1131, 2017.
40
- 41 ROGER, V. L. *et al.* Heart disease and stroke statistics—2011 update: a report from the
42 American Heart Association. *Circulation*, v. 123, n. 4, p. e18–e209, 2011.
43
- 44 SANTAMARIA, S.; DE GROOT, R. ADAMTS proteases in cardiovascular physiology
45 and disease. *Open Biology*, v. 10, n. 12, p. 200333, 2020.
46
- 47 SCHULZ, U. G. R.; FLOSSMANN, E.; ROTHWELL, P. M. Heritability of ischemic
48 stroke in relation to age, vascular risk factors, and subtypes of incident stroke in
49 population-based studies. *Stroke*, v. 35, n. 4, p. 819–824, abr. 2004.

- 1 SCHUNK, S. J. *et al.* Genetically determined NLRP3 inflammasome activation
2 associates with systemic inflammation and cardiovascular mortality. *European Heart*
3 *Journal*, v. 42, n. 18, p. 1742–1756, 22 mar. 2021.
4
- 5 SCRUTINIO, D. *et al.* Sex differences in long-term mortality and functional outcome
6 after rehabilitation in patients with severe stroke. *Frontiers in Neurology*, v. 11, p. 84,
7 2020.
8
- 9 SHI, J. *et al.* Cleavage of GSDMD by inflammatory caspases determines pyroptotic cell
10 death. *Nature*, v. 526, n. 7575, p. 660–665, 16 set. 2015.
11
- 12 SHIRAI, K. *et al.* Senescent endothelial cells enhance inflammatory reactions during
13 vascular disease development. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 2019.
14
- 15 SILVA, G. S. *et al.* Sex differences in patients with stroke: A hospital-based multicenter
16 prospective study in Brazil. *Cerebrovascular Diseases (Basel, Switzerland)*, v. 54, n. 5,
17 p. 711–717, 2025.
18
- 19 SILVA, R. A. *et al.* Mecanismos de ativação e modulação do inflamassoma NLRP3 na
20 doença renal diabética. *Jornal Brasileiro de Nefrologia*, v. 45, 2024.
21
- 22 TOLDO, S. *et al.* Inflammasome, pyroptosis, and cytokines in myocardial infarction
23 and ischemic stroke: Mechanisms and potential therapies. *Pharmaceuticals (Basel)*, v.
24 15, n. 10, 2022a.
25
- 26 TOLDO, S. *et al.* Targeting the NLRP3 inflammasome in cardiovascular
27 diseases. *Pharmacology & Therapeutics*, v. 236, n. 108053, p. 108053, 2022b.
28
- 29 TORICES, S. *et al.* The NLRP3 inflammasome and gut dysbiosis as a putative link
30 between HIV-1 infection and ischemic stroke. *Trends in Neurosciences*, v. 46, n. 8, p.
31 682–693, ago. 2023.
32
- 33 TÓTH, N.K. *et al.* Elevated Factor VIII and von Willebrand Factor levels predict
34 unfavorable outcome in stroke patients treated with intravenous thrombolysis. *Frontiers*
35 *in Neurology*, v. 8, 23 jan. 2018.
36
- 37 TOUZÉE.; ROTHWELL, P. M. Sex differences in heritability of ischemic
38 stroke. *Stroke*, v. 39, n. 1, p. 16–23, jan. 2008.
39
- 40 TRACZ, Justyna *et al.* Long-term outcomes after stroke in patients with atrial
41 fibrillation: A single center study. *International Journal of Environmental Research and*
42 *Public Health*, v. 20, n. 4, p. 3491, 2023.
43
- 44 TUTTOLOMONDO, A.; DAIDONE, M.; PINTO, A. Endothelial dysfunction and
45 inflammation in ischemic stroke pathogenesis. *Current Pharmaceutical Design*, v. 26,
46 n. 34, p. 4209–4219, 13 out. 2020.
47
- 48 TZOULAKI, I. *et al.* Relative value of inflammatory, hemostatic, and rheological factors
49 for incident myocardial infarction and stroke. *Circulation*, v. 115, n. 16, p. 2119–2127,
50 24 abr. 2007.

- 1 VAN DER POLL, T. *et al.* The immunopathology of sepsis and potential therapeutic
2 targets. *Nature Reviews Immunology*, v. 17, n. 7, p. 407–420, 2017.
- 3
- 4 WANG, M. *et al.* The NLRP3 inflammasome and ischemic stroke: Molecular
5 mechanisms and potential therapeutic targets. *Front Stroke*, v. 3, 2024.
- 6
- 7 WANG, Q. *et al.* NLRP3 inflammasome activation and neuroinflammation in ischemic
8 stroke: An updated review. *Translational Stroke Research*, v. 11, n. 2, p. 309–321, 2020.
- 9 WANG, S. *et al.* Investigation into the association between NLRP3 gene polymorphisms
10 and susceptibility to type 2 diabetes mellitus. *Genetics and Molecular Research*, v. 14, n.
11 4, p. 17447–52, Spring 2015.
- 12 WEI, Z.-N.; KUANG, J.-G. Vitamin D deficiency in relation to the poor functional
13 outcomes in nondiabetic patients with ischemic stroke. *Bioscience Reports*, v. 38, n. 2, 5
14 mar. 2018.
- 15 WISEMAN, S. *et al.* Blood markers of coagulation, fibrinolysis, endothelial
16 dysfunction and inflammation in lacunar stroke versus non-lacunar stroke and non-
17 stroke: systematic review and meta-analysis. *Cerebrovascular Diseases*, v. 37, n. 1, p.
18 64–75, 21 dez. 2013.
- 19
- 20 WU, J. *et al.* Bridging inflammation and venous thrombosis: the NLRP3 inflammasome
21 connection. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*, v. 12, p. 1584745, 2025.
- 22
- 23 WU, Z.; WU, S.; LIANG, T. Association of NLRP3 rs35829419 and rs10754558
24 polymorphisms with risks of autoimmune diseases: a systematic review and meta-
25 analysis. *Frontiers in Genetics*, v. 12, 22 jul. 2021.
- 26
- 27 XIAO, L. *et al.* Neuroinflammation mediated by NLRP3 inflammasome after
28 intracerebral hemorrhage and potential therapeutic targets. *Molecular Neurobiology*, v.
29 57, n. 12, p. 5130–5149, 2020.
- 30
- 31 YAO, Chunxia *et al.* Enhanced cardiomyocyte NLRP3 inflammasome signaling
32 promotes atrial fibrillation. *Circulation*, v. 138, n. 20, p. 2227–2242, 2018.
- 33
- 34 ZAHID, A. *et al.* Pharmacological inhibitors of the NLRP3 inflammasome. *Frontiers in*
35 *Immunology*, v. 10, p. 2538, 2019.
- 36
- 37 ZHANG, Q.-B. *et al.* Association of NLRP3 polymorphisms with susceptibility to
38 primary gouty arthritis in a Chinese Han population. *Clinical Rheumatology*, v. 37,
39 p. 235–244, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10067-017-3900-6>.
- 40
- 41 ZHAO, C.; ZHAO, W. NLRP3 Inflammasome—a key player in antiviral
42 responses. *Frontiers in Immunology*, v. 11, p. 211, 2020.
- 43
- 44 ZHAO, X. *et al.* NALP3-Inflammasome-Related Gene Polymorphisms in Patients with
45 Prehypertension and Coronary Atherosclerosis. *BioMed Research International*, v.
46 2016, p. 1–10, 2016.
- 47

1 ZHENG, F. *et al.* NLRP3 inflammasomes show high expression in aorta of patients
2 with atherosclerosis. *Heart, Lung and Circulation*, v. 22, n. 9, p. 746–750, set. 2013.

3
4 ZHOU, D. *et al.* The *NLRP3* rs10754558 polymorphism is associated with the
5 occurrence and prognosis of coronary artery disease in the Chinese Han
6 population. *BioMed Research International*, v. 2016, p. 1–9, 2016.

7
8 ZHU, Z. *et al.* A Polymorphism within the 3'UTR of NLRP3 is associated with
9 susceptibility for ischemic stroke in Chinese population. *Cellular and Molecular*
10 *Neurobiology*, v. 36, n. 6, p. 981-988, 2016. Disponível
11 em: <https://doi.org/10.1007/s10571-015-0288-1>.

12

13

14

15

16

17

18

19

20

21

22

23

24

25

26

27

28

29

30

31

32

33

34

1 APÊNDICES

2 APÊNCIDE A

3 Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

4 5 6 **“ASSOCIAÇÃO ENTRE MARCADORES INFLAMATÓRIOS, ANTI- 7 INFLAMATÓRIOS E METABÓLICOS COM AS PLACAS CAROTÍDEAS 8 EXAMINADAS COM *DOPPLER* 9 EM PACIENTES COM ACIDENTE VASCULAR ENCEFÁLICO ISQUÊMICO 10 AGUDO”**

11
12 Prezado(a) Senhor(a):

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

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

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

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

49 Os benefícios esperados são um melhor conhecimento das alterações
50 inflamatórias e do metabolismo associadas com a placa de aterosclerose na carótida que

1 poderá ser uma alternativa precoce e simples de antever a evolução nos casos de derrame
2 cerebral a fim de auxiliar na decisão terapêutica destes pacientes.

3 Quanto aos riscos, informamos que sua participação não acarretará em qualquer risco à
4 sua saúde nem alteração de qualquer um dos seus tratamentos. A ultrassonografia com *doppler*
5 de carótida é um exame indolor e não invasivo que não apresenta risco ao paciente. O sangue que
6 será coletado para a pesquisa será parte da mesma coleta de exames de rotina que será realizada
7 independentemente de sua participação ou não no estudo e desta forma, não vos acarreta em
8 nenhum risco adicional. A coleta de sangue venoso será realizada por profissionais treinados do
9 HU/UEL e pode ocasionar sinais decorrentes da punção venosa e consiste em dor no local da
10 punção venosa ou pequeno hematoma e, muito raramente, vermelhidão ou infecção local. Mesmo
11 sendo mínimos, caso ocorra algum tipo de desconforto o participante será prontamente atendido
12 e amparado pelos farmacêuticos responsáveis pela coleta de sangue e um dos pesquisadores deste
13 estudo.

14 Caso o(a) senhor(a) tenha dúvidas ou necessite de maiores esclarecimentos poderá nos
15 contatar a professora e pesquisadora Edna Maria Vissoci Reiche, no Laboratório de Análises
16 Clínicas do HU/UEL, na avenida Robert Koch, 60, Vila Operária, pelos telefones 43-3371-2321
17 (laboratório) ou [REDACTED] (celular), ou ainda por email (reiche@sercomtel.com.br), ou
18 procurar o Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da Universidade Estadual
19 de Londrina, situado junto ao LABESC – Laboratório Escola, no Campus Universitário, telefone
20 3371-5455, e-mail: cep268@uel.br.

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

23
24
25
26 Londrina, ____ de _____ de 201_.

27
28
29
30 Pesquisador Responsável
31 Professora Dra. Edna Maria Vissoci Reiche
32 RG: [REDACTED]
33 Telefone: 43-3371-2321
34

35
36 _____, tendo sido devidamente esclarecido sobre
37 os procedimentos da pesquisa, concordo em participar **voluntariamente** da pesquisa
38 descrita acima.

39
40
41 Assinatura (ou impressão dactiloscópica): _____

42
43
44 Data: _____
45
46
47

APÊNDICE B

1
2 Questionário para coleta de dados

3
4
5
6 Data de inclusão (ou internação) ____/____/____ Horário da coleta ____:____

7
8 **IDENTIFICAÇÃO**

9 Nome: _____ ID _____

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

11
12 Antecedentes Mórbitos Pessoais: () Hipertensão arterial sistêmica () DM tipo 1
13 () Dislipidemia () DM tipo 2
14 () Dça Autoimune () Dça Hematológica
15 () Dça Infeciosa () AVC
16 () IAM () Outro: _____

17 Medicamentos de uso contínuo: _____
18 () anti-hipertensivo () hipoglicemiante () hipolipemiante () anticoagulante
19 () antioxidantes () vitaminas () Outro: _____

20
21 Antecedentes Mórbitos Familiares: () Hipertensão arterial sistêmica () DM tipo 2
22 () Dislipidemia () AVC
23 () IAM () Outro: _____

24
25 Condições e hábitos de vida: () Tabagismo () Etilismo () Sedentarismo

26
27 Atividade física:
28 () SIM () 1x semana () 2x semana () 3x semana () > 3 x semana
29 () NÃO

30
31 História Clínica e Exame Físico da Entrada (*baseline*):

32 Peso (Kg) _____ Altura (m) _____

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

34
35
36
37
38
39
40
41
42
43

1
2
3
4

APÊNDICE C

Escala de NISS

Item	Análise	Resposta e pontuação
1A	Nível de consciência	0 = alerta
		1 = confuso
		2 = obnubilado
		3 = Coma/irresponsivo
1B	Questões e orientação	0 = duas respostas corretas
		2 = uma resposta correta
		3 = nenhuma resposta correta
1C	Resposta a comandos	0 = duas respostas corretas
		1 = uma resposta correta
		2 = nenhuma resposta correta
2	Paralisia do olhar	0 = movimento horizontal normal
		1 = paralisia parcial
		2 = paralisia total
3	Campo visual	0 = sem defeito de campo visual
		1 = quadrantopsia
		2 = hemianopsia parcial
		3 = amaurose
4	Simetria facial	0 = normal
		1 = discreta paresia facial
		2 = paresia facial parcial
		3 = hemiparesia total facial
5	Função motora (braços estendidos a 90°) a) esquerda b) direita	0 = sem queda
		1 = oscilação sem queda antes de 5 segundos
		2 = queda antes de 10 segundos
		3 = sem esforço contra a gravidade
		4 = ausência de movimentos
6	Função motora (pernas estendidas a 30°) a) esquerda b) direita	0 = sem queda
		1 = oscilação sem queda antes de 5 segundos
		2 = queda antes de 5 segundos
		3 = sem esforço contra a gravidade
		4 = ausência de movimentos
7	Ataxia de membros	0 = sem ataxia
		1 = ataxia de 1 membro
		2 = ataxia de 2 ou mais membros
8	Sensibilidade	0 = normal
		1 = hipoestesia
		2 = anestesia
9	Afasia	0 = sem afasia
		1 = afasia leve
		2 = afasia grave
		3 = anartria ou mudo
10	Disartria	0 = sem déficit
		1 = disartria leve
		2 = disartria grave
11	Negligência	0 = ausente
		1 = leve (1 modalidade)
		2 = grave (2 modalidades)

5

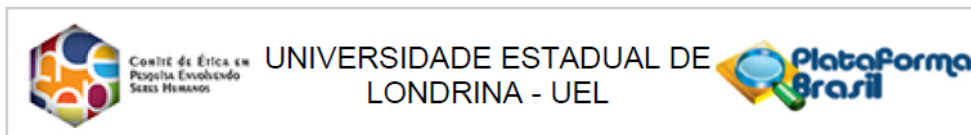
1
2

3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17

APÊNDICE D
Escala de Rankin modificada

Escala de Rankin Modificada - mRS

Escala	Descrição
0	Sem sintomas
1	Sintomas sem incapacidades; capaz de realizar suas atividades habituais prévias
2	Incapacidade leve; incapaz de realizar todas suas atividades habituais prévias, mas capaz de realizar suas necessidades pessoais sem ajuda
3	Incapacidade moderada; requer alguma ajuda para suas atividades, mas é capaz de andar sem ajuda de outra pessoa
4	Incapacidade moderada a grave; incapacidade de andar sem ajuda, incapacidade de realizar suas atividades sem ajuda
5	Incapacidade grave; limitado a cama, incontinência, requer cuidados de enfermeiros e atenção constante
6	Óbito

1
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:

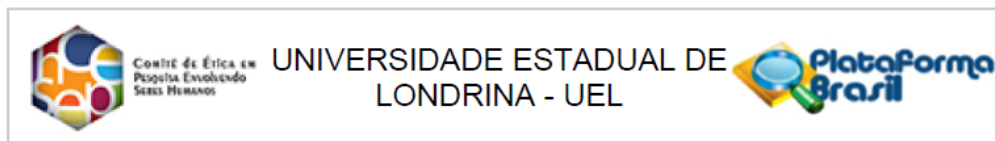
O estudo pretende investigar a associação entre marcadores inflamatórios, anti-inflamatórios e metabólicos com as placas carotídeas examinadas com doppler em pacientes com acidente vascular encefálico isquêmico agudo

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
 Bairro: Campus Universitário CEP: 86.057-970
 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/UJEL).

Objetivo Secundário: (texto do pesquisador)

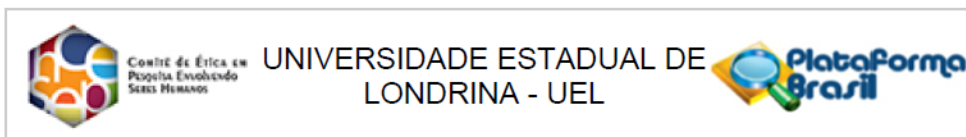
· Determinar os níveis séricos de marcadores inflamatórios, anti-inflamatórios e metabólicos em um grupo de pacientes com AVCI agudo e controles saudáveis; · Determinar a espessura da camada íntima média da carótida, grau de estenose e ecogenicidade da placa de aterosclerose em um grupo de pacientes 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/UJEL 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	CEP: 86.057-970
Bairro: Campus Universitário	
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/UEL, 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

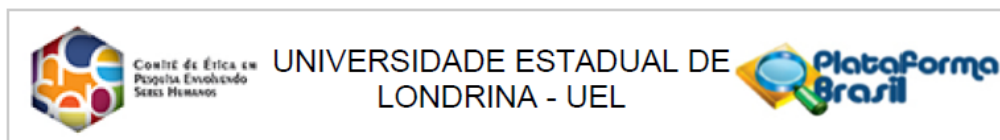
Folha de Rosto - OK

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



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:

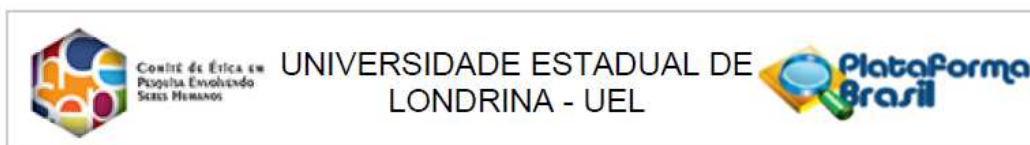
Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BASICAS_DO_PROJETO_800412.pdf	19/10/2016 17:04:09		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_versao_final_CEP.doc	19/10/2016 17:03:49	Edna Maria Vissoci Reiche	Aceito
Folha de Rosto	FolhaderostoEMVR.pdf	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
 UF: PR Município: LONDRINA
 Telefone: (43)3371-5455
 CEP: 86.057-970
 E-mail: cep268@uel.br



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