



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

MARIA CAROLINE MARTINS DE ARAÚJO

**ASSOCIAÇÃO ENTRE OS NÍVEIS PLASMÁTICOS DAS
MOLÉCULAS DE ADESÃO CELULAR E OS FATORES DE
RISCO, SUBTIPOS, GRAVIDADE E MORTALIDADE DO
ACIDENTE VASCULAR CEREBRAL ISQUÊMICO AGUDO**

MARIA CAROLINE MARTINS DE ARAÚJO

**ASSOCIAÇÃO ENTRE OS NÍVEIS PLASMÁTICOS DAS
MOLÉCULAS DE ADESÃO CELULAR E OS FATORES DE
RISCO, SUBTIPOS, GRAVIDADE E MORTALIDADE DO
ACIDENTE VASCULAR CEREBRAL ISQUÊMICO AGUDO**

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.

Orientadora: Prof. Dra. Edna Maria Vissoci Reiche

Londrina
2022

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

A663 ARAÚJO, MARIA CAROLINE MARTINS DE.
ASSOCIAÇÃO ENTRE OS NÍVEIS PLASMÁTICOS DAS MOLÉCULAS DE ADESÃO CELULAR E OS FATORES DE RISCO, SUBTIPOS, GRAVIDADE E MORTALIDADE DO ACIDENTE VASCULAR CEREBRAL ISQUÊMICO AGUDO / MARIA CAROLINE MARTINS DE ARAÚJO. - Londrina, 2022.
109 f. : il.

Orientador: Edna Maria Vissoci 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, 2022.
Inclui bibliografia.

1. acidente vascular cerebral isquêmico - Tese. 2. moléculas de adesão celular - Tese. 3. VCAM-1 - Tese. 4. NIHSS - Tese. I. Reiche, Edna Maria Vissoci. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências da Saúde. Programa de Pós-Graduação em Fisiopatologia Clínica e Laboratorial. III. Título.

CDU 61

MARIA CAROLINE MARTINS DE ARAÚJO

**ASSOCIAÇÃO ENTRE OS NÍVEIS PLASMÁTICOS DAS
MOLÉCULAS DE ADESÃO CELULAR E OS FATORES DE
RISCO, SUBTIPOS, GRAVIDADE E MORTALIDADE DO
ACIDENTE VASCULAR CEREBRAL ISQUÊMICO AGUDO**

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

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

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

Prof. Dra. Sayonara Rangel Oliveira
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof. Dr. Marcell Alisson Batisti Lozovoy
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof. Dra. Elaine Regina Delicato de Almeida
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Londrina, 23 de março de 2022.

AGRADECIMENTOS

À Deus pela sua infinita Misericórdia e por sempre guiar meus passos.

Ao meu esposo Danilo pelo seu amor, paciência e apoio.

Às meus pais pelo seu exemplo de vida e por sempre priorizarem minha educação.

À minha orientadora Professora Dra. Edna Maria Vissoci Reiche pelo seu intenso apoio, incentivo, generosidade e dedicação.

À Professora Dra. Daniela Frizon Alfieri por toda contribuição no trabalho e amizade na vida.

Aos professores Dra. Sayonara Rangel de Oliveira, Dr. Marcell Alisson Batisti Lozovoy, Dra. Elaine Regina Delicato de Almeida pelas contribuições na avaliação do trabalho.

À professora Dra. Andrea Name Colado Simão e à Dra. Thamires Flauzino pelo apoio durante o desenvolvimento do estudo.

À professora Dra. Ana Lúcia Cruz Fürstenberger Lehmann por toda sua atenção, gentileza e conhecimentos transmitidos durante a pesquisa.

Ao professor Dr. Márcio Francisco Lehmann por seu incentivo e confiança desde a graduação.

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

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

Ao Programa de Pós-Graduação em Fisiopatologia Clínica e Laboratorial da Universidade Estadual de Londrina;

À Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), do Ministério da Educação do Brasil, pelo apoio aos programas de pós-graduação (código de financiamento 001)

À Fundação Araucária, Estado do Paraná, pelo auxílio financeiro (Convênio 001/2017, Chamada nº 09/2016, Protocolo 47.396);

Ao Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento (CNPq), do Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovações, pelo Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica (PIBIC), Pró--Reitoria de Pesquisa e Pós-graduação da UEL;

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

A todos meus pacientes que me motivam a continuar todos os dias.

ARAÚJO, Maria Caroline Martins. **Associação entre os níveis plasmáticos das moléculas de adesão celular e os fatores de risco, subtipos, gravidade e mortalidade do acidente vascular cerebral isquêmico agudo.** 2022. 105 f. Dissertação (Mestrado em Fisiopatologia Clínica e Laboratorial) - Universidade Estadual de Londrina. Londrina, 2022.

RESUMO

Introdução: O acidente vascular cerebral isquêmico (AVCI) é a segunda causa de morte no mundo e uma das principais causas de morbidade e incapacidade funcional. O AVCI é responsável por mais de 80,0% do total de acidentes vasculares cerebrais. Dados clínicos, exames laboratoriais e de imagem foram avaliados como potenciais biomarcadores de prognóstico de curto-prazo e mortalidade nestes pacientes. Entretanto, a maioria dos estudos que analisou possíveis biomarcadores, os avaliaram de forma isolada e apresentaram resultados conflitantes.

Objetivo: Avaliar a associação entre os níveis plasmáticos das moléculas de adesão celular (CAM) e os fatores de risco, subtipos, gravidade e mortalidade do AVCI agudo.

Métodos: O estudo incluiu 132 pacientes com até 24 h da admissão no Hospital Universitário de Londrina com diagnóstico de AVCI. Foram avaliadas variáveis demográficas, antropométricas e clínicas e coletadas amostras de sangue periférico na admissão do paciente. A gravidade do AVCI foi avaliada com a *National Institute of Health Stroke Scale* (NIHSS) e categorizada em leve (NIHSS<5), moderada (NIHSS5-14) e grave (NIHSS ≥ 15). Os subtipos de AVCI foram classificados de acordo com o sistema do *Trial of Org in 10172 Acute Stroke Treatment* (TOAST). A taxa de mortalidade foi avaliada três meses após o AVCI quando a escala de Rankin modificada (mRS) foi aplicada e os pacientes foram categorizados como sobreviventes (mRS<6) e não sobreviventes (mRS=6). Foram determinados os níveis plasmáticos das formas solúveis de CAM, incluindo molécula de adesão intracelular 1 solúvel (sICAM-1), molécula de adesão vascular solúvel (sVCAM-1), molécula de adesão celular endotelial plaquetária 1 solúvel (sPECAM-1), E-selectina solúvel e P-selectina solúvel, as citocinas inflamatórias como a interleucina (IL)-1 β , IL-2, IL-6, IL-17A, fator de necrose tumoral (TNF)- α , interferon (IFN)- γ e as anti-inflamatórias como a IL-4, IL-10 e fator transformador do crescimento (TGF)- β .

Resultados: A média de idade dos 132 pacientes com AVCI foi 66,8 anos, 47,0% eram homens e 53,0% eram mulheres. Vinte e nove pacientes (21,9%) foram a óbito no acompanhamento de três meses. Os não sobreviventes eram mais velhos que os sobreviventes (p=0,001). Não houve diferenças significativas quanto ao sexo, etnia, índice de massa corporal, tabagismo, hipertensão arterial sistêmica, diabetes mellitus tipo 2, dislipidemia ou nos níveis plasmáticos das citocinas inflamatórias e anti-inflamatórias entre os dois grupos de pacientes. A gravidade (NIHSS) e os níveis da sVCAM-1 foram maiores nos não-sobreviventes (p<0,001). Maiores níveis de sVCAM-1 foram associados com mortalidade (p=0,001) e foram observados no subtipo de aterosclerose de grandes artérias (LAAS) comparado ao subtipo lacunar (LAC) e ao de outras etiologias (ODE). O modelo combinando dos biomarcadores sVCAM-1 e NIHSS para predição de mortalidade após três meses mostrou melhor resultado que os modelos com sVCAM-1 e NIHSS isoladamente. NIHSS e sVCAM-1, juntos, apresentaram área sob a curva *receiving operating characteristic* (AUC/ROC) de 0,8841 [intervalo de confiança (IC) 95%: 0,795-0,941], enquanto NIHSS e sVCAM-1 apresentaram AUC/ROC de 0,723 (IC 95%: 0,581-0,821) e 0,844 (IC 95%: 0,732-0,9410), respectivamente. Juntos, NIHSS e sVCAM-1 classificaram corretamente 86,5% dos casos, com valor preditivo positivo de 68,0% e valor preditivo negativo de 91,3%.

Conclusão: Os valores de sVCAM-1 juntamente com o escore elevado da gravidade do AVCI (NIHSS) obtidos dentro de 24 h de admissão hospitalar foram preditores de maior mortalidade após três meses do evento isquêmico nos pacientes com AVCI. Portanto, o uso de um modelo combinado desses biomarcadores pode prever precocemente o prognóstico dos pacientes com AVCI que poderão se beneficiar de medidas terapêuticas personalizadas que levem em consideração estes biomarcadores.

Palavras-chave: acidente vascular cerebral isquêmico; moléculas de adesão celular; VCAM-1; NIHSS; biomarcador; mortalidade

ARAÚJO, Maria Caroline Martins. **Association between plasma levels of cell adhesion molecules and risk factors, subtypes, severity, and mortality of acute ischemic stroke.** 2022. 105 p. Dissertation (Master's in Clinical and Laboratory Pathophysiology) - State University of Londrina. Londrina, 2022.

ABSTRACT

Background: Ischemic stroke (IS) is the second leading cause of death in the world, and one of the main causes of morbidity and functional disability. More than 80.0% of all strokes are caused by IS. Both clinical data, laboratory and imaging tests were studied as potential biomarkers of short-term prognosis and mortality in patients with acute IS. However, most studies that have evaluated possible biomarkers looked at single biomarkers and showed conflicting results.

Objective: To evaluate the association between plasma levels of cell adhesion molecules (CAM) and risk factors, subtypes, severity, and mortality of acute IS.

Methods: The study included 132 patients within 24 hours of University Hospital admission with IS diagnosis. Demographic, anthropometric, and clinical variables were evaluated, and peripheral blood samples were taken at admission. The severity of IS was evaluated with the National Institute of Health Stroke Scale (NIHSS) and categorized as mild (NIHSS<5), moderate (NIHSS≥5-14) and severe (NIHSS ≥15). The IS subtypes were classified according to the Trial of Org in 10172 Acute Stroke Treatment (TOAST). Mortality was assessed three months after the IS. The modified Rankin scale (mRS) was applied, and patients were categorized as survivors (mRS<6) and non-survivors (mRS = 6). Plasma levels of CAM, including soluble intracellular adhesion molecule 1 (sICAM-1), soluble vascular cell adhesion molecule 5 (sVCAM-5), soluble platelet endothelial cell adhesion molecule 1 (sPECAM-1), soluble E-selectin and soluble P-selectin, inflammatory cytokines such as interleukin (IL)-1 β , IL-2, IL-6, IL-17A, tumor necrosis factor (TNF)- α , interferon (IFN)- γ and anti-inflammatory cytokines, such as IL-4, IL-10 and transformed growth factor (TGF)- β were determined.

Results: The mean age of the 132 IS patients were 66.8 years, 47.0% were male and 53.0% were female. Twenty-nine patients (21.9%) died in the three-month follow-up. Non-survivors were older than survivors ($p=0.001$). There were no statistical differences in sex, ethnicity, body mass index, smoking, systemic arterial hypertension, type 2 diabetes mellitus, dyslipidemia or inflammatory and anti-inflammatory cytokines between the two groups of patients. The severity (NIHSS) and the levels of sVCAM-1 were higher in non-survivors than in survivors ($p<0.001$). Higher levels of sVCAM-1 were associated with mortality ($p=0.001$) and were observed among the patients with large artery atherosclerosis stroke (LAAS) subtype than the lacunar (LAC) and other determined etiology (ODE) subtypes. The model combining the sVCAM-1 and NIHSS showed better results to predict short-term mortality than the models with sVCAM-1 and NIHSS alone. NIHSS and sVCAM-1 together showed an area under the curve receiving operating characteristics (AUC/ROC) of 0.8841 [95% confidence interval (CI): 0.795-0.941], whereas NIHSS and sVCAM-1 showed an AUC/ROC of 0.723 (95% CI: 0.581-0.821) and 0.844 (95% CI: 0.732-0.9410), respectively. Together, NIHSS and sVCAM-1 correctly classified 86.5% of cases, with a positive predictive value of 68.0% and a negative predictive value of 91.3%.

Conclusion: sVCAM-1 values together with the high severity of IS (high NIHSS) obtained within 24 hours of hospital admission were predictors of high mortality at three-month follow up in patients with IS. Therefore, the use of a combined model with these two biomarkers can

early predict the prognosis of patients with IS who may benefit from therapeutic measures of personalized therapy that taken into account these biomarkers.

Key words: ischemic stroke; cell adhesion molecules; VCAM-1; NIHSS; biomarker; mortality.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Resposta inflamatória após o AVCI	24
Figura 2 -	Evolução temporal da resposta inflamatória após o acidente vascular cerebral isquêmico	25
Figura 3 -	Etapas sequenciais e coordenadas da migração transendotelial dos leucócitos	28

LISTA DE QUADROS

Quadro 1	Principais fatores de risco modificáveis e não modificáveis do AVCI agudo.....	17
Quadro 2	Mecanismos fisiopatológicos envolvidos nas fases do AVCI.....	22
Quadro 3	Moléculas de adesão celular envolvidas na adesão de leucócitos e células endoteliais	32

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AIT	Acidente isquêmico transitório
ATPase	Adenosina trifosfatase
AVC	Acidente vascular cerebral
AVCH	Acidente vascular cerebral hemorrágico
AVCI	Acidente vascular cerebral isquêmico
AUC	<i>Area under curve</i> – Área sob a curva
BHE	Barreira hematoencefálica
BDNF	<i>Brain-Derived Neurotrophic Factor</i> - Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro
CADASIL	<i>Cerebral Autosomal Dominant Arteriopathy with Subcortical Infarcts and Leukoencephalopathy</i> – Arteriopatia Cerebral Autossômica Dominante com Enfartes Subcorticais e Leucoencefalopatia
CAM	<i>Cellular Adhesion Molecules</i> - Moléculas de adesão celulares
CARASIL	<i>Cerebral Autosomal Recessive Arteriopathy with Subcortical Infarcts and Leukoencephalopathy</i> – Arteriopatia Cerebral Autossômica Recessiva com Enfartes Subcorticais e Leucoencefalopatia
CEI	<i>Cardioembolic Infarct</i> - Infarto cardioembólico
CI	Carótida interna
DAMPs	<i>Damage-Associated Molecular Patterns</i> – Padrões Moleculares Associados a Danos
DMT2	Diabetes <i>mellitus</i> tipo 2
EDTA	Ácido etilenodiaminotetracético
ELAM-1	<i>Endothelial leukocyte adhesion molecule 1</i> – Molécula de adesão leucócito-endotélio 1
ERO	Espécies reativas de oxigênio
ESL	<i>E-Selectin ligand</i> – Ligante de E-selectina
GDNF	<i>Glial cell line-derived neurotrophic factor</i> - Fator Neurotrófico Derivado de uma linhagem de células da Glia
GLM	<i>General linear models</i> – Modelos lineares generalizados
GMP_140	<i>Granule membrane protein 140</i> – Proteína de membrana granular 140
HAS	Hipertensão arterial sistêmica
HBV	<i>Hepatitis B virus</i> - Vírus da hepatite B

HCV	<i>Hepatitis C virus</i> - Vírus da hepatite C
HDL	<i>High-density lipoprotein</i> - Lipoproteína de alta densidade
HIV	<i>Human immunodeficiency virus</i> - Vírus da imunodeficiência humana
HU	Hospital Universitário
IC	Intervalo de confiança
IDH	Índice de Desenvolvimento Humano
IFN	<i>Interferon</i> – Interferon
IGF	<i>Insulin-like Growth Factor I</i> – Fator de Crescimento semelhante a Insulina
IL	<i>Interleukin</i> – Interleucina
IAM	Infarto agudo do miocárdio
ICAM-1	<i>Intercellular adhesion molecule 1</i> - Molécula de adesão intracelular 1
MAdCAM 5	<i>Mucosal adhesin cellular adhesion molecule 5</i> Molécula de adesão celular de adesina da mucosa 5
IMC	Índice de massa corpórea
IQR	Interquartil
LAAS	<i>Large artery atherosclerosis</i> - Aterosclerose de grandes artérias
LAC	<i>Lacunar infarct</i> - Infarto lacunar
LCR	Líquido cefalorraquidiano
LDL	<i>Low-density lipoprotein</i> – Lipoproteína de baixa densidade
LECAM 5	<i>Lymphocyte-endothelial cellular adhesion molecule 5</i> Molécula de adesão celular de linfócitos-endotélio 5
Ln	Logarítmo natural
MELAS	<i>Mitochondrial encephalomyopathy, lactic acidosis, and stroke-like episodes</i> - Encefalopatia mitocondrial, aumento nos valores de ácido láctico e episódios similares a AVC
MMP	<i>Matrix metalloproteinase</i> - Metaloproteínases de matriz
mRS	<i>modified Rankin Scale</i> – Escala modificada de Rankin
NIHSS	<i>The National Institute of Health Stroke Scale</i> – Escala de Acidente Vascular Cerebral do Instituto Nacional de Saúde
ODE	<i>Other determined etiology</i> - AVCI de outra etiologia determinada
OR	<i>Odds ratio</i> – razão de chance
PAD	Pressão arterial diastólica
PAS	Pressão arterial sistólica
PCR	Proteína C-reativa

PECAM-1	<i>Platelet endothelial cell adhesion molecule 1</i> - Molécula de adesão celular endotelial plaquetária 1
PADGEM 5	<i>Platelet activation-dependent granule external membrane protein 5</i> Proteína 5 de membrana externa de grânulo dependente de ativação de plaqueta
PSGL-1	<i>P-selectin glycoprotein ligand-1</i> – Glicoproteína ligante de P-selectina 1
RNM	Ressonância nuclear magnética
ROC	<i>Receiver operating characteristic curve</i> – Curva Característica de Operação do Receptor
sICAM-1	<i>Soluble intercellular adhesion molecule 1</i> - Molécula de adesão intracelular 1 solúvel
SNC	Sistema nervoso central
sPECAM-1	<i>Soluble platelet endothelial cell adhesion molecule 1</i> - Molécula de adesão de células endoteliais plaquetárias 1 solúvel
sVCAM-1	<i>Soluble vascular cellular adhesion molecule 1</i> – Molécula de adesão celular vascular 1 solúvel
TC	Tomografia computadorizada
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TGF	<i>Transforming Growth Factor</i> – Fator de crescimento transformador
TLR	<i>Toll-like receptor</i> - Receptor semelhante ao <i>toll</i>
TNF	<i>Tumor necrosis factor</i> – Fator de necrose tumoral
TOAST	<i>Trial of Org in 10172 Acute Stroke Treatment</i>
tPA	Ativador do plasminogênio tecidual
UDE	<i>Undetermined etiology</i> - AVCI com etiologia indeterminada
UEL	Universidade Estadual de Londrina
usPCR	Proteína C reativa por metodologia ultrasensível
VCAM-1	<i>Vascular cellular adhesion molecule 1</i> – Molécula de adesão celular vascular 1
VLA	<i>Very Late Antigen</i> – Antígeno Muito Tardio
VLA-4	<i>Very Late Antigen-4</i> – Antígeno Muito Tardio-4
VEGF	<i>Vascular epithelial growth factor</i> - Fator de crescimento endotelial vascular
VPN	Valor preditivo negativo
VPP	Valor preditivo positivo

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
1.1	EPIDEMIOLOGIA DO AVCI.....	15
1.2	FATORES DE RISCO PARA AVCI.....	16
1.3	SUBTIPOS DE AVCI.....	19
1.4	AVALIAÇÃO DA GRAVIDADE DO AVCI E PROGNÓSTICO DO PACIENTE	20
1.5	FISIOPATOLOGIA DO AVCI.....	21
1.6	PAPEL DAS MOLÉCULAS DE ADESÃO CELULAR NA FISIOPATOLOGIA DO AVCI... 25	
1.6.1	E-Selectina.....	28
1.6.2	P-Selectina.....	29
1.6.3	Icam-1.....	29
1.6.4	Vcam-1	30
1.6.5	Pecam-1	31
1.7	ESTRATÉGIAS TERAPÊUTICAS NO AVCI.....	34
1.7.1	Estratégias de Reperusão	35
1.7.2	Estratégias Imunomoduladoras: Anticorpos Monoclonais Contra Alvos de Infiltração Leucocitária	36
2	JUSTIFICATIVA	38
3	OBJETIVOS	40
3.1	OBJETIVO GERAL	40
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	40
4	METODOLOGIA	41
4.1	ASPECTOS ÉTICOS	41
4.2	DELINEAMENTO	41
4.3	POPULAÇÃO E AMOSTRA	41
4.4	CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO	41
4.5	AVALIAÇÃO DOS SUBTIPOS DE AVCI, GRAVIDADE E PROGNÓSTICO DE 3 MESES ..	42
4.6	DADOS DEMOGRÁFICOS, ANTROPOMÉTRICOS, CLÍNICOS, DE IMAGEM E LABORATORIAIS	42
4.7	COLETA DE AMOSTRA BIOLÓGICA E EXAMES LABORATORIAIS	43

4.8	ANÁLISE ESTATÍSTICA	43
5	RESULTADOS	45
5.1	ARTIGO 1.....	45
6	CONCLUSÕES	75
7	PERSPECTIVAS FUTURAS E CONSIDERAÇÕES FINAIS	76
	AGRADECIMENTOS	78
	REFERÊNCIAS	79
	APÊNDICES	89
	APÊNDICE A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....	89
	APÊNDICE B - Questionário de coleta de dados	91
	ANEXOS	92
	ANEXO A – National Institute of Health Stroke Scale (NIHSS).....	92
	ANEXO B – Escala de Rankin Modificada (mRS)	100
	ANEXO C – Parecer consubstancial do CEP	101

1 INTRODUÇÃO

O acidente vascular encefálico ou cerebral (AVC) é definido como infarto do sistema nervoso central (SNC), com morte celular atribuível à isquemia em encéfalo, medula espinhal ou células da retina, baseada em evidências neuropatológicas, de neuroimagem e/ou clínicas de lesão permanente (SACCO et al, 2013).

Cerca de 85,0% dos AVC são isquêmicos (AVCI) e decorrentes de uma obstrução arterial encefálica. Dos 15,0% restantes, 10,0% são causados por hemorragia intracerebral espontânea e 5,0% de hemorragia subaracnóidea (GO et al., 2014). O AVCI, por sua vez, apresenta diversas etiologias, como a doença aterosclerótica de grandes artérias, doença de pequenos vasos, cardioembolia, vasculites, trombofilias, neoplasias, dissecação arterial, doenças genéticas e infecciosas. Em até 30,0% dos casos, a etiologia não pode ser definida (ROSAMOND et al., 2008).

Os critérios definidos pelo *Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment* (TOAST) classificam o AVCI em 5 subtipos principais, considerando dados clínicos, de neuroimagem e laboratoriais. Sendo esses subtipos: doença aterosclerótica de grandes artérias (LAAS), infarto lacunar (LAC), infarto cardioembólico (CEI), outra etiologia determinada (ODE) e a etiologia indeterminada (UDE) (ADAMS et al., 1993).

1.1 EPIDEMIOLOGIA DO AVCI

O AVCI é a segunda principal causa de morte no mundo e a terceira principal causa de morte e incapacidade combinadas (FEIGIN et al., 2021). Em 2016, foram registrados 13,7 milhões de novos casos de AVCI, com 5,5 milhões de mortes e 116,4 milhões de anos de vida perdidos ajustados por incapacidade devido ao AVCI no mundo (JOHNSON et al., 2019).

No Brasil, o AVCI também é a segunda maior causa de mortalidade, com taxa de mortalidade de 56,6 por 100.000 habitantes, tendo a maior prevalência entre os países da América Latina, de 1133 casos por 100.000 habitantes (MARTINS, 2019).

Na população brasileira, o AVCI tem maior incidência nos maiores de 50 anos, com maior número de internações na faixa etária de 65 anos ou mais, com o risco aumentado duas vezes a cada década após essa idade. Também, anos de vida perdidos ajustados por incapacidade são mais significativos entre os homens na faixa etária de 50-69 anos, em que são economicamente ativos. O AVCI representa 10,0% do total de óbitos, 32,6% das mortes por doenças vasculares e 40,0% das aposentadorias precoces no Brasil, levando a maiores custos

1 diretos ao sistema de saúde, bem como custos indiretos com absenteísmo, mortalidade precoce
2 e incapacidade (ABRAMCZUK, VILLELA, 2009; BENJAMIN, et al 2017; BOTELHO et al.,
3 2016).

4 Apesar do importante impacto socioeconômico, ainda há um grande desconhecimento
5 da população acerca da doença. O controle dos fatores de risco, bem como o reconhecimento
6 dos sinais e sintomas do AVCI são ainda muito precários na América Latina quando comparado
7 aos países de maior renda. Também, faltam centros estruturados de forma a atender e tratar o
8 AVCI na fase aguda e poucos locais oferecem reabilitação adequada (CABRAL, 2009;
9 MARTINS et al., 2019).

10 Embora as taxas de mortalidade por AVCI no Brasil tenham caído nas últimas décadas,
11 o total de casos e óbitos por essa causa tem aumentado em números absolutos. Entre 1990 e
12 2017 houve um aumento de 81,0% no número absoluto de pessoas com AVCI, 95,0% no
13 número de sobreviventes e 40,0% no número de mortes por AVCI. Tal aumento do número
14 absoluto de pessoas acometidas pode ser explicado pela transição demográfica, com maior
15 expectativa de vida e aumento da faixa etária de população idosa (ABRAMCZUK, VILLELA
16 2009; CABRAL, 2009; MARTINS et al., 2019; SANTOS, WATERS, 2020).

17

18 1.2 FATORES DE RISCO PARA AVCI

19

20 O estudo de coorte de Framingham foi a primeira grande avaliação epidemiológica que
21 identificou os fatores de risco associados à doença cardiovascular, demonstrando a correlação
22 entre tabagismo, hipertensão arterial sistêmica (HAS), intolerância à glicose, fibrilação atrial,
23 obesidade e desenvolvimento de doenças cardiovasculares (MAHMOOD et al., 2013). Estudos
24 posteriores corroboraram tais achados e acrescentaram conhecimento sobre novos fatores de
25 risco associados ao AVCI. Os fatores de risco tradicionais para o AVCI podem ser classificados
26 em duas grandes categorias: não modificáveis, são exemplos: sexo, etnia, idade e fatores
27 genéticos, e os modificáveis, como: sedentarismo, tabagismo e abuso de substâncias, dieta,
28 etilismo, HAS, dislipidemia, diabetes mellitus tipo 2 (DMT2), uso de contraceptivos orais,
29 terapia hormonal pós menopausa, obesidade, fibrilação atrial, aterosclerose carotídea e doença
30 vascular periférica (ALMEIDA; DAL PIZZOL; VALLER, 2012; BOEHME; ESENWA;
31 ELKIND, 2017; BENJAMIN et al., 2018).

32

33 Fatores ambientais e socioeconômicos também se relacionam com a incidência do
AVCI. Estudos têm demonstrado um risco aumento de ACVI após exposição à poluição do ar,

1 tanto a curto prazo, quanto a longo prazo, tanto em populações com fatores de risco tradicionais,
2 quanto em adultos jovens (SADE et al, 2015, VERHOEVEN et al., 2021).

3 Também, a incidência do AVCI está relacionada ao Índice de Desenvolvimento
4 Humano (IDH) elaborado pela Organização das Nações Unidas (CABRAL, 2009). De Melo
5 Lucena (2018) observou uma correlação inversa entre mortalidade por AVCI e IDH global e as
6 seguintes dimensões: renda e escolaridade nas capitais brasileiras.

7 O Quadro 1 sumariza os principais fatores de risco modificáveis e não modificáveis
8 associados com AVCI agudo.

9
10 **Quadro 1** Principais fatores de risco modificáveis e não modificáveis do acidente vascular
11 cerebral isquêmico agudo

FATORES MODIFICÁVEIS	FATORES NÃO MODIFICÁVEIS
Hipertensão arterial sistêmica	Idade
Tabagismo	Sexo
Dieta	Etnia
Sedentarismo	Fatores genéticos:
Dislipidemia	- Arteriopatia cerebral autossômica
Diabetes mellitus tipo 2	dominante com infartos subcorticais e
Fibrilação atrial e Cardiopatia Atrial	leucoencefalopatia (CADASIL)
Aterosclerose	- Arteriopatia cerebral autossômica
Estenose Carotídea	recessiva com infartos subcorticais e
Obesidade e síndrome metabólica	leucoencefalopatia (CARASIL)
Razão cintura-quadril	- Doença de Fabry
Consumo de álcool	- Síndrome de Marfan
Abuso de substâncias (ex.: cocaína, ecstasy)	- Encefalopatia mitocondrial, aumento nos
Uso de contraceptivo oral	valores de ácido lático e episódios
Terapia de reposição hormonal pós menopausa	similares a AVC (MELAS)
Depressão	- Anemia falciforme
Distúrbios do sono	- Trombofilias hereditárias
Hiperhomocisteinemia adquirida	- Hiperhomocisteinemia hereditária (variantes no gene <i>MTHFR</i>)

12 MTHFR: metiltetrahidrofolato redutase

13 Fonte: Adaptado de Aoki, Uchino (2011); Benjamin et al. (2018); Boehme; Esenwa; Elkind
14 (2017).

1 Dentre os fatores de risco não modificáveis para o AVCI, a idade é o mais
2 importante. Após os 55 anos de idade, a incidência do AVCI dobra a cada 10 anos. Quanto ao
3 sexo, as taxas de incidência de AVCI são maiores em homens; entretanto, como as mulheres
4 possuem maior expectativa de vida que os homens, mais mulheres morrem de AVCI a cada ano
5 (ROSAMOND et al, 2008; SACCO et al. 1997). Quanto aos fatores de risco modificáveis, a
6 HAS, é o fator de maior importância. Há relação direta, linear e contínua entre a pressão arterial
7 e o risco de AVCI. No estudo INTERESTROKE, um grande estudo caso-controle que envolveu
8 22 países e avaliou diferentes fatores de risco para o AVCI, a HAS foi o principal fator de risco
9 modificável associada ao AVCI, com risco atribuível de 54,0% à HAS (BOEHME; ESENWA;
10 ELKIND, 2017; ZHANG et al., 2010).

11 A HAS está associada a alterações na circulação encefálica que contribuem para o
12 AVCI, como disfunção endotelial, doença cerebral de pequenos vasos, dano na parede vascular,
13 disfunção na barreira hematoencefálica (BHE), hipoperfusão e estado pro-trombótico. Durante
14 o evento isquêmico agudo, os diâmetros menores do lúmen e o aumento da vasoconstrição das
15 artérias e arteríolas cerebrais podem aumentar o déficit de perfusão, com aumento da área
16 infartada. Além disso, o aumento da resistência vascular cerebral nos pacientes hipertensos
17 pode levar à hipoperfusão e contribuir para doença cerebral de pequenos vasos. Também a HAS
18 aumenta a tensão de cisalhamento no endotélio, podendo causar ruptura da BHE e danos na
19 parede vascular (CIPOLLA; LIEBESKIND; CHAN, 2018).

20 O DMT2 também é um fator de risco independente para o AVCI, levando ao
21 aumento de duas vezes no risco de AVCI para pacientes diabéticos e sendo causa de óbito de,
22 aproximadamente, 20,0% dos pacientes diabéticos (BOEHME; ESENWA; ELKIND, 2017).
23 Considerando o aumento da prevalência do DMT2 com o envelhecimento populacional e as
24 crescentes taxas de obesidade e síndrome metabólica, espera-se que o DMT2 tenha uma
25 contribuição maior na carga global de AVCI (BENJAMIN et al., 2018).

26 Também já foi demonstrado que em pessoas com DMT2, o AVCI apresenta maior
27 gravidade, com maior morbimortalidade, configurando o DMT2, além de fator de risco, como
28 um possível fator prognóstico nos pacientes com AVCI (HATZITOLIOS et al., 2009). Tal fato
29 pode estar relacionado com as ações deletérias da hiperglicemia no tecido cerebral. A
30 hiperglicemia está envolvida na piora da lesão cerebral após o insulto isquêmico, contribuindo
31 para disfunção endotelial e da BHE, disfunção das vias intracelulares, como o metabolismo
32 mitocondrial, e contribuindo para inflamação sistêmica e estresse oxidativo (SHUKLA et al,
33 2018).

1 A inflamação sistêmica também tem sido estudada como fator de risco para o
2 AVCI. Os níveis de biomarcadores inflamatórios são associados com aumento de risco para
3 AVCI, doenças cardiovasculares e mortalidade. Porém, as causas exatas da associação entre
4 inflamação e ocorrência de AVCI ainda permanecem incertas (BOEHME; ESENWA;
5 ELKIND, 2017).

6 A prevenção primária, com controle dos fatores de risco, é a solução mais eficaz
7 para reduzir os casos de AVCI. Intervenções como redução do tabagismo e consumo de álcool,
8 alimentação saudável, promoção de atividade física, melhor tratamento de doenças metabólicas
9 e cardiovasculares como HAS e DMT2 poderiam evitar mortes, incapacidade e reduzir o
10 impacto econômico do AVCI (MARTINS et al., 2019). Também a prevenção secundária de
11 doenças cardiovasculares, melhoria das condições socioeconômicas, acesso à centros de
12 tratamento com tecnologia e recursos diagnósticos e terapêuticos adequados contribuiriam para
13 a redução da mortalidade. Entretanto, no Brasil há uma grande disparidade regional, de forma
14 que a população de algumas regiões não possui acesso a esses recursos (GARRITANO et al.,
15 2012).

16

17 1.3 SUBTIPOS DE AVCI

18

19 A classificação do AVCI em subtipos etiológicos é importante para o diagnóstico e,
20 principalmente, tratamento e prevenção secundária adequados. De acordo com TOAST
21 (ADAMS et al., 1993), o AVCI é classificado 5 categorias de acordo com dados clínicos, dos
22 exames laboratoriais e de imagem. São as categorias:

23 1 - *Large artery atherosclerosis (LAAS)*: caracterizada por estenose maior que 50,0% ou
24 oclusão de uma artéria cerebral maior ou de um ramo cortical causada pela aterosclerose;

25 2 - *Cardioembolic infarct (CEI)*: caracterizado por oclusões causadas por cardioembolia;

26 3 - *Lacunar infarct (LAC)*: oclusão de pequeno vaso, ocorre mais comumente em pacientes
27 diabéticos e hipertensos, manifestando-se como síndromes lacunares, e apresentando exames
28 de neuroimagem, como tomografia computadorizada (TC) ou ressonância nuclear magnética
29 (RNM) normais ou com lesões relevantes subcorticais hemisféricas ou no tronco cerebral com
30 diâmetro menor que 1,5 cm;

31 4- *Stroke of other determined etiology (ODE)*: inclui pacientes com causas raras de AVCI,
32 como vasculites, estados de hipercoagulação, doenças hematológicas e síndromes genéticas;

33 5- *Stroke of undetermined etiology (UDE)*: situações em que a causa do AVCI não pode ser
34 determinada com algum grau de confiabilidade, mesmo após extensiva investigação.

1 1.4 AVALIAÇÃO DA GRAVIDADE DO AVCI E PROGNÓSTICO DO PACIENTE

2
3 A avaliação da gravidade do AVCI é realizada por escalas padronizadas que
4 uniformizam a linguagem dos profissionais de saúde sendo determinante para definição de
5 tratamentos e valor prognóstico. Uma das escalas mais utilizadas e que é recomendada nos
6 protocolos de tratamento ao AVCI agudo é a *National Institute of Health Stroke Scale* (NIHSS),
7 a qual quantifica o déficit neurológico após o AVCI e avalia tanto a gravidade quanto a evolução
8 clínica do paciente (BROTT et al., 1989).

9 A NIHSS avalia e pontua os principais itens do exame neurológico como consciência,
10 movimentos oculares, campos visuais, déficits motores e sensoriais, ataxia, fala, cognição e
11 desatenção. Cada item pontua uma habilidade entre 0 e 4 em que a função normal corresponde
12 a 0 e a pontuação entre 1 e 4 é atribuída a cada nível de comprometimento (Anexo 1). A
13 somatória dos itens ao final varia de 0 (ausência de déficit) até 42 (maior déficit) (BROTT et
14 al., 1989).

15 Os pontos de corte para a avaliação da gravidade do AVCI variam na literatura. Brott e
16 colaboradores (1989) consideram pontuação na NIHSS menor que 5 como déficit leve, entre 5-
17 14 como déficit moderado e maior ou igual a 15 déficit grave. Já Yaghi e colaboradores (2015)
18 consideram que uma pontuação no NIHSS menor ou igual a 7 corresponde à déficit neurológico
19 leve, entre 8 e 14 déficit neurológico moderado e igual ou acima de 15 pontos déficit
20 neurológico grave.

21 Estudos anteriores indicaram que os escores do NIHSS associados ou não a outros
22 marcadores clínicos, de imagem ou laboratoriais, podem ser úteis para prever o prognóstico
23 funcional e a mortalidade após o AVCI (CHEN et al., 2021; LEHMANN et al., 2021a; OZKAN
24 et al., 2013; SABER; SAVER, 2020; ZHAO et al., 2018).

25 Lehman et al. (2021a) evidenciaram que a NIHSS associada a valores aumentados da
26 espessura da camada média-íntima avaliada por doppler de carótidas em pacientes com AVCI
27 predisseram fortemente o comprometimento funcional e mortalidade de curto-prazo. Porém,
28 em uma coorte brasileira que avaliou quatro escalas prognósticas para o AVCI, incluindo a
29 NIHSS, nenhuma delas demonstrou precisão adequada para prever mortalidade (KUSTER et
30 al., 2016).

31 Para a avaliação de incapacidade funcional e prognóstico do AVCI, a escala de Rankin
32 modificada (mRS) é a mais utilizada mundialmente e nos fornece dados acerca da recuperação
33 da função motora e funcionalidade após o AVCI (BONITA; BEAGLEHOLE, 1988). A escala
34 pontua o comprometimento funcional de zero (paciente assintomático) até 6 (morte) (Anexo 2).

1 Quanto aos pontos de corte, também há divergências na literatura; porém, geralmente pacientes
2 com uma pontuação menor que 3 na mRS são considerados com bom resultado e maior ou igual
3 a 3 definidos como tendo um desfecho ruim (HARRISON et al., 2013). A aplicação da mRS
4 em entrevistas presenciais com o paciente têm boa confiabilidade, viabilidade e concordância
5 inter-avaliadores. Também a aplicação da mesma por telefone já foi validada
6 internacionalmente e na população brasileira, apresentando boa confiabilidade e validade
7 (BAGGIO et al., 2014; WANG et al., 2014).

9 1.5 FISIOPATOLOGIA DO AVCI

11 O AVCI é resultado da interrupção do fluxo sanguíneo para determinada região do
12 cérebro, com privação de oxigênio e nutrientes às células, resultando em morte celular e danos
13 cerebrais. Após a injúria isquêmica aguda, diferentes vias e mecanismos são ativados na
14 progressão do AVCI. Ademais, vários estudos têm demonstrado que a inflamação desempenha
15 um papel importante na ocorrência e progressão do evento (CAMPBELL et al., 2019;
16 JURCAU; SIMION, 2022; RAMIRO et al., 2018).

17 Com a isquemia aguda e redução da disponibilidade de oxigênio e glicose, ocorre uma
18 falha energética no metabolismo celular, com consequente desequilíbrio iônico, levando a
19 redução da recaptção de glutamato, excitotoxicidade e apoptose. Simultaneamente, ocorre a
20 ativação de enzimas catabólicas e aumento de espécies reativas de oxigênio (ERO). Ocorre,
21 portanto, uma onda de despolarização que se inicia nas regiões de anoxia, mas se propaga para
22 regiões cerebrais circundantes menos isquêmicas (zona de penumbra), aumentando a demanda
23 metabólica do tecido da zona de penumbra e pode levar esse tecido a infartar também
24 (CAMPBELL et al., 2019; HERTZ, 2008; VIDALE et al., 2017). Tais alterações levam a
25 expressão de genes que codificam moléculas pró-inflamatórias, entre elas as moléculas de
26 adesão celular (CAM), as quais mediam a infiltração leucocitária para remoção de detritos
27 celulares na área infartada. Porém, a infiltração celular e ativação da resposta inflamatória pode
28 se estender, causando aumento do dano cerebral (RAMIRO et al., 2018).

29 A resposta inflamatória ocorre em três fases após o AVCI: a fase aguda ou de ativação
30 que ocorre nas primeiras horas após o AVCI; a fase subaguda ou de propagação que ocorre nos
31 primeiros dias após o AVCI e a fase tardia ou de resolução que ocorre semanas após o AVCI.
32 Em cada fase há um padrão diferente de resposta imune. Durante a fase aguda, a micróglia e
33 macrófagos limpam o tecido necrosado e há a primeira infiltração de leucócitos, principalmente
34 neutrófilos. Já na fase subaguda/propagação, há a ativação da imunidade adaptativa e posterior

1 resolução do processo inflamatório subagudo; já na fase tardia, as células inflamatórias
 2 contribuiriam para o reparo celular (JURCAU; SIMION, 2022; PETROVIC-DJERGOVIC et
 3 al., 2016; RAYASAM et al., 2017).

4 O quadro 2 resume os mecanismos fisiopatológicos envolvidos em cada fase da resposta
 5 ao AVCI.

6
 7
 8 **Quadro 2** Mecanismos fisiopatológicos envolvidos nas fases do acidente vascular cerebral
 9 isquêmico

Fase	Mecanismos Fisiopatológicos
Aguda	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Redução do fluxo sanguíneo cerebral com diminuição do fornecimento de oxigênio e glicose ▪ Metabolismo anaeróbico e acidose láctica ▪ Falha da ATPase, despolarização celular, aumento do influxo de íons intracelular ▪ Liberação de neuro mediadores (excitotoxicidade) ▪ Aumento da expressão de genes de sinalização de estresse
Subaguda	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Aumento da produção de espécies reativas de oxigênio ▪ Apoptose ▪ Expressão de moléculas de adesão celular ▪ Ativação da micróglia e infiltração de leucócitos no cérebro ▪ Liberação de mediadores pró-inflamatórios ▪ Aumento da atividade de enzimas proteolíticas e dano de BHE e endotélio
Crônica	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Liberação de fatores tróficos (BDNF, IGF, GDNF) ▪ Neurogênese, angiogênese, sinaptogênese ▪ Ativação de células-tronco

11 ATPase: adenosina trifosfatase; BHE: barreira hematoencefálica; BDNF: fator neurotrófico
 12 derivado do cérebro; IGF: fator de crescimento semelhante à insulina; GDNF: fator neurotrófico
 13 derivado de uma linhagem de células da glia

14 Fonte: Adaptado de Jurcau; Simion (2022).

15
 16

1 As células encefálicas em processo de morte secretam ainda os padrões moleculares
2 associados ao dano (DAMPs), os quais são reconhecidos pela micróglia e levam a sua ativação.

3 Dessa forma, tanto o sistema imune residente no SNC quanto células circulantes que
4 infiltram no SNC produzem um aumento de moléculas pró-inflamatórias na área lesionada.
5 Conseqüentemente há um aumento da metaloproteinase de matriz (MMP), a qual atua na
6 destruição da lâmina basal, aumentando a permeabilidade da BHE e facilitando a entrada de
7 células imunes periféricas na área infartada (RAMIRO et al., 2018).

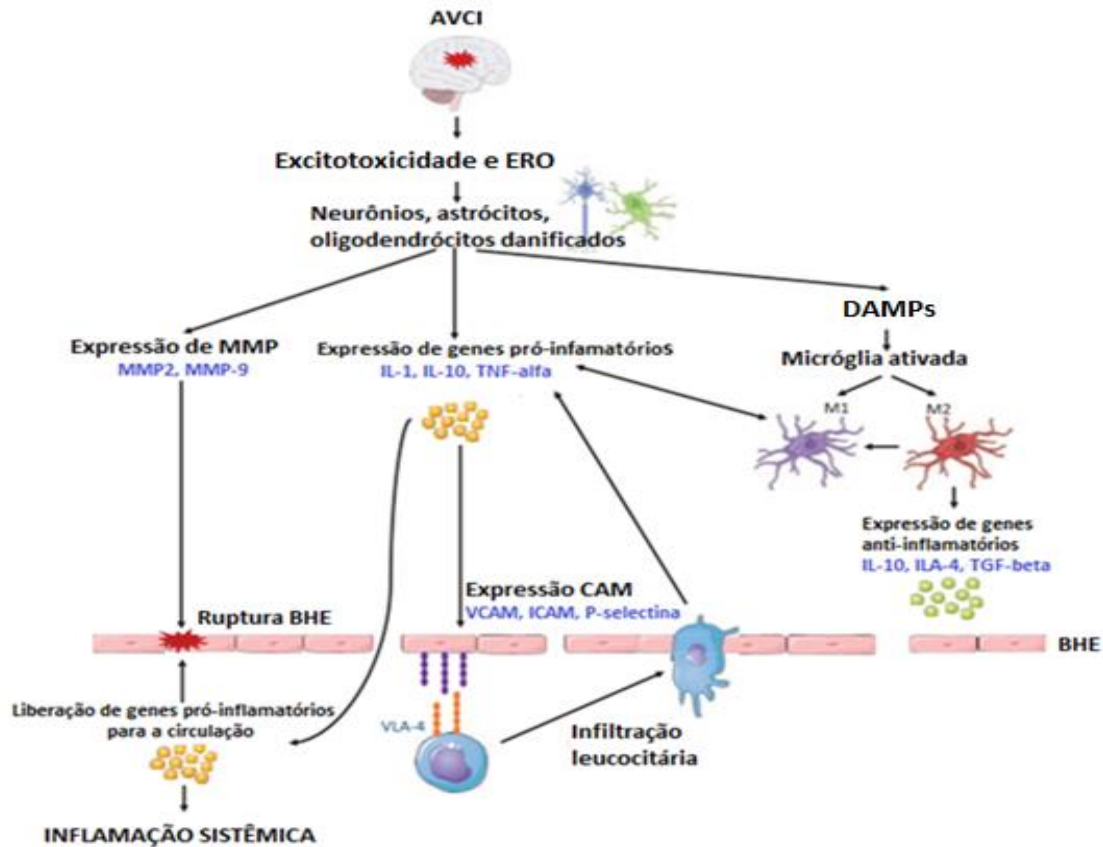
8 Com o comprometimento da BHE ocorre a expressão de CAM pelas células endoteliais
9 e secreção de mais mediadores pró-inflamatórios, dentre eles o fator de necrose tumoral (TNF)-
10 α , interleucina (IL)-1 β , IL-6, proteína quimioatraente de monócito 1 (MCP-1) e proteína
11 quimioatraente de neutrófilos induzidos por citocinas e prostaglandinas (JIN et al., 2010).

12 As citocinas IL-1 β , IL-6 e TNF- α parecem agravar a lesão cerebral (WANG et al.,
13 2007). O TNF- α parece desempenhar um papel duplo, também exercendo efeito protetor nos
14 neurônios isquêmicos (LAMBERTSEN et al., 2009). Já a IL-1 β ativa os astrócitos e o endotélio
15 levando à astrogliose, liberação de quimiocinas, ativação de MMP e liberação da molécula de
16 adesão celular vascular 1 (VCAM-1) e molécula de adesão intracelular 1 (ICAM-1)
17 (THORNTON et al., 2008; HERX; YONG, 2011; ALLEN et al., 2012)

18 Após o AVCI ocorre, também, a ativação do sistema complemento com a geração de
19 opsoninas que potencializam a resposta fagocitária, bem como a inflamação. Além disso, a
20 ativação do sistema complemento tem sido implicada na regulação positiva das CAM,
21 quimiotaxia e ativação de leucócitos (JURCAU; SIMION, 2022). Há, ainda, propagação do
22 processo inflamatório para áreas não acometidas pela isquemia (inflamação cerebral global),
23 chamada zona de penumbra, o qual pode persistir cronicamente por dias a semanas após a
24 injúria inicial. Além disto, há o desencadeamento de uma resposta imune sistêmica com
25 ativação excessiva das células imunes periféricas e uma exaustão de leucócitos maduros,
26 provocando o recrutamento de leucócitos imaturos incapazes de responder adequadamente ao
27 dano cerebral (JURCAU; SIMION, 2022).

28 Como resposta imunomoduladora, ocorre a ativação de linfócitos T reguladores (Treg)
29 que produzem citocinas anti-inflamatórias como a IL-10 e fator de transformação do
30 crescimento (TGF)- β (JIAN et al., 2019). A figura 1 representa os principais mecanismos
31 envolvidos na resposta inflamatória pós AVCI e a figura 2 sumariza a evolução temporal dos
32 principais mecanismos inflamatórios na resposta ao AVCI.

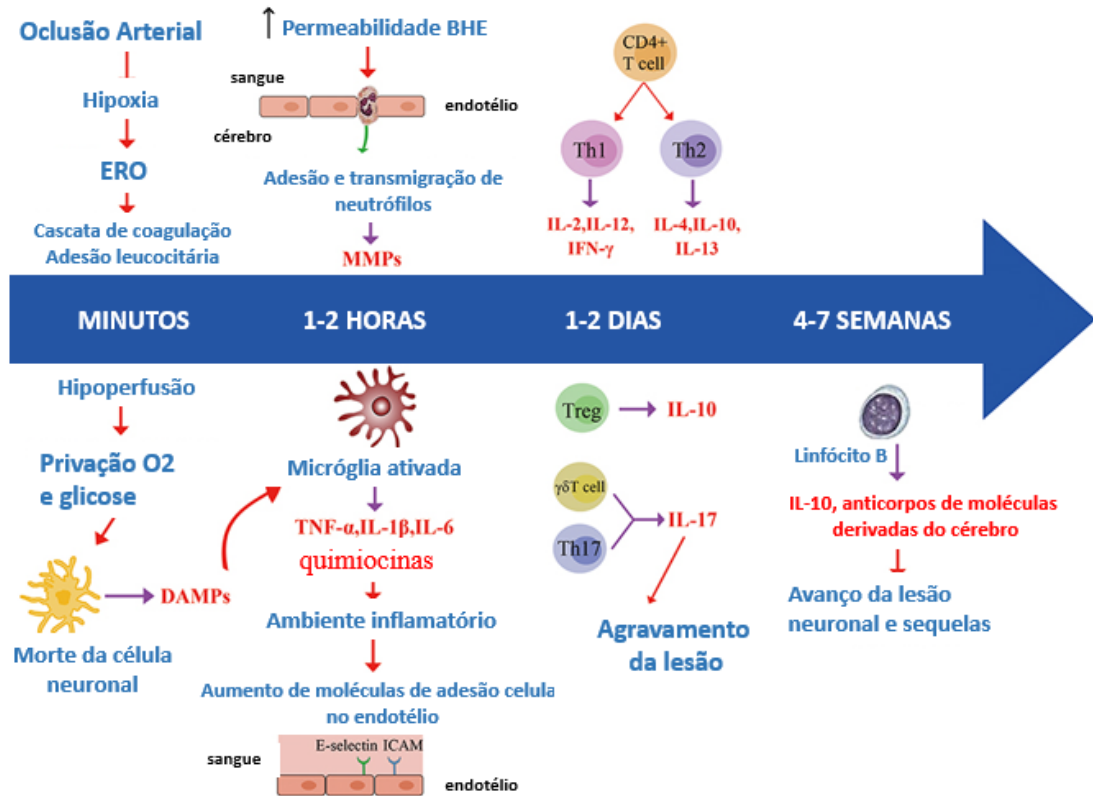
1 **Figura 1** Resposta inflamatória após o acidente vascular cerebral isquêmico
 2
 3



4
 5 AVCI: acidente vascular encefálico isquêmico; BHE: barreira hematoencefálica; CAM:
 6 molécula de adesão celular; DAMPs: padrões moleculares associados a danos; ICAM:
 7 molécula de adesão intracelular; VCAM: molécula de adesão celular vascular; IL:
 8 interleucina; MMP: metaloproteinase de matriz; ERO: espécie reativa de oxigênio; TNF-
 9 alfa: fator de necrose tumoral alfa; TGF-beta: fator de crescimento transformador beta;
 10 VLA: antígeno muito tardio
 11 Fonte: Adaptado de Ramiro et al. (2018).
 12
 13
 14
 15
 16
 17
 18
 19
 20
 21
 22
 23
 24

1 **Figura 2** Evolução temporal da resposta inflamatória após o acidente vascular cerebral
 2 isquêmico

3



4

5

6 BHE: barreira hematoencefálica; ERO: espécie reativa de oxigênio; MMP: metaloproteína
 7 de matriz; IL: interleucina; DAMPs: padrões moleculares associados a danos; ICAM:
 8 molécula de adesão intracelular; TNF- α : fator de necrose tumoral alfa;

9 Fonte: Adaptado de Jian et al. (2019).

10

11

12

13 1.6 PAPEL DAS MOLÉCULAS DE ADESÃO CELULAR (CAM) NA FISIOPATOLOGIA DO AVCI

14

15 As CAM são, de acordo com a definição do *Gene Ontology Consortium*
 16 (<http://www.geneontology.org/>), moléculas expressas na superfície de uma célula que
 17 medeiam a adesão da célula a outras células ou à matriz extracelular. Essas proteínas
 18 desempenham inúmeras funções cruciais na interface de uma célula e seu ambiente, seja outra
 19 célula do mesmo tipo, um tipo celular diferente, a matriz extracelular ou mesmo por vezes,
 20 elementos solúveis. As moléculas de adesão são amplamente distribuídas e praticamente todas
 21 as células expressam as CAM. Os mecanismos pelos quais essas moléculas são reguladas
 22 negativamente após a ativação são importantes: é necessário retirá-las da superfície da célula

1 após a ativação para limitar ou parar o processo inflamatório. A expressão excessiva ou
2 manutenção dessas moléculas pode ter consequências críticas na inflamação e na integridade
3 da parede do sistema vascular (BLANKENBERG et al., 2003).

4 As CAM desempenham um papel fundamental na infiltração de leucócitos no endotélio
5 ativo e sua expressão aumenta após a lesão isquêmica. As CAM medeiam as interações
6 moleculares entre endotélio e leucócito, como rolagem, aderência e migração transendotelial
7 de leucócitos. Tais interações são necessárias para que essas células passem pela BHE e
8 alcancem o cérebro isquêmico. Entre as CAM temos: 1) a superfamília de genes de
9 imunoglobulina que inclui ICAM-1, ICAM-2, VCAM-1 e molécula de adesão de células
10 endoteliais plaquetárias 1 (PECAM-1); 2) as selectinas E-selectina (endotélio), P-selectina
11 (plaquetas) e L-selectina (leucócitos); e 3) integrinas; 4) caderinas e 5) mucinas
12 (KRIEGLSTEIN; GRANGER, 2001; RAMIRO et al., 2018; YANG et al., 2018).

13 Atenção especial tem sido dada ao valor potencial das CAM como biomarcadores para
14 doença cardiovascular (GEARING; NEWMAN, 1993). No entanto, as origens das formas
15 solúveis das CAM não são totalmente claras, nem os fatores moleculares e celulares que
16 determinar seus níveis no sangue. O aumento da produção de formas solúveis pode ser atribuído
17 a um aumento da transcrição de genes, alterações da estabilidade do RNA mensageiro (mRNA),
18 alterações na tradução, produção de formas de *splicing* alternativo que são secretadas e, a
19 hipótese mais favorável, clivagem proteolítica aumentada da superfície da célula. No entanto,
20 as informações sobre a relação entre o grau de expressão celular e a quantidade de formas
21 solúveis das CAM, assim como sua potencial funcionalidade, permanecem ainda obscuras
22 (BLANKENBERG et al., 2003).

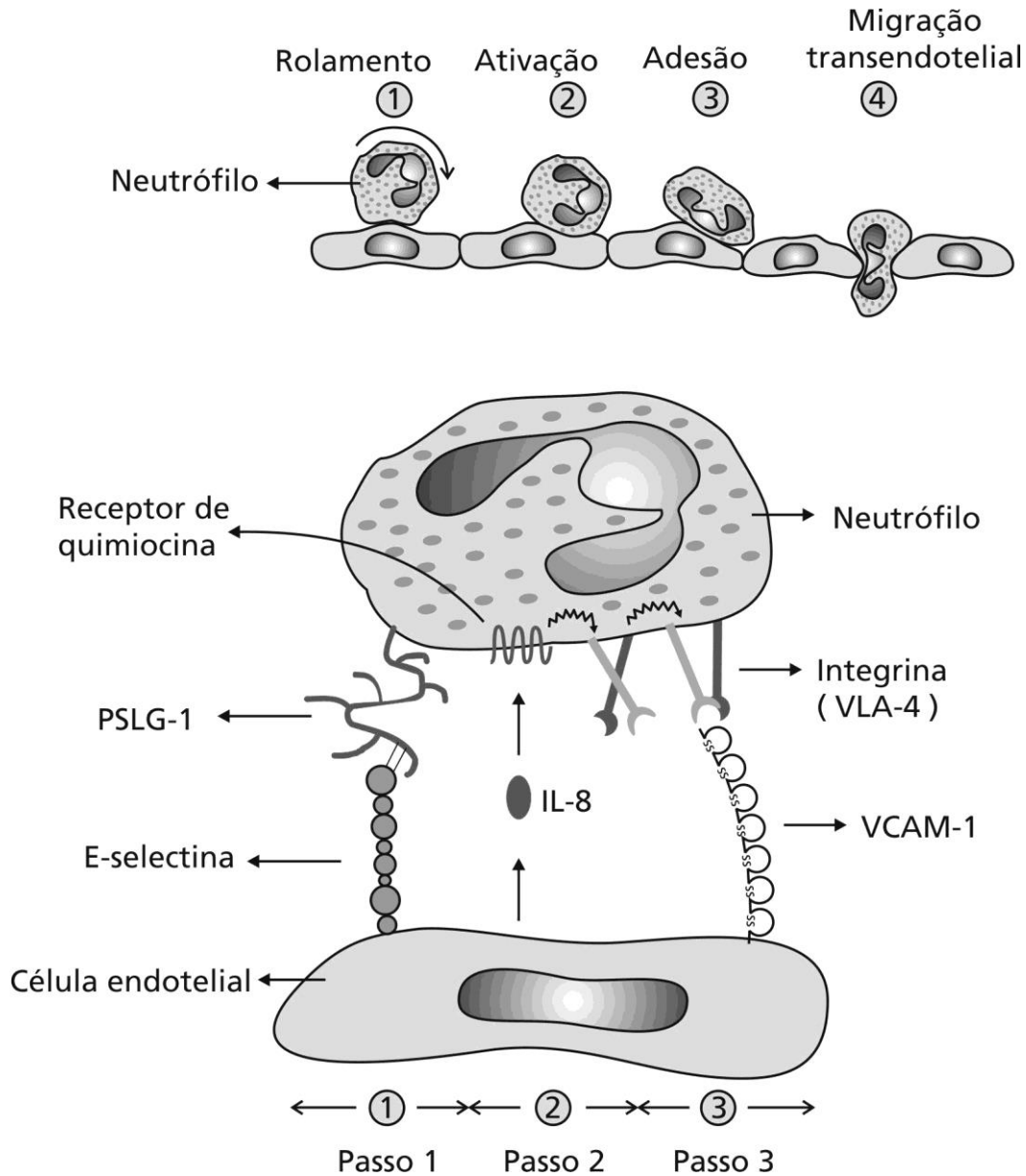
23 Embora as formas ligadas à membrana de qualquer MAC sejam difíceis de medir *in*
24 *vivo*, as formas solúveis podem ser detectadas no soro ou plasma e são aumentadas em muitas
25 condições com um componente inflamatório (GEARING; NEWMAN, 1993). A elastase
26 leucocitária humana mostrou clivar ICAM-1 de vários tipos de células *in vitro*, e essa clivagem
27 proteolítica pode ser inibida por α 1-antitripsina (CHAMPAGNE et al., 1998). A forma ancorada
28 à membrana de VCAM-1 pode ser clivada de linfócitos *in vitro* por clivagem proteolítica
29 envolvendo uma MMP (LECA; MANSUR; BEDNSUSSAN, 1995). Os níveis de sICAM-1 e
30 sVCAM-1 aumentam em \approx 10% imediatamente após o exercício em pacientes com doença
31 arterial periférica e claudicação, mas não mudam após o exercício em indivíduos controle
32 (BREVETTI et al., 2001).

1 Considerando seu papel na fisiopatologia do AVCI, as CAM têm potencial para serem
2 utilizadas tanto como biomarcadores de diagnóstico e prognóstico, como possíveis alvos
3 terapêuticos, embora, os estudos tenham relatado resultados conflitantes até o momento
4 (LEHMANN et al., 2021b; PATEL et al., 2020; RAMIRO et al., 2018; RICHARD et al., 2015;
5 SUPANC et al., 2011).

6 Quatro etapas sequenciais e coordenadas são observadas durante a migração
7 transendotelial dos leucócitos, como: 1) marginação, quando os leucócitos se movem da parte
8 central da circulação sanguínea para a periferia do vaso, em direção à parede do vaso para,
9 posteriormente, se ligarem à da superfície das células endoteliais; 2) captura e rolamento,
10 quando ocorre a adesão transitória dos leucócitos às células endoteliais; 3) adesão, quando
11 ocorre a união firme (aderência) dos leucócitos às células endoteliais; e 4) diapedese, quando
12 ocorre a passagem dos leucócitos através das células endoteliais em direção ao parênquima
13 tecidual (KRIEGLSTEIN; GRANGER, 2001). A Figura 3 ilustra as etapas sequenciais e
14 coordenadas da migração transendotelial dos leucócitos.

15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34

1 **Figura 3** Etapas sequenciais e coordenadas da migração transendotelial dos leucócitos
 2
 3



4

5

6 PSLG-1: *P-selectin glycoprotein ligand-1*; IL-8: interleucina 8; VLA-4: *very late antigen 4*;
 7 VCAM-1: *vascular cellular adhesion molecule 1*.

8 Fonte: Neto, Morvan (2022). Disponível em: <https://canal.cecierj.edu.br/recurso/8335>.

9 Acessado em 11 de fevereiro de 2022.

10

11

12 1.6.1 E-selectina

13 A E-selectina é encontrada no endotélio, em contraste com outras CAM que possuem
 14 uma ampla distribuição nos tecidos. Demonstrou-se ser induzida no endotélio pela IL-1, TNF-

1 α e endotoxinas, e promove interação com linfócitos e neutrófilos (GEARING; NEWMAN,
2 1993). Sua expressão é observada cerca de 2h após a isquemia aguda e contribui para o
3 recrutamento precoce das células para região afetada, o que poderia explicar sua correlação com
4 o prognóstico na fase aguda do AVCI, edema citotóxico e vasogênico precoce, como
5 observados em estudos prévios (RICHARD et al., 2015; YILMAZ; GRANGER, 2008).

6 Estudos prévios evidenciaram aumento dos níveis de E-selectina nos pacientes com
7 AVCI (BITSCH et al., 1998; FASSBENDER et al. 1995). No estudo de Richard e
8 colaboradores (2015) a E-selectina se mostrou preditor independente para mortalidade após três
9 meses do AVCI. Outro estudo demonstrou que variações no gene da E-selectina estão
10 associadas com a suscetibilidade ao AVCI (YANG et al., 2018).

11 12 1.6.2 P-selectina

13 A P-selectina é uma CAM expressa na superfície plaquetária e de células endoteliais
14 ativadas, mediando o rolamento de leucócitos. É um componente da membrana do grânulo alfa
15 e aparece na superfície de ativação da célula e pode ser clivada para produzir uma forma solúvel
16 no plasma que é facilmente dosada. Níveis aumentados de P-selectina estão presentes em muitas
17 doenças cardiovasculares, autoimunes, neoplásicas e trombóticas (NADAR; LIP; BLANN,
18 2004; RAMIRO et al., 2018).

19 Vários estudos têm demonstrado maiores níveis de P-selectina em pacientes com AVCI
20 comparados a controles saudáveis, o que pode corroborar com seu papel na lesão no AVCI. A
21 associação entre a expressão da P-selectina e a lesão após AVCI parece envolver uma via
22 dependente do sistema complemento, uma vez que a regulação positiva da P-selectina resulta
23 da ativação do sistema complemento (LICATA et al., 2009; NADAR; LIP; BLANN, 2004;
24 TUTTOLOMONDO et al., 2009; YILMAZ; GRANGER, 2008).

25 26 1.6.3 ICAM-1

27 A ICAM-1 é expressa em leucócitos, células endoteliais, plaquetas, fibroblastos, células
28 epiteliais e células gliais. É necessária para a migração transendotelial de neutrófilos e sua
29 expressão é um passo essencial para a adesão de leucócitos na microvasculatura cerebral após
30 o AVCI. Apesar das evidências de que a ICAM-1 contribua para lesão cerebral secundária, as
31 variações nos seus níveis após o AVCI e o seu papel na fisiopatologia do AVCI ainda são
32 contraditórios (JUSTICIA et al., 2006; RAMIRO et al. 2018; WANG et al 1994; YILMAZ;
33 GRANGER, 2008).

1 Quanto ao prognóstico e gravidade do AVCI, também há dados contraditórios em
2 relação aos níveis de ICAM-1. Wang e colaboradores (2006) associaram os níveis elevados de
3 sICAM-1, obtidos na admissão hospitalar, com deterioração neurológica precoce. Níveis mais
4 elevados de ICAM-1 também foram associados a maior área de infarto e pior prognóstico
5 (SOTGIU et al., 2006). Em pacientes de meia-idade, níveis elevados de ICAM-1 na admissão
6 hospitalar foram associados à mortalidade precoce e, com um aumento de 10 ng/mL nos níveis
7 de ICAM-1, houve um risco 9% maior de mortalidade (RADILLIS et al., 2009). Porém, outro
8 estudo não encontrou essa associação (SUPANC et al., 2011).

10 1.6.4 VCAM-1

11 VCAM-1 é uma CAM expressa na superfície das células endoteliais. Sua expressão é
12 mínima no endotélio não estimulado, mas é regulada positivamente por várias citocinas pró-
13 inflamatórias. A aderência de linfócitos e monócitos em leitos vasculares inflamados é mediada
14 por esta CAM (KRIEGLSTEIN; GRANGER, 2001; RAMIRO et al., 2018; YANG et al., 2018).

15 Em estudo imunohistoquímico de tecido cerebral de pacientes que morreram de AVCI
16 foi evidenciada intensa expressão de VCAM-1 por células endoteliais e astrócitos da área
17 infartada (RAMIRO et al., 2018; (ZAREMBA; LOSY, 2002). Quando os níveis de sVCAM-1
18 foram comparados entre pacientes com AVCI e controles, vários autores verificaram que os
19 pacientes com AVCI apresentaram níveis mais elevados de sVCAM-1 (BITSCH et al., 1998;
20 BLANN, 1999; LICATA et al., 2009; TUTTOLOMONDO et al., 2009)

21 Blann e colaboradores (1999) também observaram aumento de sVCAM-1 em
22 indivíduos com AVCI quando comparados a controles saudáveis e indivíduos com
23 aterosclerose carotídea. Também Fassbender e colaboradores (1995) evidenciaram níveis mais
24 altos de sVCAM-1 em paciente com AVCI quando comparados a indivíduos com fatores de
25 risco vasculares. Pode ser devido à regulação positiva do VCAM-1 na fase aguda do AVCI, o
26 que não ocorre em pessoas que não têm isquemia.

27 Os níveis de sVCAM-1 permaneceram elevados mesmo após três meses de
28 acompanhamento após AVCI, de acordo com Blann et al. (1999). Esses achados sugerem a
29 possibilidade de que essas moléculas sejam expressas nas fases aguda e crônica da lesão
30 isquêmica e que desempenhem um papel tanto no infarto quanto no reparo tecidual.

31 Em relação à associação com o prognóstico, o estudo MITICO mostrou que pacientes
32 com níveis mais elevados de sVCAM-1 na admissão hospitalar apresentaram maior
33 probabilidade de recorrência do AVC (CASTILLO et al., 2009). Em outra investigação
34 (RICHARD et al., 2015), foi observado que um nível mais alto de sVCAM-1 na segunda a

1 terceira semanas após AVCI foi associado com pior prognóstico após três meses. Outros
2 pesquisadores, no entanto, não detectaram a mesma associação. Supanc e colaboradores (2011)
3 não evidenciaram diferenças nos níveis de sVCAM-1 entre controles e pacientes, assim como
4 não observaram associação com gravidade ou prognóstico do AVCI.

5 6 1.6.5 PECAM-1

7 A PECAM-1 é constitutivamente expressa em plaquetas e altamente expressa na maioria
8 dos leucócitos e nas células endoteliais. Ela apresenta isoformas, as quais são distintas,
9 executando funções distintas, como controle das etapas finais da migração transendotelial, a
10 manutenção da integridade juncional endotelial e angiogênese. Sua expressão não é alterada
11 com a estimulação de citocinas. Quanto aos seus diferentes efeitos, não está claro qual é o papel
12 predominante no AVCI (KALINOWSKA; LOSY, 2006; KRIEGLSTEIN; GRANGER, 2001;
13 WINNEBERGER et al., 2021; ZAREMBA; LOSY, 2002).

14 Zaremba e Losy (2002), comparando pacientes com AVCI dentro de 24h após evento
15 isquêmico e controles, evidenciaram aumento significativo nos níveis de sPECAM-1 no soro e
16 no líquido cefaloraquidiano (LCR) do grupo de pacientes após AVCI. Nesse estudo, os níveis
17 de sPECAM-1 foram maiores no LCR do que no soro, e tanto os níveis séricos, quanto
18 líquóricos correlacionam-se positivamente com o volume das áreas de hipoperfusão crítica na
19 tomografia (TC) de crânio, sugerindo que a PECAM-1 possa estar envolvida na extensão do
20 dano isquêmico. Além disso, os níveis de sPECAM-1 dentro de 24h e na segunda semana após
21 o AVCI correlacionaram-se positivamente com a gravidade do AVCI e com o grau de
22 incapacidade funcional avaliados dentro de 24h do AVCI e na segunda semana após o evento,
23 respectivamente (ZAREMBA; LOSY, 2002)

24 Em estudo recente em modelo de AVCI em camundongos, a PECAM-1 controlou a
25 migração transendotelial de neutrófilos e o bloqueio da PECAM-1 com anticorpos após o início
26 do AVC levou a melhora na gravidade do AVCI, reduzindo significativamente os volumes das
27 lesões e edema, com uma recuperação neurológica mais precoce (WINNEBERGER et al.,
28 2021).

29 O Quadro 3 sumariza as principais CAM envolvidas na adesão de leucócitos e células
30 endoteliais.

31
32
33
34

1 **Quadro 3** Moléculas de adesão envolvidas na adesão de leucócitos e células endoteliais
2

Molécula de adesão celular	Nomenclatura alternativa	Localização	Ligante	Função
Família das Selectinas				
L-selectina	CD62L LAM-1 LECAM-1	Todos os leucócitos (exceto linfócitos T de memória)	P-/E-selectina GlyCAM, CD14 MAdCAM-1	Rolamento: fixação inicial firme dos leucócitos no endotélio
P-selectina	CD62P PADGEM GMP-140	Células endoteliais + plaquetas	L-selectina PSGL-1, sLe ^k , sLe ^a 120kD PSL	Rolamento: fixação inicial firme dos leucócitos no endotélio
E-selectina	CD62E ELAM-1	Células endoteliais	L-selectina CLA, SSEA-1 250kD ESL	Rolamento: fixação inicial firme dos leucócitos no endotélio
Família das Integrinas				
LFA-1	CD11a/CD18 (α L β 2)	Todos os leucócitos	ICAM-1 ICAM-2	Adesão e migração
Mac-1	CD11b/CD18 (α M β 2)	Granulócitos + monócitos + macrófagos	ICAM-1 iC3b, Fb	Adesão e migração
CD11c/CD18	p150, 95 (α x β 2)	Granulócitos + monócitos + macrófagos	iC3b, Fb	Adesão e migração

CD11d/CD18	α d β 2	Linhagem de células mielomonocíticas + macrófagos <i>in vitro</i>	ICAM-3 ICAM-1	Adesão e migração
VLA-4	CD49d/CD29 (α 4 β 1) Integrina 4	Linfócitos, monócitos, eosinófilos + basófilos	VCAM-1 moléculas da matriz extracelular	Adesão
CD49d/ β 7	α 4 β 7	Linfócitos	VCAM-1 MAdCAM-1 Fibronectina	Adesão
Superfamília de genes de imunoglobulina				
ICAM-1	CD54a	Endotélio + monócitos	LFA-1	Adesão e migração
ICAM-2	CD102	Endotélio	Mac-1 e LFA-1	Adesão e migração
VCAM-1	CD106	Endotélio	CD49d/CD29	Adesão
PECAM-1	CD31	Endotélio, leucócitos + plaquetas	VLA-4	Adesão e migração
MAdCAM-1		Endotélio (intestino)	L-selectina α 4 β 7	Adesão e migração

1 CAM 5 cell adhesion molecule; CLA 5 cutaneous lymphocyte antigen; (E)LAM 5 (endothelial)
2 leukocyte adhesion molecule; ESL 5 E-selectin; ligand; GMP 5 granule membrane protein;
3 ICAM 5 intercellular CAM; LECAM 5 lymphocyte-endothelial CAM; LFA 5 lymphocyte
4 function associated antigen; MAdCAM 5 mucosal addressin CAM; PADGEM 5 platelet
5 activation-dependent granule external membrane protein; PECAM 5 platelet endothelial CAM;
6 PSGL 5 P-selectin glycoprotein ligand; SSEA 5 sialyl stage-specific embryonic antigen; VCAM
7 5 vascular endothelial CAM; VLA 5 very late antigen. sLe^x: sialyl Lewis X; sLe^a: sialyl Lewis A
8 (CA 19.9).

9 Fonte: Adaptado de: Blythe et al. (2021); Krieglstein; Granger (2001); Nagy-Baló et al.
10 (2020); Schittenhelm; Hilkens; Morrison (2017).

11
12

1 1.7 ESTRATÉGIAS TERAPÊUTICAS NO AVCI

2
3 O tratamento para pacientes com AVCI agudo leva em consideração variáveis como:
4 tempo desde o início do AVCI (janela terapêutica), gravidade do déficit neurológico,
5 geralmente avaliada pela NIHSS e os achados de neuroimagem (TC de crânio, RNM de crânio,
6 angiografia). A avaliação da resposta terapêutica é acompanhada tanto pela NIHSS, quanto pela
7 avaliação de incapacidade pela mRS (POWERS, 2020; POWERS et al., 2019). Conforme a
8 avaliação de tais variáveis e das contraindicações, os pacientes elegíveis podem ser submetidos
9 a terapias de reperfusão como a trombólise endovenosa e a trombectomia mecânica. Idealmente
10 todos os pacientes deveriam ser direcionados para unidades de saúde equipadas para o
11 tratamento e manejo do AVCI (MARTINS et al., 2012; POWERS, 2020; POWERS et al.,
12 2019).

13 Medidas de suporte e monitorização são recomendadas os pacientes com AVCI, como:

- 14 ▪ Monitorização cardíaca pelo menos nas primeiras 24h;
- 15 ▪ Oxigênio suplementar de oximetria menor que 95%;
- 16 ▪ Controle de febre e hipertermia;
- 17 ▪ Controle glicêmico rigoroso, evitando hipoglicemias e hiperglicemias;
- 18 ▪ Manejo da hipertensão arterial conforme as metas para pacientes não candidatos à
19 terapia de reperfusão e para pacientes submetidos à trombólise e trombectomia
20 mecânica;
- 21 ▪ Profilaxia de tromboembolismo venoso;
- 22 ▪ Triagem de disfagia;
- 23 ▪ Monitorização quanto ao risco e sinais de hipertensão intracraniana, edema cerebral,
24 herniação cerebral, com intervenção neurocirúrgica se indicada.

25 Tais medidas são recomendadas tanto nos protocolos internacionais, como o *guideline*
26 da *American Heart Association* (POWERS et al., 2019, quanto nas recomendações da
27 Sociedade Brasileira de Doenças Cerebrovasculares (ANDRÉ et al., 2012; MARTINS et al.,
28 2012) e do Ministério da Saúde (BRASIL, 2013).

29 E além das medidas de suporte, conforme a etiologia do AVCI, são adotadas medidas
30 para prevenção secundária de novos eventos, como uso de estatinas, antiagregantes plaquetários
31 como aspirina e clopidogrel ou se indicado anticoagulantes. Além, destes medicamentos, há o
32 controle de fatores de risco (ANDRÉ et al., 2012; MARTINS et al., 2012; POWERS, 2020;
33 POWERS et al., 2019).

1 1.7.1 Estratégias de Reperusão

2
3 São fatores determinantes para as terapias de reperusão o tempo desde o início dos
4 sintomas, a gravidade do déficit e os achados de neuroimagem. Convencionou-se como o tempo
5 de início do AVCI o último momento em que o paciente foi visto bem, e nos casos que o
6 paciente acorda com déficit, portanto o horário que foi dormir. Quanto a avaliação do déficit
7 utiliza-se a NIHSS na avaliação e os achados de neuroimagem seguem escores específicos
8 (POWERS, 2020; POWERS et al., 2019) .

9 Dois medicamentos principais estão disponíveis para trombólise intravenosa: alteplase
10 e tenecteplase. A alteplase é uma forma recombinante do ativador do plasminogênio tecidual
11 (tPA) que cliva o plasminogênio em plasmina, a qual degrada a fibrina e dissolve o
12 trombo(CAMPBELL et al., 2019; POWERS, 2020; POWERS et al., 2019).

13 A alteplase é administrada como um bolus inicial seguido de uma infusão de 1h, sendo
14 essa terapia considerada o padrão o AVCI com evidências de melhora nos resultados em
15 pacientes selecionados quando administrada dentro de 4,5 horas após o início do déficit
16 (EMBERSON et al., 2014). Tratamentos com janela terapêutica estendida para 9 horas a partir
17 do início dos sintomas podem ser realizados em subgrupos selecionados (POWERS, 2020).

18 O principal efeito adverso da trombólise é a hemorragia, especialmente a transformação
19 hemorrágica do AVCI que, em casos graves, pode agravar a lesão cerebral e aumentar o efeito
20 de massa (CAMPBELL et al., 2019).

21 A trombectomia mecânica consiste na passagem de um cateter intra-arterial através de
22 uma punção periférica com a remoção de um trombo ocluser da artéria intracraniana.
23 Inicialmente, os primeiros estudos avaliaram a trombectomia mecânica realizada dentro de 6
24 horas após o início do AVC, e estudos mais recentes têm mostrado benefício em pacientes
25 selecionados com AVCI agudo quando realizada até 24 horas após o início do evento isquêmico
26 (CAMPBELL et al., 2019; OLIVEIRA-FILHO, J., et al., 2012; POWERS, 2020; POWERS et
27 al., 2019).

28 O estudo RESILIENT (MARTINS et al., 2020), realizado por pesquisadores brasileiros
29 em 12 hospitais da Rede Nacional de Pesquisa em AVC, foi o primeiro estudo em país em
30 desenvolvimento a evidenciar a redução de incapacidade e a custo-efetividade da trombectomia
31 no AVCI; todos os estudos anteriores todos foram realizados em países desenvolvidos. O estudo
32 demonstrou que a trombectomia mecânica aumentou de 20,0% para 35,1% a independência
33 funcional, e os pacientes submetidos à trombectomia tiveram 2,6 vezes mais chances de ficarem
34 independentes para atividades diárias do que os pacientes submetidos ao tratamento clínico. É

1 considerado um resultado importante, pois demonstra que a trombectomia pode ser expandida
2 para os países de baixo e médio desenvolvimento, que correspondem a 80,0% da população
3 mundial (MARTINS et al., 2020).

4 Embora, já comprovada a efetividade da trombólise e trombectomia mecânica, tais
5 tratamentos são limitados principalmente pela janela terapêutica, contraindicações, e
6 dificuldade de acesso dos pacientes a centros especializados.

7 8 1.7.2 Estratégias Imunomoduladoras: Anticorpos Monoclonais Contra Alvos de Infiltração 9 Leucocitária

10
11 Devido sua ação na infiltração linfocitária e propagação da resposta inflamatória no
12 AVCI, as CAM têm sido estudadas como possíveis alvos terapêuticos, principalmente com uso
13 de anticorpos que bloqueiem a infiltração leucocitária.

14 O bloqueio das selectinas foram testados em modelos animais. O bloqueio da P-selectina
15 em camundongos levou a redução de volume de infarto, porém não mostrou diferenças
16 significativas em ratos (CONNOLLY et al., 1997; GOUSSSEV et al., 1998). Um anticorpo
17 bloqueador preparado contra epítomos comuns de P-selectina e E-selectina foi humanizado para
18 suprimir a ativação do sistema complemento e testado em uma reperfusão em modelo de AVCI
19 em *Papio anubis* (babuíno) resultando em menor volume de infarto e melhores escores
20 neurológicos (MOCCO et al., 2002). Porém, ainda faltam estudos em humanos que avaliem
21 estratégias voltadas para as selectinas (JICKLING et al., 2015).

22 Quanto às CAM da família imunoglobulinas, ICAM-1 e VCAM-1, ambas também
23 foram estudadas como possíveis alvos terapêuticos. Modelos em ratos com administração de
24 anticorpos bloqueadores da ICAM-1 demonstraram menores áreas de infarto (CAO, et al, 2009;
25 MATSUO et al., 1994; ZHANG et al., 1995). Entretanto, no ensaio clínico de fase III com o
26 *Enlimomab*, um anticorpo monoclonal murino anti-ICAM-1, o grupo de pacientes tratados com
27 a medicação apresentou piora das funções neurológicas, aumento da mortalidade em
28 comparação com o grupo placebo (*Enlimomab Acute Stroke Trial Investigators*, 2001). Uma
29 possível explicação para este desfecho seria uma resposta imunológica ao anticorpo murino
30 (YILMAZ; GRANGER, 2008).

31 Também o uso da VCAM-1 como alvo terapêutico possui resultados contraditórios. O
32 principal ligante de VCAM-1 é o Antígeno Muito Tardio-4 [*very late antigen (VLA)*-4], que é
33 uma integrina constitutivamente expressa na membrana dos leucócitos. A interação entre VLA-
34 4 e VCAM-1 é importante para a transmigração de leucócitos para o local da lesão; portanto, a

1 inibição dessa interação por anticorpos específicos parece ser uma estratégia para o tratamento
2 do AVCI (RAMIRO et al, 2018).

3 Estudos em modelos experimentais de AVCI em animais, com bloqueio do eixo
4 VCAM-1/VLA-4 têm mostrado resultados discordantes. Enquanto alguns estudos
5 demonstraram efeitos benéficos como redução do tamanho do infarto e melhora da função
6 neurológica (BECKER et al, 2001; RELTON et al., 2001), em outros o efeito neuroprotetor não
7 se manteve (JUSTICIA et al., 2006; LANGHAUSER et al, 2014; LIESZ et al, 2011).

8 Em humanos, os pesquisadores investigaram o uso de natalizumabe, um anticorpo
9 monoclonal que tem como alvo a integrina-4 dentro do VLA-4, no AVCI agudo nos estudos
10 ACTION I e ACTION II. No entanto, não houve redução do volume do infarto, nem melhor
11 prognóstico funcional (ELKIND et al., 2020; ELKINS et al., 2017)

12 Terapias direcionadas a o extravasamento de células T também têm sido consideradas.
13 O fingolimode, um modulador do receptor de esfingosina-1-fosfato usado no tratamento da
14 esclerose múltipla, foi investigado em estudos pilotos tanto isoladamente quanto em
15 combinação com trombólise. Os resultados demonstraram um efeito benéfico do fingolimode
16 no tamanho do infarto, taxas de transformação hemorrágica e função neurológica (FU et al.,
17 2014b; ZHU et al., 2015).

18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34

2 JUSTIFICATIVA

O AVCI é uma doença grave, sendo a segunda causa de mortalidade no mundo e uma das principais causas de morbimortalidade; porém, ainda não são disponíveis na prática clínica biomarcadores laboratoriais que possam auxiliar na avaliação de gravidade e prognóstico dos pacientes acometidos na fase aguda.

Nosso grupo de pesquisa tem investigado diferentes biomarcadores genéticos, inflamatórios, anti-inflamatórios e metabólicos associados ao AVCI agudo e suas associações com os subtipos de AVCI e prognóstico. Esses marcadores podem ser utilizados na avaliação do paciente com AVCI para identificar quais se beneficiariam de estratégias terapêuticas individualizadas conforme os diferentes perfis inflamatórios e metabólicos (DE SOUSA PARREIRA et al., 2015; LEHMANN et al., 2015; ALFIERI et al., 2017; REICHE et al., 2019; LEHMANN et al. 2021a; LEHMANN et al. 2021b).

Apesar da disfunção endotelial ser um importante mecanismo envolvido no AVCI, poucos estudos avaliaram as CAM, especialmente VCAM-1, como preditor de prognóstico e mortalidade, e os estudos disponíveis apresentam resultados conflitantes (PATEL et al., 2020; RAMIRO et al., 2018; RICHARD et al., 2015; SUPANC et al., 2011).

A resposta inflamatória no cérebro apresenta mudanças ao longo do tempo. É por isso que o conhecimento sobre se e quando os níveis de CAM aumentam ou diminuem no curso da fase aguda do AVCI pode ajudar determinar um possível papel destas moléculas como biomarcadores precoces e objeto de uma perspectiva de intervenção terapêutica na fase aguda do AVCI. A identificação de biomarcadores, principalmente associando marcadores clínicos, e laboratoriais, que possam prever precocemente um pior prognóstico e a mortalidade dos pacientes que sofreram AVCI seria de grande utilidade na prática clínica. Principalmente no cenário de urgência e emergência, os biomarcadores poderiam complementar a avaliação do paciente com AVCI, colaborando com a análise da gravidade e de prognóstico, apoiando o profissional de saúde em decisões terapêuticas.

Quanto às escalas prognósticas, a despeito de estudos em outras populações correlacionarem a NIHSS com mortalidade e prognóstico funcional, um estudo que avaliou previamente a NIHSS na população brasileira, não demonstrou boa capacidade de predição de mortalidade hospitalar e resultado funcional (KUSTER et al., 2016).

Tendo em vista as controvérsias descritas na literatura e a futura aplicabilidade clínica de novos biomarcadores para a avaliação de mortalidade dos pacientes com AVCI, este estudo propôs um modelo utilizando variáveis clínicas e marcadores laboratoriais para prever

1 mortalidade com AVCI. Destacando-se a avaliação das CAM como preditores do desfecho a
2 curto prazo do AVCI. Portanto, o presente estudo poderá contribuir para o melhor
3 conhecimento do envolvimento das CAM na fisiopatologia do AVCI e identificação de
4 biomarcadores que possam estar associados com a mortalidade dos pacientes e que possam ser
5 sugeridos como novos alvos para terapias personalizadas

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

19

20

21

22

23

24

25

26

27

28

29

30

31

32

1 **3 OBJETIVOS**

2

3 3.1 OBJETIVO GERAL

4

5 Avaliar a associação entre os níveis plasmáticos das CAM e os fatores de risco, subtipos,
6 gravidade e mortalidade do AVCI agudo.

7

8 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

9

- 10 ▪ Determinar os níveis plasmáticos das formas solúveis de CAM: sE-selectina, sP-
11 selectina, sICAM-1, sVCAM-1 e sPECAM-1 nos pacientes com AVCI;
- 12 ▪ Avaliar a associação entre as CAM com os fatores de risco para AVCI, biomarcadores
13 inflamatórios e anti-inflamatórios nos pacientes com AVCI;
- 14 ▪ Avaliar a associação entre CAM com os subtipos de AVCI;
- 15 ▪ Avaliar a associação entre as CAM com a gravidade e mortalidade do AVCI;
- 16 ▪ Propor modelos preditores de mortalidade a curto prazo após o AVCI, utilizando
17 biomarcadores clínicos e laboratoriais

1 **4 METODOLOGIA**

2

3 4.1 ASPECTOS ÉTICOS

4

5 A pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa Em Seres Humanos da
6 Universidade Estadual de Londrina (UEL), Paraná, Brasil (CAAE: 61361416.9.0000.5231, nº
7 1.816.305) (Anexo 3). Todos os pacientes assinaram o termo de consentimento livre e
8 esclarecido (TCLE) (Apêndice 1). Quando os pacientes com AVCI não conseguiram se
9 comunicar, seus responsáveis legais assinaram o TCLE.

10

11 4.2 DELINEAMENTO

12

13 Foi realizado um estudo longitudinal prospectivo para avaliação dos níveis plasmáticos
14 basais das CAM com os fatores de risco, subtipos, gravidade e prognóstico do AVCI após três
15 meses do evento isquêmico.

16

17 4.3 POPULAÇÃO E AMOSTRA

18

19 Trata-se de uma amostra consecutiva, de conveniência de tempo e local, com a inclusão,
20 prospectiva de 132 pacientes atendidos no Pronto Socorro do Hospital Universitário de
21 Londrina (HU), adultos, de ambos os sexos e com sinais ou sintomas neurológicos agudos
22 atribuídos ao AVCI, confirmados por tomografia computadorizada (TC) de crânio e/ou RNM
23 de crânio e exame clínico. Os pacientes foram atendidos no período de janeiro de 2017 a janeiro
24 de 2018.

25

26 4.4 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

27

28 Os critérios de exclusão para pacientes com AVCI foram: acidente vascular cerebral
29 hemorrágico (AVCH); ataque isquêmico transitório (AIT); história de infarto do miocárdio,
30 neoplasias, infecções crônicas, como infecção pelo vírus da imunodeficiência humana tipo 1
31 (HIV-1), infecção pelo vírus da hepatite B (HBV) e vírus da hepatite C (HCV), presença de
32 distúrbios imunoinflamatórios, doença inflamatória intestinal, doença renal ou hepática; febre
33 nos últimos sete dias anteriores ao início dos sintomas do AVCI; cirurgia ou trauma nos últimos

1 30 dias; angiografia nos últimos sete dias; e uso crônico de anti-inflamatórios e
2 imunossupressores esteroidais ou não esteroidais.

3 4 4.5 AVALIAÇÃO DOS SUBTIPOS DE AVCI, GRAVIDADE E PROGNÓSTICO DE 3 MESES

5
6 Os subtipos de AVCI foram classificados de acordo com os critérios de TOAST
7 (ADAMS et al., 1993) e a NIHSS foi usada para classificação da gravidade do AVCI como leve
8 (NIHSS < 5), moderada (NIHSS 5-14), ou grave (NIHSS ≥15) (BROTT et al., 1989).

9 Todos os pacientes foram tratados de acordo com as protocolos nacionais para o
10 tratamento do AVCI (ANDRÉ et al., 2012; BRASIL, 2013; OURIQUES MARTINS et al.,
11 2012). Após três meses, os pacientes ou seus familiares foram contatados via telefone e a Escala
12 de Rankin Modificada (mRS) (Anexo 2) foi utilizada para avaliação do grau de incapacidade
13 dos pacientes ((BAGGIO et al., 2014; WANG et al., 2014).

14 Os participantes foram classificados como sobreviventes (mRS<6) ou não sobreviventes
15 (mRS=6) (PARK et al., 2015). Nos casos de óbito, o avaliador solicitou a data do mesmo e,
16 também, foram consultados bancos de dados municipais quanto aos falecimentos. Os desfechos
17 de mortalidade foram definidos como qualquer causa de morte, com exceção da morte acidental
18 (WEI et al., 2018).

19 20 4.6 DADOS DEMOGRÁFICOS, ANTROPOMÉTRICOS, CLÍNICOS, DE IMAGEM E LABORATORIAIS

21
22 Em até 24h da admissão hospitalar foi realizada a inclusão do paciente na pesquisa, com
23 coleta de dados e de amostras de sangue periférico. Uma avaliação clínica e um questionário
24 padrão (Apêndice 2) foram utilizados para coleta dos dados demográficos (idade, sexo, etnia
25 autodeclarada), antropométricos (peso e estatura relatados pelos pacientes ou seus familiares),
26 índice de massa corporal (IMC) e dados clínicos como fatores de risco e relacionados ao AVCI,
27 antecedentes de doenças progressas, uso de medicações e hábitos de vida.

28 A pressão arterial sistólica (PAS) e pressão arterial diastólica (PAD) basais foram
29 aferidas duas vezes e a média desses dois valores foi utilizada na análise estatística dos dados.
30 HAS foi definida como PAS 140 mmHg ou PAD 90 mmHg após a fase aguda do AVCI. O uso
31 de medicação anti-hipertensiva também foi utilizado para o diagnóstico de HAS (JAMES et al.,
32 2014). O DMT2 foi definido como um nível de glicemia de jejum ≥ 126 mg/dL, um nível de
33 glicose sérica sem jejum ≥ 200 mg/dL ou o uso de um medicamento hipoglicemiante
34 (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION PROFESSIONAL PRACTICE COMMITTEE,

2022). Dislipidemia foi definida como a presença de uma ou mais das concentrações séricas anormais de lipídios: colesterol total > 200 mg/dL, lipoproteína de baixa densidade (LDL) colesterol > 130 mg/dL, lipoproteína de alta densidade (HDL) colesterol > 40 mg/dL e triglicerídeos > 150 mg/dL (NATIONAL CHOLESTEROL EDUCATION PROGRAM, 2002).

Os dados foram, também, obtidos por meio de consulta aos prontuários médicos e à base de dados LABBOS do Laboratório de Análises Clínicas do HU/UEL

4.7 COLETA DE AMOSTRA BIOLÓGICA E EXAMES LABORATORIAIS

A coleta de amostra de sangue periférico foi realizada em até 24 horas após a admissão do paciente em tubo de coleta à vácuo sem anticoagulante e com os anticoagulantes ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) e fluoreto de sódio. O soro e plasma foram obtidos após centrifugação 10 min 2500 r.p.m. e armazenados a -80°C até o momento do uso.

O método imunofluorimétrico com imunoensaio de microesferas multiplex (Novex Life Technologies, Frederick, EUA) foi utilizado para avaliar os níveis plasmáticos das citocinas inflamatórias IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-12p70 e TNF- α , de ICAM-1 solúvel (sICAM-1), VCAM-1 solúvel (sVCAM-1), molécula 1 de adesão celular endotelial plaquetária solúvel (sPECAM-1), E-selectina solúvel (sE-selectina) e P-selectina solúvel (sP-selectina). Utilizando a plataforma Luminex no equipamento MAGPIX® (Luminex Corp., TX, EUA).

A homocisteína foi obtida por meio de imunoensaio de micropartícula com quimioluminescência, enquanto os marcadores metabólicos como glicose e o lipidograma, por método automatizado.

4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As variáveis categóricas foram expressas em números absolutos (n) e porcentagem (%), enquanto as variáveis contínuas foram expressas em mediana e intervalo interquartil (IQR) de 25% e 75%, mínimo e máximo, quando apropriado.

Análises de tabelas de contingência (teste de χ^2) verificaram as associações entre variáveis categóricas e grupos diagnósticos. Nos testes paramétricos, o teste de Kolmogorov-Smirnov avaliou a normalidade da distribuição. Avaliamos as diferenças nas variáveis contínuas entre os grupos por meio da análise do teste de Mann Whitney ou Kruskal-Wallis quando os dados não foram paramétricos. A transformação logarítmica (Ln) de dados contínuos

1 foi utilizada na análise de variáveis que não apresentavam distribuição normal ou quando havia
2 heterogeneidade de variância avaliada pelo teste de Levene.

3 Para a análise dos resultados das citocinas, foram criados dois índices com os escores z
4 de cada resultado: inflamatório z(IL)-1+ zIL-2+ zIL-6+, zIL-12p70, zIL-17A, zIFN- γ , zTNF-
5 α ; anti-inflamatório: zIL-4, zIL-10, zTGF- β . A transformação em Z-score padronizado e
6 permitiu a comparação de escores de distribuição díspares (MAES; CARVALHO, 2018).

7 As correlações entre as CAM e variáveis clínicas, inflamatórias e anti-inflamatórias
8 foram avaliadas por meio dos coeficientes de correlação de Spearman. A análise do modelo
9 linear geral multivariado (GLM) avaliou os efeitos das variáveis explicativas nas variáveis
10 dependentes (sPECAM-1, sVCAM-1, sICAM-1, sE-selectina, sP-selectina) com dados
11 sociodemográficos, clínicos, inflamatórios e anti-inflamatórios como variáveis independentes.
12 Testes para efeitos entre sujeitos avaliam os efeitos univariados de variáveis predictoras
13 significativas sobre as variáveis dependentes. O teste M de Box foi usado para testar a
14 homogeneidade das matrizes de covariância.

15 A associação entre mortalidade após três meses de seguimento e CAM que apresentaram
16 associação significativa na análise univariada foi avaliada pelo método hierárquico de análise
17 de regressão logística binária. Com a definição da associação entre variáveis, aplicou-se a
18 Regressão de Cox com métodos hierárquicos para avaliar a taxa de sobrevivida.

19 Os preditores de mortalidade foram avaliados usando a área sob a curva *receiver*
20 *operating characteristic* (AUC/ROC) como nossa medida de discriminação, com suavização
21 de Kernel para otimizar o método Youden-Index. A curva AUC/ROC reflete a capacidade dos
22 modelos de discriminar entre aqueles que sobrevivem e os que não sobrevivem. O valor
23 preditivo positivo (VPP), valor preditivo negativo (VPN), sensibilidade e especificidade,
24 usando modelos combinados, também foram determinados.

25 A partir dos dados obtidos no presente estudo, foram geradas aleatoriamente 500
26 amostras *bootstrap* de mesmo tamanho, obtidas por reamostragem e reposição de cada amostra,
27 para o teste de validação. As análises estatísticas foram realizadas usando o Ambiente R (*R*
28 *Development Core Team* 2022).

1 **5 RESULTADOS**

2

3 Os resultados serão apresentados e discutidos no artigo original a seguir, o qual será
4 submetido para publicação em revista internacional nas áreas de neurologia/ acidente vascular
5 encefálico isquêmico / neuroinflamação/ neuroimunologia

6

7 5.1 ARTIGO 1:

8 *Baseline severity and soluble vascular cell adhesion molecule 1 (sVCAM-1) as biomarker*
9 *predictors of short-term mortality in acute ischemic stroke*

10

11

12

13

14

15

16

17

18

19

20

21

22

23

24

25

26

27

28

29

30

31

32

33

34

1 **ARTIGO**

2 **Baseline severity and soluble vascular cell adhesion molecule 1 (sVCAM-1) as biomarker**
3 **predictors of short-term mortality in acute ischemic stroke**

4

5 Maria Caroline Martins de Araújo¹, Daniela Frizon Alfieri², Ana Lucia Cruz Fürstenberger
6 Lehmann³, Tamires Flauzino Luz⁴, Emmanuelle Roberto Trevisan⁴, Maisa Rocha Nagao⁴,
7 Leonardo Bodner de Freitas⁴, Andrea Name Colado^{4,5}, Edna Maria Vissoci Reiche^{4,5}

8

9

10 1 Clinical and Laboratory Pathophysiology Postgraduate Program, Health Sciences Center,
11 State University of Londrina, Paraná, Brazil;

12 2 Department of Pharmaceutical Sciences, Health Sciences Center, State University of
13 Londrina, Paraná, Brazil;

14 3 Department of Clinical Medicine, Health Science Center and Radiology Service of the
15 University Hospital, State University of Londrina, Paraná, Brazil;

16 4 Laboratory of Research in Applied Immunology, Health Sciences Center, State University of
17 Londrina, Paraná, Brazil;

18 5 Department of Pathology, Clinical Analysis, and Toxicology, Health Sciences Center, State
19 University of Londrina, Paraná, Brazil;

20

21 Address for correspondence: Edna Maria Vissoci Reiche, Department of Pathology, Clinical
22 Analysis and Toxicology, Health Sciences Center, Londrina State University, Av. Robert Koch,
23 60, CEP 86.038-440, Londrina, Paraná, Brazil. Phone/FAX number: +55-43-3371-2619. e-
24 mail: reiche@sercomtel.com.br; ORCID: 0000-0001/6507-2839.

25

26

27

28

29

30

31

32

33

34

1 ABSTRACT

2 **Background:** Clinical, laboratory, and imaging biomarkers have been studied as potential
3 biomarkers for predicting short-term prognosis and death in patients with acute ischemic stroke
4 (IS). However, most results have evaluated a single biomarker with conflicting results.

5 **Objective:** To evaluate the association between plasma levels of cell adhesion molecules
6 (MACs) and risk factors, subtypes, severity and mortality of acute IS, as well as to identify a
7 panel of biomarkers to predict the short-term mortality after IS.

8 **Methods:** The study prospectively evaluated 132 IS patients within 24 h of their hospital
9 admission. The IS subtypes were defined using the Trial of ORG 10172 in Acute Stroke
10 Treatment (TOAST) criteria. Demographic, anthropometric, clinical, and laboratory
11 (inflammatory and anti-inflammatory cytokines and soluble MACs) data were evaluated. The
12 IS baseline severity was assessed using the NIHSS and categorized as mild (NIHSS<5),
13 moderate (NIHSS 5-14) and severe (NIHSS \geq 15). Mortality was assessed three months after the
14 IS. The modified Rankin scale (mRS) was applied, and patients were categorized as survivors
15 (mRS<6) and non-survivors (mRS = 6).

16 **Results:** Twenty-nine (21.9%) of the 132 patients who were followed up on three months
17 following their study admission did not survive. Non-survivors showed higher NIHSS and
18 sVCAM-1 than survivors. sVCAM-1 levels were associated with mortality (p=0.001). Large
19 artery atherosclerosis stroke (LAAS) having higher sVCAM-1 serum levels than lacunar infarct
20 (LAC) (p=0.011) and other determined etiology (ODE) (p=0.009) in univariate analysis. The
21 model combining the sVCAM-1 and NIHSS showed better results to predict short-term
22 mortality than the models with sVCAM-1 and NIHSS alone. NIHSS and sVCAM-1 together
23 showed an area under the curve receiving operating characteristics (AUC/ROC) of 0.8841 [95%
24 confidence interval (CI): 0.795-0.941], whereas NIHSS and sVCAM-1 showed an AUC/ROC
25 of 0.723 (95% CI: 0.581-0.821) and 0.844 (95% CI: 0.732-0.9410), respectively. Together,
26 NIHSS and sVCAM-1 correctly classified 86.5% of cases, with a positive predictive value of
27 68.0% and a negative predictive value of 91.3%.

28 **Conclusion:** sVCAM-1 values together with the high severity score of IS (NIHSS) obtained
29 within 24 hours of hospital admission were predictors of higher mortality at three-month follow
30 up in patients with IS. Therefore, the use of a combined model of these biomarkers can early
31 predict the prognosis of patients with IS who may benefit from therapeutic measures of
32 personalized therapy that taken into account these biomarkers. Moreover, this result suggests
33 that VCAM-1 might be an interesting target for the therapeutic strategies in IS.

34

1 **Keywords:** ischemic stroke, cell adhesion molecules, VCAM-1, NIHSS, biomarker, mortality

3 **Introduction**

4 Stroke is the world's second-leading cause of death and the third-leading cause of death
5 and disability combined, and ischemic stroke (IS) is the most common type of stroke (FEIGIN
6 et al., 2021). Clinical ratings, imaging and laboratory testing have all been studied as potential
7 biomarkers for predicting short-term prognosis and mortality in patients with acute IS
8 (LEHMANN et al., 2021a; MARTA-ENGUITA et al., 2021; REICHE et al., 2019; LEHMANN
9 et al., 2015).

10 The National Institutes of Health Stroke Scale (NIHSS) is used to measure the severity
11 of neurologic deficits and track the clinical evolution of the patient with stroke (BROTT et al.,
12 1989). NIHSS evaluates 15 items in a neurological examination: eye movements, visual fields,
13 motor and sensory deficits, ataxia, speech, cognition, and inattention. Patients are scored from
14 zero (no deficit) to 42 (highest deficit) at the conclusion (BROTT et al., 1989). Previous studies
15 have indicated that NIHSS scores associated or not with other markers may be useful to predict
16 functional prognosis and mortality after IS (CHEN et al., 2021; LEHMANN et al., 2021b;
17 OZKAN et al., 2013; SABER; SAVER, 2020; ZHAO et al., 2018).

18 Blood biomarkers independent of other clinical predictors can help define an applicable
19 laboratory predictor in prognostic scores (RICHARD et al., 2015). In the specific case of
20 atherothrombotic stroke, the nature of the biomarkers is expected to be inflammatory or lipid-
21 related because of their involvement in atherosclerosis (PUIG et al., 2020). An inflammatory
22 condition plays a vital role at all stages of the ischemic cascade, starting from the cessation of
23 flow to the late regenerative processes associated with the repair of ischemic tissues (PAULUK
24 et al., 2020).

25 With the transendothelial migration of leukocytes in the Blood Brain Barrier (BBB), the
26 expression of CAMs, inflammatory and anti-inflammatory molecules play a significant role in
27 pathophysiology and the development and prognosis of ischemia damage in acute IS
28 (LEHMANN et al., 2021; RICHARD et al., 2015; SUPANC et al., 2011). One of the most
29 essential CAMs is vascular cell adhesion molecule 1 (VCAM-1). VCAM-1 is a glycoprotein
30 found on the surface of cells of the endothelium and is also available in a soluble form (sVCAM-
31 1), which is the result of the ectodomain of VCAM-1 being released. VCAM-1 is involved in
32 the recruitment of inflammatory cells and consequently the development of atherosclerotic
33 plaques. Its levels are upregulated by interleukin (IL)-1 β , tumor necrosis factor (TNF)- α and
34 reactive oxygen species (ROS) (GHAISAS et al., 1997; SINGH et al., 2005; LIN et al., 2015;

1 COOK-MILLS et al., 2011). Previous studies have reported that sVCAM-1 is a predictor of
2 cardiovascular events, such as heart attacks and IS (DE LEMOS et al., 2000; MULVIHILL et
3 al., 2001; HAYEK et al., 2021). Studies have shown that apart from E-selectin and P-selectin,
4 the soluble intercellular adhesion molecule 1 (sICAM-1) and sVCAM-1 concentrations are
5 increased in IS patients (FRIJNS and KAPPELLE, 2002), although the results are contradictory.
6 Elevated concentrations of sVCAM-1 were observed in three (FASSBENDER et al., 1995;
7 BITSCH et al., 1998; BLANN et al., 1999) of four studies (FRIJNS et al., 1997; FASSBENDER
8 et al., 1995; BITSCH et al., 1998; BLANN et al., 1999).

9 The clinical relevance of confirming the role of CAMs in the prognosis of IS, might be
10 their useful as indicators and therapeutic targets in patients with IS (LEHMANN et al., 2021;
11 PATEL et al., 2020; RAMIRO et al., 2018; RICHARD et al., 2015; SUPANC et al., 2011). IS
12 biomarkers of high specificity and sensitivity should be able to diagnose and differentiate
13 between intracerebral hemorrhage (ICH) and acute IS, to predict prognosis after IS and to
14 facilitate patient stratification for therapeutic intervention (HASAN et al., 2012).

15 In ischemia and hypoxia, ICAM-1 and VCAM-1 have been extensively studied. ICAM-
16 1 levels were significantly increased in the brain three hours after IS, peaked between six and
17 twelve hours, and remained elevated for five days (WANG and FEUERSTEIN, 1995). Whether
18 VCAM-1 levels are elevated after IS are still debatable (MA et al., 2013). While Blann et al.
19 (1999) found high expression of VCAM-1 by astrocytes and endothelial cells in the ischemic
20 area from the IS patients, Vemuganti et al (2004) showed that VCAM-1 mRNA expression was
21 never changed in the ipsilateral cortex between three and 72 hours after reperfusion.

22 Therefore, to clarify this issue, we investigated the association between plasma levels
23 of cell adhesion molecules (MACs) and risk factors, subtypes, severity and mortality of acute
24 IS, as well as to identify a panel of biomarkers to predict the short-term mortality after IS.

26 **Material and Methods**

27 *Subjects*

28 This study included 132 eligible participants of both sexes with acute neurological signs
29 or symptoms attributed to IS, confirmed by brain computed tomography and clinical
30 examination. The patients with IS were recruited at the emergency room of the University
31 Hospital, State University of Londrina in Londrina, Paraná, from January 2017 to January 2018.
32 The IS subtypes were classified according to the Trial of Org in 10172 Acute Stroke Treatment
33 (TOAST) criteria (ADAMS et al., 1993); the NIHSS was used to classify IS severity as mild
34 (NIHSS < 5), moderate (NIHSS 5–14), or severe (NIHSS ≥15) (BROTT et al., 1989). All the

1 patients were treated according to national standards for the treatment of IS (OLIVEIRA-
2 FILHO et al., 2012; BRASIL, 2013; MARTINS et al., 2012). After three months, patients or
3 their families were contacted via telephone (WANG et al., 2014), and the Modified Rankin
4 Scale (mRS) was used to assess the degree of disability in the IS patients. With this score, the
5 patients were classified as survivors (mRS<6) or non-survivors (mRS= 6) (PARK et al., 2015)

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

13 A clinical evaluation and a standard questionnaire were used to obtain demographic,
14 lifestyle, and medical data. Anthropometric measurements included weight and height as
15 reported by patients or their families. Body mass index (BMI) was determined using weight
16 (kg) divided by height (m) squared. Caucasian and non-Caucasian were self-reported. Baseline
17 systolic and diastolic blood pressures (SBP and DBP, respectively) were taken twice and the
18 mean of 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. Antihypertensive
20 medication use was also utilized to diagnose SAH (JAMES et al., 2014). Type 2 diabetes
21 mellitus (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 hypoglycemic drugs (AMERICAN DIABETES
23 ASSOCIATION PROFESSIONAL PRACTICE COMMITTEE, 2022). Dyslipidemia was
24 defined as the presence of one or more of the abnormal serum lipid concentrations: total
25 cholesterol > 200 mg/dL, low-density lipoprotein (LDL) cholesterol > 130 mg/dL, high-density
26 lipoprotein (HDL) cholesterol < 40 mg/dL, and triglycerides > 150 mg/dL. (NATIONAL
27 CHOLESTEROL EDUCATION PROGRAM, 2002).

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

32
33
34

1 *Laboratory markers*

2 Peripheral blood samples were collected in a vacuum collection tube without
3 anticoagulant and with ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) and sodium fluoride
4 anticoagulants within 24 hours of patient admission. After centrifugation for 10 minutes at 2500
5 rpm, serum and plasma samples were collected, aliquoted and kept at -80°C until use.

6 The immunofluorimetric approach with multiplex microsphere immunoassay (Novex
7 Life Technologies, Frederick, USA) was used to assess the plasma levels of IL-1 β , IL-2, IL-4,
8 IL-6, IL-10, IL-12p70, transforming growth factor (TGF)- β and TNF- α , as well as the plasma
9 levels of sICAM-1, sVCAM-1, soluble platelet endothelial cell adhesion molecule 1 (sPECAM-
10 1), soluble E-selectin (sE-selectin), and soluble P-selectin (sP-selectin) using the Luminex
11 platform on the MAGPIX® equipment (Luminex Corp., TX, USA).

12 Homocysteine was obtained by microparticle immunoassay with chemiluminescence,
13 while metabolic markers such as glucose and lipidogram were obtained by an automated
14 method.

15

16 *Statistical analysis*

17 Analyses of contingency tables checked the associations between categorical
18 variables and diagnostic groups. In parametric tests, the Kolmogorov–Smirnov test assesses
19 normality of distribution. The Mann-Whitney test was used for non-parametric data.
20 Logarithmic (Ln) transformation of continuous data was used in the analysis when the variables
21 were not normally distributed or when there was heterogeneity of variance as assessed with the
22 Levene test, and transformation in Z-score standardized and allowed comparison of disparate
23 distribution scores (Maes; Carvalho, 2018). For the analysis of cytokine results, two indexes,
24 with z scores, were proposed: inflammatory: z(IL)-1+ zIL-2+ zIL-6+, zIL-12p70, zIL-17A,
25 zIFN- γ , zTNF- α ; anti-inflammatory: zIL-4, zIL-10, zTGF- β . The values of NIHSS and
26 sVCAM-1 were also transformed as Z scores, and a composite score reflecting the NIHSS +
27 sVCAM-1 was computed.

28 We assessed the differences in continuous variables between groups using an analysis
29 of the Mann Whitney or Kruskal-Wallis test. Continuous variables were expressed as an
30 absolute number (n) and a percentage (%), while categorical variables were expressed as a
31 median and an interquartile range (IQR). The correlations between CAMs and clinical and
32 inflammatory variables were assessed using Spearman correlation coefficients. Multivariate
33 general linear model (GLM) analysis assessed the effects of explanatory variables on dependent
34 variables (sPECAM-1, sVCAM-1, sICAM-1, sE-Selectin, sP-Selectin) with sociodemographic,

1 clinical, and inflammatory data with independent variables. Tests for between-subject effects
2 assess the univariate effects of significant predictor variables on the dependent variables. Box's
3 M statistic was used to test for the homogeneity of covariance matrices.

4 The association between mortality after three-months of follow-up and CAMs with
5 significant association in univariate analysis was evaluated using the hierarchy method of
6 binary logistic regression analysis. After defining the association between NIHSS and CAMs
7 significantly obtained, Cox Regression with hierarchy methods was applied to evaluate the
8 survival rate. The predictors of mortality were assessed using the area under the receiver
9 operating characteristic (AUC/ROC) curve as our measure of discrimination, with Kernel
10 smoothing for optimizing the Youden-Index method. The AUC/ROC curve reflects the models'
11 ability to discriminate between those with survivors and those without. The positive predictive
12 value (PPV), negative predictive value (NPV), sensitivity, and specificity using combined
13 models were also determined. Moreover, the odds ratio (OR) and 95% confidence interval (CI)
14 were also determined. The non-parametric bootstrap method was used to simulate real-world
15 situations as well as validate the tests. From the data obtained from the present study, we
16 randomly generated 500 bootstrap samples of the same size, obtained by resampling and
17 replacement of each sample, for the validation test. Statistical analyses were performed using
18 Environment R (R Development Core Team 2020).

19 20 **Results**

21 22 *Sociodemographic and clinical data*

23 Table 1 shows the baseline demographic and clinical characteristics of IS patients who
24 were measured according to three-month outcome mortality. This study enrolled a total of 132
25 participants who were eligible. The median age (IQR) for the group was 66.8 years (56.0-75.5).
26 There were 62 men (47.0%) and 70 women (53.0%) in the sample. In terms of ethnicity, 88
27 (66.7%) self-declared as Caucasian, 42 (31.8%) non-Caucasian and 2 (1.5%) did not present
28 this record. There were 93 (70.4%) patients with SAH, 38 (28.8%) with T2DM, 58 (43.9%)
29 with dyslipidemia, and 26 (19.7%) who were current smokers. The median BMI was 27.1 (24.1-
30 30.1). According to TOAST criteria, the IS subtypes were large-artery atherosclerosis stroke
31 (LAAS) in 38 (29.2%), cardioembolism (CEI) in 32 (24.6%), lacunar (LAC) in 33 (25.4%),
32 other determined etiology (ODE) in 7 (5.4%), and undetermined etiology (UDE) in 20 (15.4%)
33 patients. Twenty-nine (21.9%) of the 132 patients who were followed up on three months
34 following their study admission did not survive (Table 1).

1 In the univariate analysis, the non-survivors were older ($p=0.001$) than the survivors.
 2 There was no significant difference between the subgroups in terms of sex, ethnicity, BMI,
 3 current smoking, SAH, T2DM, or dyslipidemia, and TOAST subtype ($p>0.05$). On admission,
 4 the NIHSS score ranged from 0 to 24, and survivors had a lower NIHSS score, with a median
 5 (IQR) of 6.0 (3.0–12.0), compared to non-survivors, who had a median of 19.0 (12.0–22.5) (p
 6 <0.001). Regarding the CAMs, sVCAM-1 levels were found to be substantially linked with
 7 mortality, with non-survivors having greater levels than survivors ($p=0.001$). Other CAMs,
 8 including sPECAM-1, sICAM-1, sE-selectin, and sP-selectin, were not associated with short-
 9 term mortality ($p>0.05$). Moreover, the index anti-inflammatory and inflammatory were not
 10 associated with this outcome.

11 *Effects of variables on cell adhesion molecules*

12 Table 2 shows the results of a multivariate GLM analysis with sICAM-1, sVCAM-1,
 13 sPECAM-1, sP-Selectin, and sE-Selectin as dependent variables and sociodemographic,
 14 comorbidity, and inflammatory and anti-inflammatory biomarkers as explanatory variables. All
 15 CAMs (z score transformed) presented equality of variances by Levene's error test ($p>0.05$)
 16 and the GLM showed equality of variances by test of covariance matrices ($p=0.160$). The partial
 17 eta squared (R^2) statistic was used to determine the magnitude of the effect of various variables
 18 in the model. When sICAM-1, sVCAM-1, sPECAM, sP-selectin, and sE-selectin were
 19 combined as dependent variables, the explanatory variables age, current smoking and anti-
 20 inflammatory index biomarkers exerted significant and strong effect of 24.4%, 25.1%, and
 21 24.0%, respectively, in the variation of these molecules. The effects of T2DM, dyslipidemia,
 22 homocysteine, and inflammatory biomarkers were mild. When these CAMs were evaluated
 23 individually, age and homocysteine had a mild effect on the sVCAM-1 levels (14.2% and
 24 10.0%, respectively) and age, smoking, dyslipidemia, inflammatory and anti-inflammatory
 25 biomarkers all exerted a moderate effect on sPECAM-1 levels.

26 *Cell adhesion molecules according to TOAST*

27
 28 Serum levels of sPECAM-1, sICAM-1, sP-Selectin, and sE-Selectin did not differ
 29 according to the TOAST subtype ($p>0.05$) (data not shown). On the other hand, sVCAM-1
 30 levels were associated with TOAST ($p=0.016$), with the LAAS subtype having higher serum
 31 levels when compared to the LAC ($p=0.011$) and ODE ($p=0.009$) (Figure 1). When the CAMs
 32 were analyzed in a dichotomized group, LAAS *versus* non-LAAS, the LAAS subtype was
 33

1 associated with higher levels of sVCAM-1 ($p=0.022$) when compared to the non-LAAS.
2 However, after adjusting by age, this association did not remain significant ($p > 0.05$).

3 4 *Cell adhesion molecules and mortality*

5 The levels of sVCAM-1 were positively correlated with age ($r=0.418$, $p<0.001$),
6 homocysteine ($r=0.276$, $p=0.004$), NIHSS ($r=0.284$, $p=0.011$), and mRS ($r=0.280$, $p=0.007$).
7 Patients with higher levels of sVCAM-1 had high severity on admission, as well as higher
8 disability and mortality at the three-month follow-up (Figure 2).

9 In order to evaluate the sVCAM-1 as a predictor of three-month mortality, logistic
10 regression analysis with the hierarchical method and confirmed stepwise method was
11 performed (Table 3). In the first model, merely NIHSS was analyzed and showed an OR of
12 5.284 (95% CI: 2.616-10.671, $p<0.001$) and explained 44.8% of outcome, with correctly
13 classified 87.5% of cases ($\chi^2=35.915$, $p<0.001$). As at #1 model, the objective of #2 model was
14 to evaluate the effect of only sVCAM-1 and the results showed an OR of 2.206 (95% CI: 1.363-
15 3.572, $p=0.001$) and explained 16.3% of outcome, with correctly classified 78.0% of cases
16 ($\chi^2=12.401$, $p<0.001$). In the #3 model, we observed that sVCAM-1 has a significant effect in
17 the first model (Block: $\chi^2=10.189$ $p=0.001$, Model: $\chi^2=46.104$, $p<0.001$). Together, sVCAM-1
18 and NIHSS explained 54.9% of the outcomes and correctly classified 86.5% of cases. In the #4
19 model, we added age and homocysteine variables in two blocks to evaluate the importance of
20 these variables in this regression model. However, both showed no contribution to the
21 prediction of three-month mortality ($\chi^2=0.366$, $p=0.545$ and $\chi^2=0.737$, $p=0.391$, respectively).

22 In the Cox regression analysis, hierarchical regression models confirmed the association
23 of NIHSS and sVCAM-1 with mortality after three-months of follow-up. In the #1 and #2
24 models, higher NIHSS (OR: 3.138, 95% CI: 2.165-4.548, $p<0.001$) and higher serum sVCAM-
25 1 levels (OR: 1.683, 95%CI: 1.277-2.216 ($p<0.001$)) were shown to be associated with mortality.
26 In the #3 regression model, there was a significant effect of sVCAM-1 with the model just with
27 NIHSS ($\chi^2=7.49$, $p=0.005$); together, these variables showed a concordance of 0.860. When age
28 was added to the model, no effect was obtained ($\chi^2=0.005$, $p=0.941$) (Table 4).

29 Further, the non-parametric bootstrapping method was used to simulate real-world
30 situations as well as to validate these results. NIHSS and sVCAM-1 did not have a normal
31 distribution; therefore, we assessed the robust cut-off of short-term mortality using the method
32 of Kernel smoothing for optimizing the Youden-Index and the 95% CI was calculated with 500
33 bootstrapping. The optimal cut-off values for predicting the three-month mortality for NIHSS
34 and sVCAM-1 were 12.298 and 389.60 ng/L, respectively. The combination of both variables

1 showed significant differences in the ROC, as well as PPV and PNV for mortality outcome.
2 The NIHSS and sVCAM-1 single models performed not as well [AUC of 0.723 (95% CI: 0.581-
3 0.821) for NIHSS and AUC of 0.844 (95% CI: 0.732- 0.91) for sVCAM-1] than the combined
4 model with NIHSS and sVCAM-1 (AUC of 0.8841, 95% CI: 0.795-0.941). NIHSS was showed
5 as a potential biomarker to predict mortality in IS patients, with a PPV and NPV of 0.4651
6 (46.5%) and 0.9047 (90.5%), respectively. In addition, sVCAM-1 is another potential
7 biomarker to predict mortality in these patients, with a PPV and NPV of 0.487 (48.7%) and
8 0.876 (87.6%), respectively. Moreover, when both biomarkers were analyzed in a combined
9 model, the PPV and NPV were 0.68 (68.0%) and 0.9135 (91.3%), respectively (Table 5).

10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34

1 **Table 1** Characteristics of patients with acute ischemic stroke according to short-term
 2 mortality attended at the University Hospital, Southern Brazil

Characteristics	Survivors (n=103)	Non-Survivors (n=29)	df	p value
Age (years)	66.0 (55.0-75.0)	73.0 (67.0-81.0)	1/132	0.001
Sex			1/132	
Male	46 (44.7)	16 (55.2)	1	0.316
Female	57 (55.3)	13 (44.8)		
Ethnicity			1/130	
Caucasian	67 (65.7)	21 (75.0)	1	0.351
Non-Caucasian	35 (34.3)	7 (25.0)		
Body mass index (kg/m ²)	26.8 (24.4-30.1)	26.1 (22.8-30.4)	1/108	0.597
Current smoking	19 (20.7)	7 (25.0)	1/120	0.625
SAH	73 (73.0)	20 (71.4)	1/128	0.953
T2DM	33 (33.0)	5 (17.9)	1/128	0.121
Dyslipidemia	46 (46.0)	12 (42.9)	1/128	0.768
Antihypertensive use	73 (73.0)	18 (64.3)	1/128	0.369
Antidiabetic drug use	20 (20.2)	5 (17.9)	1/127	0.783
Lipid-lowering use	35 (35.0)	10 (37.7)	1/128	0.944
Antiaggregating use	33 (33.0)	12 (42.9)	1/128	0.334
NIHSS Median (IQR)	6.0 (3.0-12.0)	19.0 (12.0-22.5)	1/127	<0.001
Minimum-Maximum	0-24	4-32		
IS subtypes (TOAST)			4/130	0.472
LAAS	29 (28.4)	9 (32.1)		
Cardioembolic	23 (22.5)	9 (32.1)		
Lacunar	28 (27.5)	5 (17.9)		
Other determined etiology	6 (5.9)	1 (3.6)		
Undetermined etiology	16 (15.7)	4 (14.3)		
Cell adhesion molecules			1/109	
sPECAM-1 (ng/mL)	14.16 (11,48-17,018)	14.00 (11.69-15.99)		0.746
sICAM-1 (ng/mL)	44.69 (24.47-147.07)	29.54 (24.31-596.06)		0.303

sVCAM-1 (ng/mL)	325.32 (275.25-381.96)	421.69 (97.89-708.06)		0.001
sE-Selectin (ng/mL)	49.27 (36.87-70.05)	60.87 (36.36-70.80)		0.614
sP-Selectin (ng/mL)	48.65 (36.61-67.34)	50145 (41.49-70.21)		0.629
zInflammatory index	-0.89 (-4.06-4.01)	0.73 (-0.02-5.22)	1/106	0.091
zAnti-inflammatory index	0.22 (-2.0-1.17)	0.61 (-0.65-2.55)	1/104	0.352

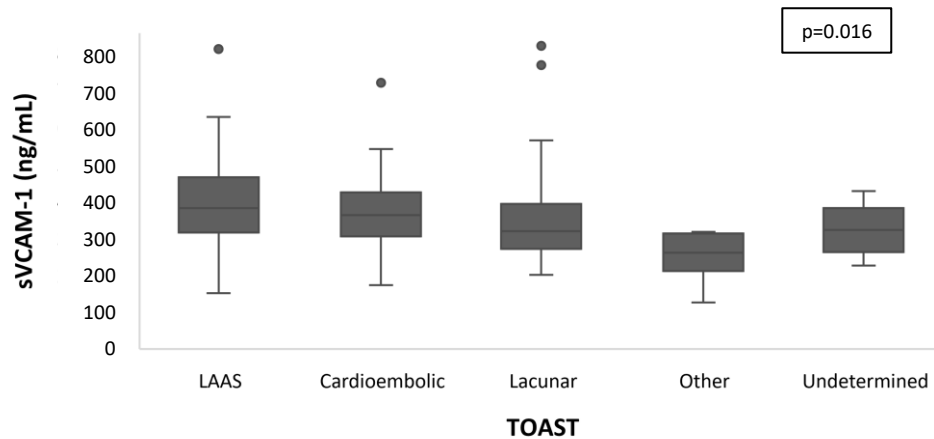
1 The continuous variables were expressed as median and 25%-75% interquartile range (IQR);
2 the categorical variables were expressed as number (n) and percentage (%). df: degrees of
3 freedom; IS: acute ischemic stroke; T2DM: type 2 diabetes mellitus; NIHSS: National Institute
4 of Health Stroke Scale; mRS: modified Rankin Scale; mRS <3: mild functional impairment;
5 mRS ≥3: moderate/severe functional impairment; TOAST: Trial of Org in 10172 Acute Stroke
6 Treatment; LAAS: Large artery atherosclerosis stroke; sPECAM-1: soluble platelet endothelial
7 cell adhesion molecule-1; sICAM-1: soluble intercellular adhesion molecule-1; sVCAM-1:
8 soluble vascular cell adhesion molecule-1.
9 zInflammatory: interleukin z(IL)-1+ zIL-2+ zIL-6+, zIL-12p70, zIL-17A, zIFN-γ, zTNF-α.
10 zAnti-inflammatory: interleukin zIL-4, zIL-10, zTGF-β.

11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36

1 **Table 2** Results of multivariate general linear model (GLM) analysis with cell adhesion
 2 molecules as dependent variables and demographic and clinical characteristics as explanatory
 3 variables

Dependent variable	Explanatory variables	df	F	p value	Eta partial square
sICAM-1	Age	5/76	4.587	0.001	0.244
sVCAM-1	Sex	5/76	1.132	0.352	-
sPECAM	BMI	5/76	0.535	0.749	-
sP-Selectin	Current Smoking	5/76	4.785	0.001	0.251
sE-Selectin	Hypertension	5/76	0.416	0.836	-
	T2DM	5/76	2.104	0.088	0.126
	Dyslipidemia	5/76	3.088	0.014	0.179
	Homocysteine	5/76	2.372	0.048	0.143
	Inflammatory	5/76	1.979	0.096	0.119
	Anti-inflammatory	5/76	4.483	0.001	0.240
sICAM-1	Anti-inflammatory (-)	1/89	3.722	0.057	0.047
sVCAM-1	Age (+)	1/89	12.396	0.001	0.142
	Homocysteine (+)	1/89	9.089	0.004	0.108
sPECAM-1	Age (+)	1/89	7.879	0.006	0.095
	Smoking (+)	1/89	9.353	0.003	0.108
	T2DM (+)	1/89	6.186	0.0150	0.076
	Dyslipidemia (-)	1/89	13.313	<0.001	0.151
	Inflammatory (+)	1/89	6.930	0.010	0.085
	Anti-Inflammatory (-)	1/89	9.127	0.003	0.108
sP-Selectin	Smoking (+)	1/89	5.052	0.028	0.063
sE-Selectin	T2DM (+)	1/89	7.017	0.010	0.086

4 df: Degrees of freedom; BMI: Body mass index; T2DM: type 2 diabetes mellitus; sPECAM-
 5 1: soluble platelet endothelial cell adhesion molecule-1; sICAM-1: soluble intercellular
 6 adhesion molecule-1; sVCAM-1: soluble vascular cell adhesion molecule-1; Inflammatory:
 7 interleukin (IL)-1 β , IL-2, IL-6, IL-12p70, IL-17A, Tumor necrosis factor (TNF)- α , Interferon
 8 (IFN)- γ ; Anti-inflammatory: IL-4, IL-10, transforming growth factor beta (TGF)- β . The use
 9 of anti-hypertensive, hypoglycemic and lipid-lowering drugs did not alter the results (data not
 10 shown). All dependent variables presented equality of variances ($p>0.05$) (Levene test).
 11
 12
 13



3
4 **Figure 1** sVCAM-1 serum levels according to the ischemic stroke TOAST subtypes. Box-plots
5 depict the median and interquartile range (IQR) of each group.

6 Error bars represent limits intervals. Statistically significant differences were observed between
7 the LAAS and Lacunar ($p=0.011$) and Other determined etiology ($p=0.009$).

8 sVCAM-1: soluble vascular cell adhesion molecule-1; TOAST: Trial of Org in 10172 Acute
9 Stroke Treatment; LAAS: Large artery atherosclerosis stroke; Other: other determined
10 etiology; Undetermined: Undetermined etiology

11
12
13
14
15
16
17

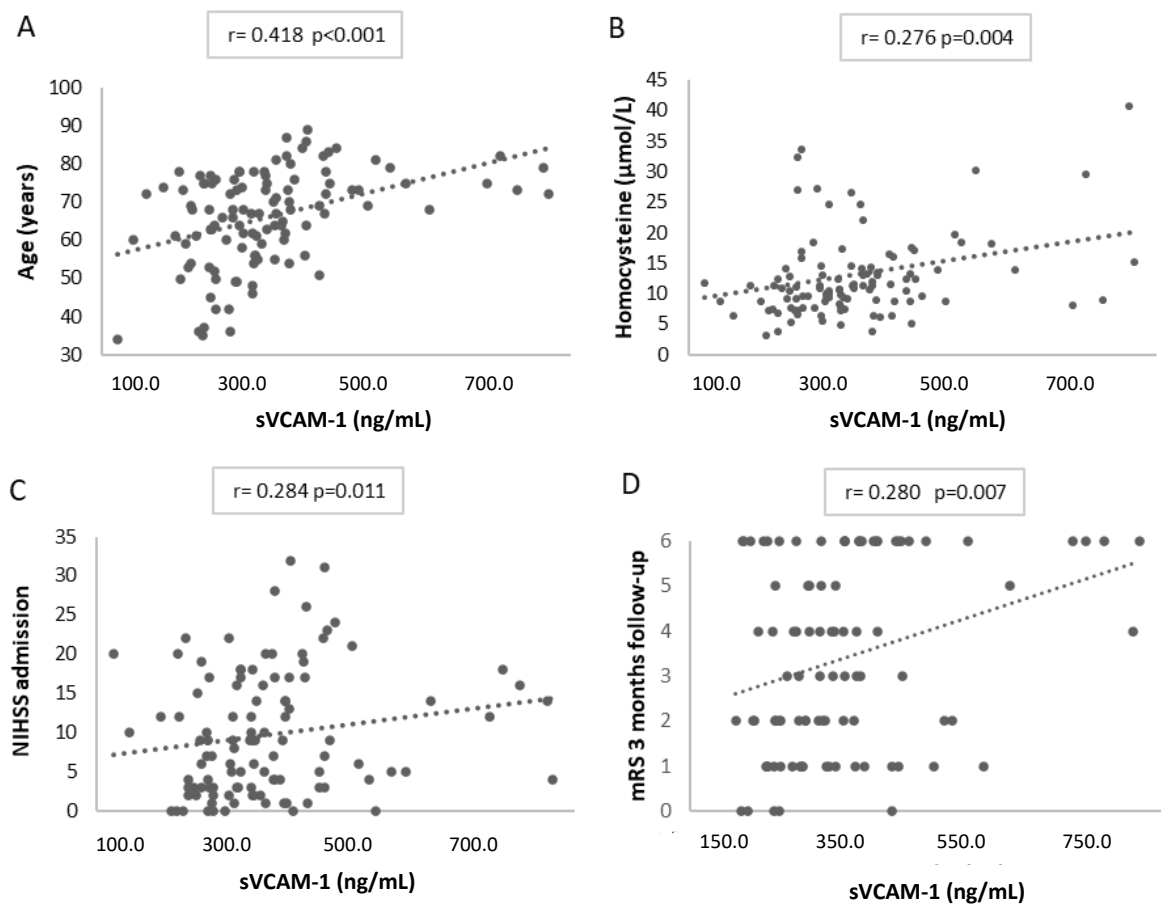


Figure 2 Correlation between sVCAM-1 with age (A), homocysteine (B), NIHSS at admission (C) and functional impairment (mRS) three-months follow up.

sVCAM-1: soluble vascular cell adhesion molecule-1; NIHSS: National Institute of Health Stroke Scale; mRS: modified Rankin Scale.

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23

1 **Table 3** Models of logistic regression analysis with mortality three-months follow up
 2 outcome as dependent variable in patients with acute ischemic stroke

Model	Significant explanatory variables	B	Wald	df	P value	OR	95% CI	R ² Nagelkerke
#1	zNIHSS	1.665	21.541	1	<0.001	5.284	2.616-10.671	0.448
#2	zsVCAM-1	0.791	10.358	1	0.001	2.206	1.363-3.572	0.163
#3	zNIHSS	1.718	18.959	1	<0.001	5.573	2.572-12.075	0.549
	zsVCAM-1	0.875	8.499	1	0.004	2.355	1.324-4.189	
#4	zNIHSS	1.720	17.362	1	<0.001	5.583	2.486-12.537	0.550
	zsVCAM-1	0.859	6.665	1	0.010	2.361	1.230-4.532	
	zAge	0.250	0.350	1	0.554	1.284	0.333-1.551	
	zHcy	- 0.330	0.707	1	0.400	0.719	0.333-1.551	

3 All variables were analyzed in z score (normalized). sVCAM-1: soluble vascular cell adhesion
 4 molecule 1; OR: Odds Ratio; CI: confidence interval; NIHSS: National Institute of Health
 5 Stroke Scale; Hcy: homocysteine;

6 Model #1: Omnibus test ($X^2=35.915$, df 1, $p<0,001$); sensitivity=96.3%; specificity=56.5;
 7 %=87.5;

8 Model #2: Omnibus test ($X^2=35.915$, df 1, $p<0,001$); sensitivity=96.3%; specificity=16.0;
 9 %=78.0;

10 Model #3: Omnibus test ($X^2=46.104$, df 2, $p<0,001$); sensitivity=96.4%; specificity=56.5;
 11 %=87.5;

12 Model #4: Omnibus test ($X^2=47.205$, df 4, $p<0,001$); sensitivity=95.1%; specificity=56.5;
 13 %=86.0.

14
 15
 16
 17
 18
 19
 20
 21
 22
 23
 24
 25
 26
 27
 28

1 **Table 4** Cox Regression analysis with mortality three-months follow up outcome as dependent
 2 variable in patients with acute ischemic stroke

Regression	Significant explanatory variables	B	Wald	<i>P</i> value	OR	95% CI	Concordance
#1	zNIHSS	1.143	36.460	<0.001	3.138	2.165-4.548	0.808
#2	zsVCAM-1	1.6826	13.700	<0.001	1.683	1.277-2.216	0.702
#3	zNIHSS	1.216	32.896	<0.001	3.376	2.230 -5.112	0.860
	zsVCAM-1	0.484	9.079	0.002	1.624	1.185- 2.225	
#4	zNIHSS	1.209	27.94	<0.001	3.357	2.144-5.254	0.861
	zsVCAM-1	0.477	6.930	0.008	1.615	1.132-2.303	
	zAge	0.022	0.005	0.941	1.020	0.572-1.826	

3 All variables were analyzed in z score (normalized); sVCAM-1: soluble vascular cell adhesion
 4 molecule 1; OR: Odds Ratio; CI: confidence interval; NIHSS: National Institute of Health
 5 Stroke Scale

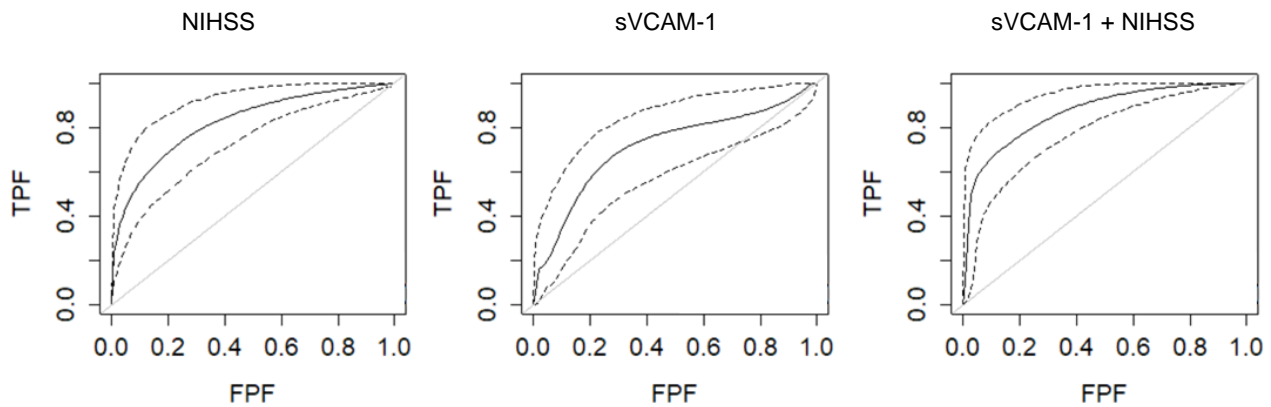
6
 7
 8
 9
 10
 11
 12
 13
 14
 15
 16
 17
 18
 19
 20
 21
 22
 23
 24
 25
 26

1 **Table 5** Analysis of cutoff for short-term mortality using Kernel smoothing test for optimizing
 2 Youden-Index in patients with acute ischemic stroke

3

	Non- survivor/ Survivor	Cutoff	AUC	Sensiti vity	Especifi city	TP	FN	FP	TN
sVCAM-1 (ng/mL)	25/84	389.60	0.7233	0.6785	0.7619	19	9	20	64
NIHSS	28/99	12.298	0.844	0.7143	0.7677	20	8	23	76
zNIHSS+ zsVCAM-1	24/82	0.7948	0.8841	0.7083	0.9024	17	7	8	74

4 All variables were analyzed in z score (normalized).
 5 NIHSS: National Institute of Health Stroke Scale; sVCAM-1: soluble vascular cell adhesion
 6 molecule-1. AUC: area under curve – Youden Kernel smoothing test



10
11
12
13 **Figure 3** Receiver operating characteristic (ROC) curve to distinguish patients with acute
 14 ischemic stroke who survived from those who non-survived. A) using the National Institute of
 15 Health Scale Score (NIHSS) with area under curve (AUC) of 0.844; B) using serum levels of
 16 soluble vascular cell adhesion molecule 1 (sVCAM-1) with AUC of 0.7233; and C) using both
 17 sVCAM-1 and NIHSS with AUC of 0.8841.

18
19
20

1 Discussion

2 The main finding of the present study is that both biomarkers (NIHSS and sVCAM-1)
3 obtained within 24 hours of a patient's hospital admission and diagnosed with IS performed
4 well in predicting short-term mortality. When used together, these two biomarkers correctly
5 classified 88.4% of the IS patients regarding their short-term mortality. This study highlights
6 the role of NIHSS and sVCAM-1 in the prediction of mortality following the IS.

7 The application of the NIHSS is well-established in the literature and in IS therapy
8 guidelines. It's even used as a criterion for deciding on reperfusion therapy and monitoring the
9 patient's progress (POWERS, 2020). Previous research indicates that NIHSS scores, whether
10 or not they are related to other indicators, may be effective in predicting functional prognosis
11 and death following stroke (CHEN et al., 2021; OZKAN et al., 2013; SABER; SAVER, 2020;
12 ZHAO et al., 2018; LEHMANN et al. 2021b). According to Lehman et al. (2021b), high NIHSS
13 readings at admission strongly predict short-term functional impairment as well as mortality
14 three months after IS.

15 Given the close pathophysiological relationship between neuroinflammatory mediators
16 and processes related to poor outcome in IS, the role of molecules that are part of different
17 inflammatory pathways, such as acute phase proteins, pro-inflammatory and anti-inflammatory
18 cytokines, and endothelial dysfunction as prognostic biomarkers of IS may be expected. CAMs
19 play a key role in leukocyte infiltration into active endothelia and their expression increases
20 after ischemic injury. CAMs mediate the molecular interactions between endothelium and
21 leukocytes: rolling, adherence, and transendothelial migration of leukocytes that are required
22 for these cells to pass through the BBB and reach the ischemic brain (KRIEGLSTEIN;
23 GRANGER, 2001; RAMIRO et al., 2018; YANG et al., 2019). The immunoglobulin gene
24 superfamily (ICAM-1 and 2, VCAM-1, and PECAM-1), selectins (E-, P-, and L-selectin), and
25 integrins are types of CAMs. These molecules have been investigated as biomarkers and
26 treatment targets for IS (KRIEGLSTEIN; GRANGER, 2001; RAMIRO et al., 2018; YANG et
27 al., 2019).

28 VCAM-1 is a protein expressed on the surface of endothelial cells. Its expression is
29 minimal on unstimulated endothelium but is upregulated by a number of pro-inflammatory
30 cytokines, such as IL-1 β and TNF- α . The adherence of lymphocytes and monocytes in inflamed
31 vascular beds is mediated by the VCAM-1 (KRIEGLSTEIN; GRANGER, 2001; RAMIRO et
32 al., 2018; YANG et al., 2019).

33 Previous research indicates that factors such as age and smoking influence VCAM-1
34 levels. Cavusoglu et al. (2004) found levels of soluble VCAM-1 (sVCAM-1) in smokers are

1 substantially higher than in nonsmokers. Smoking possibly causes an increase in sVCAM-1,
2 which could be another mechanism for cigarette smoking's negative effects on the
3 atherosclerotic process and its consequences.

4 Regarding the positive effect of age on the sVCAM-1, our result is in agreement with
5 previous studies. Purschwitz et al. (2001) and Miles et al. (1997) reported an age-dependent
6 increase in sVCAM-1 and sICAM-1 in human subjects. During aging, accumulated ROS and
7 reactive nitrogen species (RNS) are accompanied with a decrease in total thiol contents, which
8 leads to a net increase in oxidative stress. Consequently, vascular endothelial cells induce
9 activation/dysfunction with increased levels of sE-selectin, sP-selectin, sVCAM-1, and
10 sICAM-1, contributing to increased incidence of vascular diseases during aging (ZOU et al.
11 2004). These authors showed that old animals exhibited the largest amounts of CAMs implying
12 an increased susceptibility and sensitivity to the inflammatory stimulus with age underscoring
13 the essential role that inflammation plays in age-related alterations of CAMs (ZOU et al., 2004).
14 On the other hand, Morisaki et al. (1997) showed that sVCAM-1 is positively correlated to age,
15 but not sICAM-1 and decreased levels of sE-selectin, sICAM-1, and sVCAM-1 with age were
16 suggested (NASH et al., 1996).

17 Other biomarkers that exert a role in the CAMs in the present study was homocysteine.
18 Homocysteine has also been studied as a factor that stimulates the expression of VCAM-1 and
19 affects the progression of atherosclerotic lesions. Silverman et al. (2002) demonstrated
20 increased adhesion of monocytes to VCAM-1-dependent endothelial cells after treatment of
21 aortic endothelial cells with homocysteine but without explaining the underlying mechanism.
22 Caluccio et al. (2007) demonstrated that homocysteine affects the expression of CAMs, mainly
23 VCAM-1, by increasing their gene expression. Our findings are in agreement with these studies
24 in which age, homocysteine, and smoking had an effect on CAMs, with age and homocysteine
25 correlated with sVCAM-1 levels.

26 The immunocytochemical study of brain tissue from patients who died of IS revealed
27 intense expression of VCAM-1 by endothelial cells and infarct astrocytes. (RAMIRO et al.,
28 2018; ZAREMBA; LOSY, 2002). When VCAM-1 levels were compared between IS patients
29 and controls, several authors found that the IS group had higher levels (BITSCH et al., 1998;
30 BLANN, 1999; LICATA et al., 2009; TUTTOLOMONDO et al., 2009). The increase in
31 sVCAM-1 was also observed by Blann et al. (1999) when compared healthy controls and
32 individuals with carotid atherosclerosis, and in Fassbender et al. (1995) when compared health
33 controls with individuals with vascular risk factors. It could be due to VCAM-1 upregulation
34 in the acute phase of IS, which does not occur in people who do not have ischemia. VCAM-1

1 levels remained elevated even after three months of follow-up according to Blann et al. (1999).
2 These findings suggest the possibility that these molecules are expressed in both the acute and
3 chronic phases of ischemic injury and that they play a role in both infarction and tissue repair.
4 Other study also showed that patients with IS had a persistent increase of sVCAM
5 (FASSBENDER et al., 1995).

6 According to Bistsch et al (1998), soluble CAMs levels demonstrated considerable
7 variability. In patients with completed IS (n=26) but not in patients with transient ischemic
8 attacks (n=12), sICAM-1 peaked within 24 hours, sVCAM-1 reached a maximum after 5 days,
9 and sE-selectin levels decreased after 5 days. These authors also showed that there was no clear-
10 cut correlation of soluble CAMs levels with infarct volume or clinical disability. Further, it was
11 demonstrated that IS was associated with increased plasma levels of sICAM-1, sVCAM-1 and
12 sE-selectin, independent of age, sex and other recognized risk factors for IS (SIMUNDIC et al.,
13 2004). In other study, sICAM-1 and sVCAM-1 levels were significantly higher in patients with
14 IS who died compared to those who survived; however, only sICAM-1 levels were
15 independently associated with early death, after adjusting for various confounding factors
16 (RALLIDIS et al., 2009).

17 Other researchers, on the other hand, did not detect the same association. Compared
18 with control subjects, sP-selectin and sE-selectin were significantly elevated in the acute stage
19 of IS, as well as in previously symptomatic carotid stenosis. However, sICAM-1 and sVCAM-
20 1 were not increased in these patients (FRIJNS et al.,1997).

21 Supanc et al. (2011) did not observe a significant difference between levels of sVCAM-
22 1 and sICAM-1 in patients and in controls, with marked biological interindividual variability
23 in all groups. Only levels of sVCAM-1 were significantly higher in patients with the CEI
24 subtype than in controls. Moreover, these authors found no significant correlation between the
25 levels of sVCAM-1 and sICAM-1 and IS severity and disability.

26 Regarding the association of CAMs with IS prognosis, our results are in agreement the
27 MITICO study which showed that patients with higher sVCAM-1 levels at admission had a
28 higher probability of IS recurrence than those with lower sVCAM-1 levels (CASTILLO et al.,
29 2009). In another investigation (RICHARD et al., 2015), high level of sVCAM-1 in the second
30 to third week after IS was associated with a worse prognosis after three months. Corroborating
31 our findings, the Cox regression analysis of the present study, hierarchical regression models
32 confirmed the association of NIHSS and sVCAM-1 with mortality after three-months of follow-
33 up, and patients with greater sVCAM-1 and NIHSS scores died earlier.

1 Licata et al. (2009) and Tuttololondo et al. (2009) found no difference between IS
2 subtypes in the TOAST classification despite evidence of higher sVCAM-1 levels in IS patients
3 compared to controls. In our study, when the CAMs were analyzed in a dichotomized group,
4 LAAS *versus* non-LAAS, the LAAS subtype was associated with higher levels of sVCAM-1
5 when compared to the non-LAAS. However, after adjusting by age, this association did not
6 remain significant. As a result, age is a more critical determinant for sVCAM-1 levels in our
7 study than the IS subtype.

8 After brain ischemia, there is an early and transient influx of polymorphonuclear cells
9 followed by a more sustained increase in mononuclear cells and T lymphocyte cells. All
10 leukocytes express β_2 integrins (CD11/CD18), which mediate binding to the endothelium
11 through interaction with ICAM-1, which is upregulated after IS. Lymphocytes and other
12 mononuclear cells also express the α_4 integrin named very late antigen-4 (VLA-4), which
13 adheres the cell to the endothelium through its interaction with VCAM-1(YILMAZ;
14 GRANGER, 2008). Moreover, VCAM-1 expression in the brain is induced after ischemia.
15 Thus, on the basis of what is known about expression of CAMs after IS, modulation of the
16 VCAM-1/VLA-4 interaction may be a reasonable approach for limiting the post ischemic
17 inflammatory response than blockade of other CAMs (BECKER et al., 2001)

18 The importance of VCAM-1 was also demonstrated by a recent review based on results
19 of protein-protein interaction network, enrichment, and annotation analyses. This study
20 indicates that both the immune response (as indicated by increased IL-6, IL-10, TNF- α , VCAM-
21 1, E-selectin, and CRP but lowered TGF- β 1 and albumin) and the activated hemostasis,
22 thrombosis and coagulation pathways (as indicated by increased Factor VIII, von Willebrand,
23 and fibrinogen but lowered protein C, Protein S, antithrombin, and albumin levels) are
24 intertwined phenomena leading to death from IS (MAES et a., 2021).

25 The main ligand of VCAM-1, the VLA-4, has been studied in the treatment of IS.
26 Preclinical, monoclonal-clinical studies on VLA-4 that reduce leukocyte infiltration, reduce
27 infarct volume, and improve stroke, though not in all animal models (BECKER et al., 2001;
28 LLOVERA et al., 2015). Researchers investigated the use of natalizumab, a monoclonal
29 antibody that targets the -4 integrin within VLA-4, in acute IS in the ACTION I and ACTION
30 II trials. However, there is no reduction in infarction volume, nor a better functional prognosis
31 (ELKIND et al., 2020; ELKINS et al., 2017).

32 The discrepancies in results between studies of sVCAM-1 and other CAMs in the IS
33 may be explained by the differences in patient inclusion and exclusion criteria, control group
34 definitions, time between IS ictus and sample collection, or laboratory methods. Some previous

1 studies (BITSCH et al., 1998; FRIJNS et al., 1997) determined the CAMs levels with enzyme
2 immunoassay (ELISA), a less sensitive method compared to immunofluorimetry which was
3 used in the present study. Our study excluded all patients with evidence of acute infections on
4 admission, chronic infections, in addition to autoimmune and auto-inflammatory diseases, and
5 the use of corticosteroids and immunosuppressive medications. As a result, the possibility of
6 the increase in sVCAM-1 being caused by other systemic inflammation and not by acute
7 ischemic brain injury was reduced.

8 The present study has some strengths and limitations. The evaluation of the role of
9 CAMs in IS patients from the Brazilian population is scarce and necessary; moreover, our study
10 proposed the evaluation of predictive models with combined biomarkers. However, the rigid
11 inclusion and exclusion criteria allowing an analysis with fewer confounding factors, limited
12 the number of samples. Also, the samples were collected in the first 24 hours of the emergency
13 room of the university hospital, making it difficult to collect all the data in a thorough way, but
14 an analysis of the levels in the most acute phase of the event.

15 Taken together, our results underscore the important role of CAMs in the
16 pathophysiology of IS and highlight the potential use of NIHSS and sVCAM-1 as possible
17 biomarkers of short-term mortality in IS patients. While systematic reviews of the role of blood
18 biomarkers in the diagnosis of IS show that we still cannot recommend these tests in clinical
19 practice, it is highly desirable that new studies be performed so that a faster diagnosis of IS may
20 be possible, even before reaching the hospital, through biological markers of cerebral ischemia
21 or inflammation (GAGLIARDI et al., 2005). Research on the role of the CAM in the
22 pathogenesis of IS should lead to potential predictor biomarkers as well as targets for
23 therapeutic strategies. Interventions that interfere with lymphocyte trafficking into brain and
24 activation of those lymphocytes may therefore be viable therapeutic options for limiting brain
25 injury after IS. Therefore, therapies aimed to reduce endothelial activation and specifically
26 VCAM-1 may be a potential strategy to prevent poor outcome after the IS.

28 **Acknowledgments**

29
30 Thanks to the Institutional Program for Scientific Initiation Scholarship (PIBIC) of the National
31 Council for Scientific and Technological Development (CNPq); Coordination for the
32 Improvement of Higher Level of Education Personnel (CAPES) of Brazilian Ministry of
33 Education: Finance Code 001; Araucaria Foundation, Paraná State, Brazil, Conv. 001/2017,

1 Call nº 09/2016, Protocol 47.396; Clinical and Laboratory Pathophysiology Postgraduate
2 Program, Health Sciences Center, State University of Londrina, Londrina, Paraná, Brazil;

5 **References**

7 ADAMS, H. P. et al. Classification of subtype of acute ischemic stroke. Definitions for use in
8 a multicenter clinical trial. TOAST. Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment. **Stroke**, v.
9 24, n. 1, p. 35–41, Jan. 1993. doi:10.1161/01.str.24.1.35.

11 AMERICAN DIABETES ASSOCIATION PROFESSIONAL PRACTICE COMMITTEE. 2.
12 Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes—2022.
13 **Diabetes Care**, v. 45, n. Supplement_1, p. S17–S38, 1 Jan. 2022. doi: 10.2337/dc22-S002.

15 BRASIL. Manual de Rotinas para atendimento ao AVC. Brasília: Editora Ministério da
16 Saúde. 2013.

18 BECKER, K. et al. Antibody to the 4 Integrin Decreases Infarct Size in Transient Focal
19 Cerebral Ischemia in Rats. **Stroke**, v. 32, n. 1, p. 206-211, Jan. 2000.
20 doi:10.1161/01.str.32.1.206.

22 BITSCH, A. et al. A Longitudinal Prospective Study of Soluble Adhesion Molecules in Acute
23 Stroke. **Stroke**, v. 29, p. 2129–2135, Oct. 1998. doi: 10.1161/01.str.29.10.2129.

25 BLANN, A., et al. Soluble intercellular adhesion molecule-1, E-selectin, vascular cell
26 adhesion molecule-1 and von Willebrand factor in stroke. **Blood Coagulation and**
27 **Fibrinolysis**, n. 10, n. 5, p. 277–284, Jul. 1999. doi: 10.1097/00001721-199907000-00009

29 BROTT, T. et al. Measurements of Acute Cerebral Infarction: A Clinical Examination Scale.
30 **Stroke**, v. 20, p. 864–70, Jul. 1989. doi: 10.1161/01.str.20.7.864.

32 CARLUCCIO, M. A. et al. Homocysteine induces VCAM-1 gene expression through NF-κB
33 and NAD(P)H oxidase activation: protective role of Mediterranean diet polyphenolic
34 antioxidants. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 293,
35 n. 4, p. H2344–H2354, Oct. 2007. doi: 10.1152/ajpheart.00432.2007.

37 CASTILLO, J. et al. Inflammation markers and prediction of post-stroke vascular disease
38 recurrence: The MITICO study. **Journal of Neurology**, v. 256, n. 2, p. 217–224, Feb.
39 2009. doi: 10.1007/s00415-009.

41 CHEN, L. et al. Value of Barthel, PLAN and NIHSS scores for predicting the death of
42 patients with acute ischemic stroke during their 5-year follow-up. **Journal of Clinical**
43 **Neuroscience**, v. 90, p. 94–98, Aug. 2021. doi: 10.1016/j.jocn.2021.05.049.

46 COOK-MILLS, J.M., et al. Vascular cell adhesion molecule-1 expression and signaling
47 during disease: regulation by reactive oxygen species and antioxidants. **Antioxidants &**
48 **Redox Signaling**, v. 15, p. 1607-1638, Sep. 2011. doi:10.1089/ars.2010.3522

- 1 DE LEMOS, J.A., et al. Plasma concentration of soluble vascular cell adhesion molecule-1
2 and subsequent cardiovascular risk. **Journal of American College of Cardiology**, v. 36, n. 2,
3 p. 423-426, Aug. 2000. doi.org/10.1016/S0735-1097(00)00742-7
4
- 5 ELKIND, M. S. V. et al. Natalizumab in acute ischemic stroke (ACTION II): A randomized,
6 placebo-controlled trial. **Neurology**, v. 95, n. 8, p. e1091–e1104, Aug. 2020.
7 doi: 10.1212/WNL.0000000000010038.
8
- 9 ELKINS, J. et al. Safety and efficacy of natalizumab in patients with acute ischaemic stroke
10 (ACTION): a randomised, placebo-controlled, double-blind phase 2 trial. **The Lancet**
11 **Neurology**, v. 16, n. 3, p. 217–226, Mar. 2017. doi: 10.1016/S1474-4422(16)30357-X.
12
- 13 FAHMI RM, ELSAID AF. Infarction size, interleukin-6, and their interaction are predictors
14 of short-term stroke outcome in young Egyptian adults. **Journal of Stroke and**
15 **Cerebrovascular Disease**, v. 25, p. 2475–2481, Oct. 2016.
16 doi:10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.
17
- 18 FASSBENDER, K.M. et al. Circulating selectin- and immunoglobulin-type adhesion
19 molecules in acute ischemic stroke. **Stroke**, v. 26, p.1361-1364. Aug. 1995.
20 doi: 10.1161/01.str.26.8.1361.
21
- 22 FEIGIN, V. L. et al. Global, regional, and national burden of stroke and its risk factors, 1990–
23 2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. **The Lancet**
24 **Neurology**, v. 20, n. 10, p. 795–820, Oct. 2021. doi: 10.1016/S1474-4422(21)00252-0.
25
- 26 FRIJNS, C.J.; KAPPELLE, L.J. Inflammatory cell adhesion molecules in ischemic
27 cerebrovascular disease. **Stroke**, v. 33, p. 2115–2122, Aug. 2002.
28 doi: 10.1161/01.str.0000021902.33129.69.
29
- 30 FRIJNS CJ, et al. Soluble adhesion molecules reflect endothelial cell activation in ischemic
31 stroke and in carotid atherosclerosis. **Stroke**, v. 28, p. 2214–2218, Nov.1997.
32 doi: 10.1161/01.str.28.11.2214.
33
- 34 GAGLIARDI RJ, et al. Abordagem da doença carotídea na fase aguda do Acidente Vascular
35 Cerebral - Opinião Nacional. **Arquivos de Neuropsiquiatria**, v. 63, n. 3A, p. 709-712, Sep.
36 2005. doi: 10.1590/s0004-282x2005000400032.
37
- 38 GHASISAS NK, et al. Elevated levels of circulating soluble adhesion molecules in peripheral
39 blood of patients with unstable angina. **American Journal of Cardiology**, v. 80, p. 617-619,
40 Sep. 1997. doi.org/10.1016/S0002-9149(97)00432-3
41
- 42 HAYEK A, et al. Kinetics and prognostic value of soluble VCAM-1 in ST-segment elevation
43 myocardial infarction patients. **Immunity, Inflammation and Disease**, v. 9 n. 2, p. 493-501,
44 Jun. 2021. doi:10.1002/iid3.409.
45
- 46 HASAN N, et al. Towards the identification of blood biomarkers for acute stroke in humans:
47 a comprehensive systematic review. **British Journal of Clinical Pharmacology**, v. 74, n. 2,
48 p. 230–240, Aug. 2012. doi: 10.1111/j.1365-2125.2012.04212.x.
49

- 1 JAMES PA, et al. 2014 Evidence-based guideline for the management of high blood pressure
2 in adults: report from the panel members appointed to the Eighth Joint National Committee
3 (JNC 8). **JAMA**, v. 311, n. 5, p. 507–520, Feb. 2014. doi:10.1001/jama.2013.284427
4
- 5 KRIEGLSTEIN, C. F.; GRANGER, D. N. Adhesion Molecules and Their Role in Vascular
6 Disease. **American Journal of Hypertension**, v. 14, n.6, Part 2, p. 445-545, Jun. 2001.
7 doi: 10.1016/s0895-7061(01)02069-6.
8
- 9 LEHMANN A.L.C.F., et al. Immune-inflammatory, coagulation, adhesion, and imaging
10 biomarkers combined in machine learning models improve the prediction of death 1 year after
11 ischemic stroke. **Clinical and Experimental Medicine**, p. 1-13, Feb. 2021a.
12 doi: 10.1007/s10238-021-00732-w.
13
- 14 LEHMANN, A.L.C.F. et al., Carotid intima media thickness measurements coupled
15 with stroke severity strongly predict short-term outcome in patients with acute ischemic
16 stroke: a machine learning study. **Metabolic Brain Disease**, v. 36, p. 1747–1761, Oct. 2021b.
17 doi: 10.1007/s11011-021-00784-7.
18
- 19 LEHMANN, M.F., et al. Inflammatory and metabolic markers and short-time outcome in
20 patients with acute ischemic stroke in relation to TOAST subtypes. **Metabolic Brain Disease**,
21 v. 30, p. 1417–1428, Dec. 2015. doi.org/10.1007/s11011-015-9731-8
22
- 23 LICATA, G. et al. Immuno-inflammatory activation in acute cardio-embolic strokes in
24 comparison with other subtypes of ischaemic stroke. **Thrombosis and Haemostasis**, v. 101,
25 n. 5, p. 929–937, May 2009.
26
- 27 LIN CC, et al. Tumor necrosis factor-alpha induces VCAM-1-mediated inflammation via c-
28 Src-dependent transactivation of EGF receptors in human cardiac fibroblasts. **Journal of**
29 **Biomedical Science**, v. 22, n. 53, Jul. 2015. doi.org/10.1186/s12929-015-0165-8
30
- 31 LLOVERA, G. et al. Results of a preclinical randomized controlled multicenter trial (pRCT):
32 Anti-CD49d treatment for acute brain ischemia. **Science Translational Medicine**, v. 7, n.
33 299, p. 299ra121, Aug 2015. doi: 10.1126/scitranslmed.aaa9853
34
- 35 MA Q, et al. Adhesion molecules in CNS disorders: biomarker and therapeutic targets. **CNS**
36 **& Neurological Disorders Drug Targets**, v. 12, n. 3, p. 392-404, May 2013.
37 doi:10.2174/1871527311312030012
38
- 39 MAES M, CARVALHO AF. The Compensatory Immune-Regulatory Reflex System (CIRS)
40 in Depression and Bipolar Disorder. **Molecular Neurobiology**, v. 55, p. 8885-8903, Dec.
41 2018. doi: 10.1007/s12035-018-1016-x
42
- 43 MAES, M. et al. New Drug Targets to Prevent Death Due to Stroke: A Review Based on
44 Results of Protein-Protein Interaction Network, Enrichment, and Annotation Analyses.
45 **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n.22, p. 12108, Nov. 2021. doi:
46 10.3390/ijms222212108
47
- 48 MARTA-ENGUIA, J. et al. Association of calprotectin with other inflammatory parameters
49 in the prediction of mortality for ischemic stroke. **Journal of Neuroinflammation**, v. 18, n.
50 3, p.1-13, Jan. 2021. doi.org/10.1186/s12974-020-02047-1

- 1 MARTINS, S.C.O., et al. Guidelines for acute ischemic stroke treatment-Part II: Stroke
2 treatment. **Arquivos de Neuropsiquiatria**, v. 70, n.11, p. 885-893, Nov. 2012. doi:
3 10.1590/s0004-282x2012001100012.
4
- 5 MARTINEZ, E., et al. Review of serum biomarkers in carotid atherosclerosis. **Journal of**
6 **Vascular Surgery**, v. 71, p. 329–341, Jan. 2020. doi: 10.1016/j.jvs.2019.04.488.
7
- 8 MILES, E. A., et al. Influence of age and dietary fish oil on plasma soluble adhesion molecule
9 concentrations. **Clinical Science**, v. 100, p. 91-100, Jan. 2001.
10
- 11 MORISAKI, N. New indices of ischemic heart disease and aging: studies on the serum levels
12 of soluble intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) and soluble vascular cell adhesion
13 molecule-1 (VCAM-1) in patients with hypercholesterolemia and ischemic heart disease.
14 **Atherosclerosis**, v. 131, n. 1, p. 43–48, May 1997. doi: 10.1016/s0021-9150(97)06083-8.
15
- 16 MULVIHILL NT, et al. Risk stratification in unstable angina and non-Q wave myocardial
17 infarction using soluble cell adhesion molecules. **Heart**, v. 85, p. 623-627, Jun. 2001.
18 doi.org:10.1136/heart.85.6.623
19
- 20 NASH, M. C., et al. Normal levels of soluble E-selectin, soluble intercellular adhesion
21 molecule-1 (sICAM-1), and soluble vascular cell adhesion molecule-1 (sVCAM-1) decrease
22 with age. **Clinical Experimental Immunology**, v. 103, p. 167-170, Jan. 1996. doi:
23 10.1046/j.1365-2249.1996.925616.x.
24
- 25 OLIVEIRA-FILHO, J., et al. Guidelines for acute ischemic stroke treatment-Part I. **Arquivos**
26 **de Neuropsiquiatria**, v. 70, n.8, p. 621-629, Aug. 2012. doi: 10.1590/s0004-
27 282x2012000800012.
28
- 29 OZKAN, A. et al. Can high-sensitivity c-reactive protein and ferritin predict functional
30 outcome in acute ischemic stroke? a prospective study. **Topics in Stroke Rehabilitation**, v.
31 20, n. 6, p. 528–536, Jan. 2013. doi: 10.1310/tsr2006-528.
32
- 33 PATEL, R.B., et al. Circulating Vascular Cell Adhesion Molecule-1 and Incident Heart
34 Failure: The Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). **Journal of the American**
35 **Heart Association**, v. 9, p.e019390, Nov. 2020. doi: 10.1161/jaha.120.019390
36
- 37 PARK, K. Y. et al. Serum Vitamin D Status as a Predictor of Prognosis in Patients with Acute
38 Ischemic Stroke. **Cerebrovascular Diseases**, v. 40, n. 1–2, p. 73–80, Aug. 2015.
39 doi: 10.1159/000434691.
40
- 41 PAWLUK H, et al. The Role of Selected Pro-Inflammatory Cytokines in Pathogenesis of
42 Ischemic Stroke. **Clinical Interventions in Aging**, v. 15, p. 469–484, Mar. 2020.
43 doi.org/10.2147/CIA.S233909.
44
- 45 POWERS, W. J. Acute Ischemic Stroke. **New England Journal of Medicine**, v. 383, n. 3, p.
46 252–260, Jul. 2020. doi: 10.1056/NEJMc1917030.
47
- 48 PUIG, N., et al., Search for Reliable Circulating Biomarkers to Predict Carotid Plaque
49 Vulnerability. **International Journal of Molecular Science**, v.21, n. 8236, p.-1-26, Nov.
50 2020. doi:10.3390/ijms21218236

- 1 RALLIDIS, L.S. et al. Elevated soluble intercellular adhesion molecule-1 levels are
2 associated with poor short-term prognosis in middle-aged patients with acute ischemic stroke.
3 **International Journal of Cardiology**, v. 132, p. 216–220, Feb. 2009.
4 doi: 10.1016/j.ijcard.2007.11.031.
5
- 6 RAMIRO, L. et al. Inflammatory molecules might become both biomarkers and therapeutic
7 targets for stroke management. **Therapeutic Advances in Neurological Disorders**, v. 11, p.
8 1–24, Aug. 2018. doi: 10.1177/1756286418789340
9
- 10 REICHE EM, et al. Immune-inflammatory, oxidative stress and biochemical biomarkers
11 predict short-term acute ischemic stroke death. **Metabolic Brain Disease**, v. 34, n. 3, p. 789-
12 804, Jun. 2019. doi: 10.1007/s11011-019-00403-6.
13
- 14 RICHARD, S. et al. E-selectin and vascular cell adhesion molecule-1 as biomarkers of 3-
15 month outcome in cerebrovascular diseases. **Journal of Inflammation**, v. 12, n. 61, p. 1-9,
16 Nov. 2015. doi: 10.1186/s12950-015-0106-z.
17
- 18 RODRÍGUEZ-YÁÑEZ M, CASTILLO J. Role of inflammatory markers in brain ischemia.
19 **Current Opinion in Neurology**, v. 21, n.3, p 353-357, Jun 2008.
20 doi: 10.1097/WCO.0b013e3282ffafbf
21
- 22 SABER, H.; SAVER, J. L. Distributional Validity and Prognostic Power of the National
23 Institutes of Health Stroke Scale in US Administrative Claims Data. **JAMA Neurology**, v.
24 77, n. 5, p. 606–612, May 2020. doi: 10.1001/jamaneurol.2019.5061.
25
- 26 SILVERMAN, M. D. et al. Homocysteine Upregulates Vascular Cell Adhesion Molecule-1
27 Expression in Cultured Human Aortic Endothelial Cells and Enhances Monocyte Adhesion.
28 **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 22, n. 4, p. 587–592, Apr. 2002.
29 doi: 10.1161/01.atv.0000014221.30108.08.
30
- 31 SIMUNDIC, A.M., et al. Soluble adhesion molecules in acute ischemic stroke. **Clinical and**
32 **Investigative Medicine**, v. 27, n. 2, p. 86-93, Apr. 2004.
33
- 34 SINGH R, et al. Cytokine stimulated vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1)
35 ectodomain release is regulated by TIMP-3. **Cardiovascular Research**, v. 67, p. 39-49, Jul.
36 2005. doi.org/10.1016/j.cardiores.2005.02.020
37
- 38 SUPANC V, et al. Role of cell adhesion molecules in acute ischemic stroke. **Annals of Saudi**
39 **Medicine**, n. 31, v. 4, p. 365-370, Jul./Aug. 2011. doi:10.4103/0256-4947.83217
40
- 41 THIRD REPORT OF THE NATIONAL CHOLESTEROL EDUCATION PROGRAM
42 (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in
43 Adults (Adult Treatment Panel III) final report. **Circulation**, v. 106, p.25, 3143-3421. Dec.
44 2002.
45
- 46 TUTTOLOMONDO, A. et al. Plasma levels of inflammatory and thrombotic/fibrinolytic
47 markers in acute ischemic strokes: Relationship with TOAST subtype, outcome and infarct
48 site. **Journal of Neuroimmunology**, v. 215, n. 1–2, p. 84–89, Out. 2009.
49 doi:10.1016/j.jneuroim.2009.06.019
50

1 TUTTOLOMONDO, A., et al. Inflammation in ischemic stroke subtypes. **Current**
2 **Pharmaceutical Design**, v. 18, p. 4289–4310, 2012. doi: 10.2174/138161212802481200.

3
4 VEMUGANTI, R., et al. Inhibition of intercellular adhesion molecule-1 protein expression by
5 antisense oligonucleotides is neuroprotective after transient middle cerebral artery occlusion
6 in rat. **Stroke**, v.35, n. 1, p. 179–184, Jan. 2004. doi: 10.1161/01.STR.0000106479.53235.3E

7
8 WANG, Y., et al., Prognostic Value of Serum 25-Hydroxyvitamin D in Patients with Stroke.
9 **Neurochemical Research**, v. 39, n. 7, p. 1332–1337, Jul. 2014. doi: 10.1007/s11064-014-
10 1316-0.

11
12 WANG X, FEUERSTEIN GZ. Induced expression of adhesion molecules following focal
13 brain ischemia. **Journal of Neurotrauma**, v. 12, n. 5, p. 825–832, Oct. 1995.
14 doi: 10.1089/neu.1995.12.825.

15
16 YANG C, et al. Neuroinflammatory mechanisms of blood-brain barrier damage in ischemic
17 stroke. American Journal of Physiology. **Cell Physiology**, v. 316, p. C135–C153, Feb. 2019.
18 doi:10.1152/ajpcell.00136.2018

19
20 ZAREMBA, J.; LOSY, J. Adhesion molecules of immunoglobulin gene superfamily in
21 stroke. **Folia Morphologica**, v. 61, n. 1, p. 1–6, 2002.

22
23 ZHAO, X. J. et al. Predictive values of CSS and NIHSS in the prognosis of patients with
24 acute cerebral infarction A comparative analysis. **Medicine (United States)**, v. 97, n. 39, Sep.
25 2018. doi: 10.1097/MD.00000000000012419.

26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47

6 CONCLUSÕES

O presente estudo permite as seguintes conclusões:

- Entre os 132 pacientes com AVCI avaliados, a maioria era do sexo feminino e os fatores de risco mais frequentes foram HAS, DMT2, dislipidemia e tabagismo. Vinte e nove (21,9%) dos 132 pacientes que foram acompanhados durante três meses após a admissão no estudo foram a óbito;
- Os não sobreviventes eram mais velhos que os sobreviventes, apresentavam maior gravidade na admissão avaliada pelo NIHSS e níveis mais elevados de sVCAM-1;
- Não houve diferença significativa entre os grupos quanto ao sexo, etnia, IMC, tabagismo atual, HAS, DMT2 ou dislipidemia;
- Os níveis de sVCAM-1 foram significativamente associados à mortalidade e subtipos de AVCI; pacientes com LAAS apresentaram níveis séricos mais elevados do que os pacientes com LAC e ODE; porém, após ajuste por idade essa diferença entre os subtipos perdeu significância, indicando possivelmente um papel mais relevante da idade sobre os subtipos de AVCI em si em comparação aos níveis de sVCAM-1;
- Os níveis séricos de outras CAMs, incluindo sPECAM-1, sICAM-1, sE-selectina e sP-selectina, não foram associados à mortalidade a curto prazo após o AVCI. Além disso, os biomarcadores anti-inflamatórios e inflamatórios não foram associados a esse desfecho clínico;
- Quando NIHSS e sVCAM-1 foram avaliadas em um modelo combinado mostraram um resultado melhor do que quando avaliados em modelos isolados para previsão de mortalidade de curto prazo, classificando corretamente 86,5% dos casos. Também, pacientes com maiores níveis de sVCAM1 e NIHSS tiveram maior taxa de mortalidade, corroborando tais achados.

Em conjunto, nossos resultados ressaltam o importante papel das CAMs na fisiopatologia do AVCI e destacam o papel potencial do NIHSS e sVCAM-1 como possíveis biomarcadores de mortalidade a curto prazo.

7 PERSPECTIVAS FUTURAS E CONSIDERAÇÕES FINAIS

Embora o AVCI seja importante causa de morbimortalidade em todo o mundo, ainda carecemos de biomarcadores que auxiliem na avaliação de prognóstico dos pacientes na fase aguda e que sejam preditores de maior gravidade e mortalidade.

Além disso, as terapêuticas específicas para o tratamento dos pacientes com AVCI, como as terapias de reperfusão com trombólise endovenosa e trombectomia mecânica, são limitadas pela janela terapêutica em torno de 4 horas após o evento isquêmico, bem como pelas contraindicações aos métodos e dificuldade de acesso em vários serviços de saúde. A análise das diferentes vias fisiopatológicas envolvidas nos mecanismos lesivos do AVCI, como a inflamação, anti-inflamação e disfunção endotelial, pode contribuir para a identificação de novos alvos terapêuticos e desenvolvimento de terapias que possam beneficiar os pacientes acometidos pelo AVCI de forma personalizada.

No presente estudo, tanto escores mais elevados de gravidade, avaliada pelo NIHSS, quanto níveis séricos mais elevados de sVCAM-1 na admissão dos pacientes mostraram-se preditores de maior mortalidade a curto-prazo nos pacientes com AVCI. E quando combinamos ambos biomarcadores em um modelo conseguimos classificar corretamente a maioria dos pacientes que diferiam no prognóstico a curto prazo após o evento isquêmico. Portanto, a combinação dos valores da NIHSS com os níveis séricos de sVCAM-1 pode ser útil na prática clínica como preditores de mortalidade a curto prazo após o AVCI. A NIHSS já recomendada como rotina no atendimento dos pacientes com AVCI, é de fácil aplicação por examinadores treinados e baixo custo. Os níveis de sVCAM-1 podem ser obtidos também precocemente e de forma rápida e confiável. Ambos, podem ser adotados na avaliação do paciente com AVCI mesmo no cenário de urgência e emergência.

Nosso estudo possui limitações a serem consideradas. Todas as amostras foram obtidas em um único serviço de saúde e, devido os rígidos critérios de inclusão e exclusão, o número de participantes foi limitado, dificultando a generalização dos resultados para outras populações. Além disso, uma única amostra de sangue periférico foi coletada nas primeiras 24 horas de atendimento ainda no pronto-socorro. A realização de estudos prospectivos em outras populações, com maior número amostral e com análise de amostras seriadas, poderá permitir uma análise da dinâmica dos biomarcadores ao longo do tempo para a confirmação de nossos resultados.

Por outro lado, são pontos fortes do nosso trabalho o critério rigoroso de inclusão e exclusão para minimizar a interferência de fatores confundidores, assim como o delineamento

1 longitudinal com acompanhamento de três meses após o AVCI, o que sugeriu inferir o papel
2 dos valores de NIHSS e sVCAM-1 como preditores da mortalidade a curto-prazo dos pacientes
3 avaliados.

4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34

1 **AGRADECIMENTOS**

2 O estudo teve apoio financeiro da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível
3 Superior (CAPES) do Ministério da Educação do Brasil: Código Financeiro 001; Programa
4 Institucional de Bolsa de Iniciação Científica (PIBIC) do Conselho Nacional de
5 Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq); e Fundação Araucária (Convênio
6 001/2017 – Chamada nº 09/2016 – Protocolo 47.396 – Sit. 31675 – Programa Institucional de
7 Pesquisa Básica e Aplicada.

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

19

20

21

22

REFERÊNCIAS

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
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
49

- ABRAMCZUK, B.; VILLELA, E. A luta contra o AVC no Brasil. **Com Ciência**, v. 109, 2009. Available from <http://comciencia.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1519-76542009000500002&lng=en&nrm=iso>. Access on 06 Jan. 2022. ISSN 1519-7654.
- ADAMS, H. P. et al. Classification of subtype of acute ischemic stroke. Definitions for use in a multicenter clinical trial. TOAST. Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment. **Stroke**, v. 24, n. 1, p. 35–41, Jan.1993. doi: 10.1161/01.str.24.1.35.
- ALFIERI, D. F. et al. Vitamin D deficiency is associated with acute ischemic stroke, C-reactive protein, and short-term outcome. **Metabolic Brain Diseases**, v.32, n.2, p.493-502, Apr. 2017. doi: 10.1007/s11011-016-9939-2.
- ALLEN, C. et al. Neutrophil cerebrovascular transmigration triggers rapid neurotoxicity through release of proteases associated with decondensed DNA. **Journal of Immunology**, v. 189, p. 381-392, Jul. 2012. doi: 10.4049/jimmunol.1200409.
- AMERICAN DIABETES ASSOCIATION PROFESSIONAL PRACTICE COMMITTEE. 2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes—2022. **Diabetes Care**, v. 45, n. Supplement_1, p. S17–S38, Jan. 2022. doi: 10.2337/dc22-S002.
- ALMEIDA, A.G.; DAL IZZOL, A.; VALLER, L. Acidente vascular cerebral isqu. micro agudo: fatores de risco. In: Nasi LA (org). **Rotinas em Unidade Vascular**. Porto Alegre: Artmed Editora, p. 287-295. 2012.
- AOKI, J.; UCHINO, K. Treatment of Risk Factors to Prevent Stroke. **Neurotherapeutics**, Jul. 2011. p.436-474. doi: 10.1161/01.str.24.1.35.
- BAGGIO, J. A. O. et al. Validation of a structured interview for telephone assessment of the modified Rankin scale in Brazilian stroke patients. **Cerebrovascular Diseases**, v. 38, n. 4, p. 297–301, May. 2014. doi: 10.1159/000367646.
- BECKER, K. et al. Antibody to the 4 Integrin Decreases Infarct Size in Transient Focal Cerebral Ischemia in Rats. **Stroke**, v. 32, p. 206-211, Jan. 2001. doi: 10.1161/01.str.32.1.206.
- BENJAMIN, E. J. et al. Heart Disease and Stroke Statistics’2017 Update: A Report from the American Heart Association. **Circulation**, v. 135, n. 10, p. e146-e603. Mar. 2017. doi: 10.1161/CIR.0000000000000485.
- BENJAMIN, E. J. et al. Heart Disease and Stroke Statistics-2018 Update: A Report from the American Heart Association. **Circulation**, v.137, n.12, p.67-492, Mar. 2018. doi: 10.1161/CIR.0000000000000558.
- BITSCH, A. et al. A Longitudinal Prospective Study of Soluble Adhesion Molecules in Acute Stroke. **Stroke**, v. 29, p. 2129–2135, Oct. 1998. doi: 10.1161/01.str.29.10.2129.
- BLANKENBERG, S. BARBAUX, S.; TIRET, L. Adhesion molecules and atherosclerosis. **Atherosclerosis**, v. 170, p. 191–203, 2003.

- 1
2 BLANN, A., et al. Soluble intercellular adhesion molecule-1, E-selectin, vascular cell
3 adhesion molecule-1 and von Willebrand factor in stroke. **Blood Coagulation and**
4 **Fibrinolysis**, n. 10, n. 5, p. 277–284, Jul. 1999. doi: 10.1097/00001721-199907000-00009
5
- 6 BLYTHE, E. N. et al. β 2 Integrin CD11d/CD18: From Expression to an Emerging Role in
7 Staged Leukocyte Migration. **Frontiers in Immunology**, v. 12, p.1-16, Nov. 2021.
8 doi: 10.3389/fimmu.2021.775447.
9
- 10 BOEHME, A. K.; ESENWA, C.; ELKIND, M. S. V. Stroke Risk Factors, Genetics, and
11 Prevention. **Circulation Research** v. 120, n. 3, p. 472-495, Feb. 2017.
12 doi: 10.1161/CIRCRESAHA.116.308398.
13
- 14 BONITA, R.; BEAGLEHOLE, R. Modification of Rankin Scale: Recovery of motor function
15 after stroke. **Stroke**, v.19, n.12, p.1497-1500, Dec. 1988. doi: 10.1161/01.STR.19.12.1497
16
- 17 BOTELHO, T. S. et al. Epidemiologia do acidente vascular cerebral no Brasil. **Temas em**
18 **Saúde**, v.16, n. 2. p.361-477, 2016. ISSN 2447-2131.
19
- 20 BRASIL. **Manual de Rotinas para atendimento ao AVC**. Brasília: Editora Ministério da
21 Saúde. 2013.
22
- 23 BREVETTI, G.; et al. Exercise increases soluble adhesion molecules ICAM-1 and VCAM-1 in
24 patients with intermittent claudication. **Clinical Hemorheology and Microcirculation**, v. 24,
25 p. 193–199, 2001.
26
- 27 BROTT, T. et al. Measurements of Acute Cerebral Infarction: A Clinical Examination Scale.
28 **Stroke**, v. 20, p. 864–70, Jul. 1989. doi: 10.1161/01.str.20.7.864.
29
- 30 CABRAL NL. Epidemiologia e impacto da doença cerebrovascular no Brasil e no mundo.
31 **Com Ciência**, v.109, p.1-5. 2009.
32
- 33 CAMPBELL, B. C. V. et al. Ischaemic stroke. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 5, n. 1,
34 p. 1-22, Dec. 2019. doi: 10.1038/s41572-019-0118-8.
35
- 36 CASTILLO, J. et al. Inflammation markers and prediction of post-stroke vascular disease
37 recurrence: The MITICO study. **Journal of Neurology**, v. 256, n. 2, p. 217–224, Feb.
38 2009. doi: 10.1007/s00415-009.
39
- 40 CAVUSOGLU, Y. et al. Cigarette Smoking Increases Plasma Concentrations of Vascular
41 Cell Adhesion Molecule-1 in Patients with Coronary Artery Disease. **Angiology**, v. 55, n. 4,
42 p. 397–402, Jul. 2004. doi: 10.1177/000331970405500406.
43
- 44 CHEN, L. et al. Value of Barthel, PLAN and NIHSS scores for predicting the death of
45 patients with acute ischemic stroke during their 5-year follow-up. **Journal of Clinical**
46 **Neuroscience**, v. 90, p. 94–98, Aug. 2021. doi: 10.1016/j.jocn.2021.05.049.
47
- 48 CIPOLLA, M. J.; LIEBESKIND, D. S.; CHAN, S. L. The importance of comorbidities in
49 ischemic stroke: Impact of hypertension on the cerebral circulation. **Journal of Cerebral**
50 **Blood Flow and Metabolism**. v.38, n. 12, p.2129-2149. Dec. 2018.

1 doi: 10.1177/0271678X18800589.

2
3 CLARK, W.M. et al. Circulating intercellular adhesion molecule-1 levels and neutrophil
4 adhesion in stroke. **Journal of Neuroimmunology**, v.44, n.1, p.123-125, Apr.1993.
5 doi: 10.1016/0165-5728(93)90275-4.

6
7 CHAMPAGNE, B. et al. Proteolytic cleavage of ICAM-1 by human neutrophil
8 elastase. **Journal of Immunology**, v.161, p. 6398–6405, 1998

9
10 CONNOLLY, E. S. et al. Exacerbation of Cerebral Injury in Mice That Express the P-Selectin
11 Gene. **Circulation Research**, v. 81, n. 3, p. 304–310, Sep. 1997.
12 doi:10.1161/01.res.81.3.304.

13
14 DE MELO LUCENA, D. M. et al. Correlation between municipal human development index
15 and stroke mortality: A study of Brazilian capitals. **BMC Research Notes**, v. 11, n. 540, p.16,
16 Aug. 2018. doi: 10.1186/s13104-018-3626-9.

17
18 DE SOUSA PARREIRA, J. et al. Tumor necrosis factor beta *NcoI* polymorphism (rs909253)
19 is associated with inflammatory and metabolic markers in acute ischemic stroke. **Metabolic**
20 **Brain Diseases**, v.30, p. 159-167, Feb. 2015. doi: 10.1007/s11011-014-9584-6.

21
22 EMBERSON, J. et al. Effect of treatment delay, age, and stroke severity on the effects of
23 intravenous thrombolysis with alteplase for acute ischaemic stroke: A meta-analysis of
24 individual patient data from randomised trials. **The Lancet**, v. 384, n. 9958, p. 1929–1935,
25 Nov. 2014. doi: 10.1016/S0140-6736(14)60584-5.

26
27 ENLIMOMAB ACUTE STROKE TRIAL INVESTIGATORS. Use of anti-ICAM-1 therapy
28 in ischemic stroke: Results of the Enlimomab Acute Stroke Trial. **Neurology**, v.57, p1428-
29 1434, Oct. 2001. doi:10.1212/wnl.57.8.1428.

30
31 FASSBENDER, K.M. et al. Circulating selectin- and immunoglobulin-type adhesion
32 molecules in acute ischemic stroke. **Stroke**, v. 26, p.1361-1364, Aug. 1995.
33 doi: 10.1161/01.str.26.8.1361.

34
35 FEIGIN, V. L. et al. Global, regional, and national burden of stroke and its risk factors, 1990–
36 2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. **The Lancet**
37 **Neurology**, v. 20, n. 10, p. 795–820, Oct. 2021. doi: 10.1016/S1474-4422(21)00252-0.

38
39 FU, Y.; ZHANG, N.; REN, L.; et al. Impact of an immune modulator fingolimod on acute
40 ischemic stroke. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of**
41 **America**, v. 111, n. 51, p. 18315–18320, Dec. 2014. doi: 10.1073/pnas.1416166111.

42
43 GARRITANO, C. R. et al Análise da tendência da mortalidade por acidente vascular cerebral
44 no Brasil no século XXI. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v.98, p.519-527, Jun.
45 2012. doi: 10.1590/S0066-782X2012005000041.

46
47 GEARING, A. J.; NEWMAN, A. J. Circulating adhesion molecules in disease. **Immunology**
48 **Today**. v.14, n.10, p. 506-512, Oct. 1993. doi: 10.1016/0167-5699(93)90267-O.

49

- 1 GO, A. S. et al. Heart disease and stroke statistics -2014 update: A report from the American
2 Heart Association. **Circulation**, v.129, p.28-292, Jan. 2014.
3 doi:10.1161/01.cir.0000441139.02102.80.
4
- 5 GOUSSEV, A. V et al. c **Journal of the Neurological Sciences**. v. 161, n.1, p. 16-22, Nov.
6 1998. doi: 10.1016/s0022-510x(98)00262-7.
7
- 8 HATZITOLIOS, A. I. et al. Diabetes mellitus and cerebrovascular disease: which are the
9 actual data? **Journal of Diabetes Complications**, v.23, p.283-296, Jul./Aug. 2009.
10 doi: 10.1016/j.jdiacomp.2008.01.004.
11
- 12 HARRISON, J. K. et al. Assessment scales in stroke: clinimetric and clinical considerations.
13 **Clinical Intervention and Aging**, v.8, p.201-211, Fev. 2013. doi: 10.2147/CIA.S32405.
14 HERTZ, L. Bioenergetics of cerebral ischemia: A cellular perspective. **Neuropharmacology**,
15 v. 55, n. 3, p. 289–309, Sep. 2008. doi: 10.1016/j.neuropharm.2008.05.023.
16
- 17 HERX, L.M.; YONG, V.W. Interleukin-1 β is required for the early evolution of reactive
18 astrogliosis following CNS lesion. **Journal of Neuropathology Experimental Neurology**,
19 v.60, p.961-971, Oct. 2001. doi: 10.1093/jnen/60.10.961.
20
- 21 JIN, A. Y. et al. Reduced blood barrier breakdown in P-selectin deficient mice following
22 transient ischemic stroke: A future therapeutic target for treatment of stroke. **BMC**
23 **Neurosciences**, v. 11, p.12, Feb. 2010. doi: 10.1186/1471-2202-11-12.
24
- 25 JIAN, Z. et al. The Involvement and Therapy Target of Immune Cells After Ischemic Stroke.
26 **Frontiers in Immunology**, Sep. 2019. doi: 10.3389/fimmu.2019.02167.
27
- 28 JICKLING, G. C. et al. Targeting neutrophils in ischemic stroke: Translational insights from
29 experimental studies. **Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism**, v. 35, n. 6, p.
30 888-901, Mar 2015. doi: 10.1038/jcbfm.2015.45.
31
- 32 JIN, R. et al. Inflammatory mechanisms in ischemic stroke: Role of inflammatory cells.
33 **Journal Leucocyte Biology**, v. 87, p. 779-798, May 2010. doi: 10.1189/jlb.1109766.
34
- 35 JOHNSON, E. L. et al. Standards of medical care in diabetes—2019. **Clinical Diabetes**, v.37,
36 n.1, p.11-34. Jan. 2019. doi: 10.2337/dc19-S002.
37
- 38 JURCAU, A.; SIMION, A. Neuroinflammation in cerebral ischemia and ischemia/reperfusion
39 injuries: From pathophysiology to therapeutic strategies. **International Journal of**
40 **Molecular Sciences**, MDPI, v.23, n.1, p1-31, Jan. 2022. doi: 10.3390/ijms23010014
41
- 42 JUSTICIA, C. et al. Anti-VCAM-1 antibodies did not protect against ischemic damage either
43 in rats or in mice. **Journal Cerebral Blood Flow Metabolism**. v.26, n.3, p.421-432, Mar.
44 2006. doi: 10.1038/sj.jcbfm.9600198.
45
- 46 KALINOWSKA, A.; LOSY, J. PECAM-1, a key player in neuroinflammation. **European**
47 **Journal of Neurology**, v. 12, n. 12, p. 1284-1290, Dec. 2006. doi: 10.1111/j.1468-
48 1331.2006.01640.x.
49

- 1 KRIEGLSTEIN, C. F.; GRANGER, D. N. Adhesion Molecules and Their Role in Vascular
2 Disease. **American Journal of Hypertension**, v. 14, n.6, Part 2, p. 445-545, Jun. 2001.
3 doi: 10.1016/s0895-7061(01)02069-6.
4
- 5 LAMBERTSEN, K. L. et al. Microglia protect neurons against ischemia by synthesis of tumor
6 necrosis factor. **Journal of Neurosciences**, v.29, p.1319-1330, Feb. 2009.
7 doi: 10.1523/JNEUROSCI.5505-08.2009.
8
- 9 LANGHAUSER, F. et al. Blocking of $\alpha 4$ integrin does not protect from acute ischemic stroke
10 in mice. **Stroke**, v. 45, n. 6, p. 1799–1806, Jun. 2014.
11 doi:10.1161/STROKEAHA.114.005000.
12
- 13 LECA, G.; MANSUR, S.E.; BENSUSSAN, A. Expression of VCAM-1 (CD106) by a subset
14 of TCR (γ δ -bearing lymphocyte clones: involvement of a metalloprotease in the specific
15 hydrolytic release of the soluble isoform. **Journal of Immunology**, v. 154, p. 1069–1077,
16 1995.
17 14.
- 18 LEHMANN, A.L.C.F. et al., Carotid intima media thickness measurements coupled
19 with stroke severity strongly predict short-term outcome in patients with acute ischemic
20 stroke: a machine learning study. **Metabolic Brain Disease**, v. 36, p. 1747–1761, Oct.
21 2021a. doi: 10.1007/s11011-021-00784-7.
22
- 23 LEHMANN A.L.C.F., et al. Immune-inflammatory, coagulation, adhesion, and imaging
24 biomarkers combined in machine learning models improve the prediction of death 1 year after
25 ischemic stroke. **Clinical and Experimental Medicine**, v. 22, n.1, p. 1-13, Feb. 2021b.
26 doi: 10.1007/s10238-021-00732-w.
27
- 28
- 29 LEHMANN, M. F., et al. Inflammatory and metabolic markers and short-time outcome in
30 patients with acute ischemic stroke in relation to TOAST subtypes. **Metabolic Brain Disease**,
31 v. 30, p. 1417-1428, Dec. 2015. doi: 10.1007/s11011-015-9731-8.
32
- 33 LICATA, G. et al. Immuno-inflammatory activation in acute cardio-embolic strokes in
34 comparison with other subtypes of ischaemic stroke. **Thrombosis and Haemostasis**, v. 101,
35 n. 5, p. 929–937, May 2009.
36
- 37 LIESZ, A. et al. Inhibition of lymphocyte trafficking shields the brain against deleterious
38 neuroinflammation after stroke. **Brain**, v. 134, n. 3, p. 704–720, Mar. 2011.
39 doi: 10.1093/brain/awr008.
40
- 41 MAES M, CARVALHO AF. The Compensatory Immune-Regulatory Reflex System (CIRS)
42 in Depression and Bipolar Disorder. **Molecular Neurobiology**, v. 55, p. 8885-8903, Dec.
43 2018. doi: 10.1007/s12035-018-1016-x
44
- 45 MAHMOOD, S. S. et al. The Framingham Heart Study and the epidemiology of
46 cardiovascular disease: A historical perspective. **The Lancet**. v. 383, n. 9921, p. 999-1008,
47 Sep. 2013. doi: 10.1016/S0140-6736(13)61752-3.
48
- 49 MARTINS, S.C.O., et al. Guidelines for acute ischemic stroke treatment-Part II: Stroke
50 treatment. **Arquivos de Neuropsiquiatria**, v. 70, n.11, p. 885-893, Nov. 2012.

- 1 doi: 10.1590/s0004-282x2012001100012.
2
- 3 MARTINS, S. C. O. et al. Priorities to reduce the burden of stroke in Latin American
4 countries. **The Lancet Neurology**, v. 18, n. 7, p. 674-683, Jul. 2019. doi: 10.1016/S1474-
5 4422(19)30068-7.
6
- 7 MARTINS, S. O. et al. Thrombectomy for Stroke in the Public Health Care System of Brazil.
8 **New England Journal of Medicine**, v. 382, n. 24, p. 2316–2326, Jun. 2020.
9 doi: 10.1056/NEJMoa2000120.
10
- 11 MATSUO, Y. et al. Role of cell adhesion molecules in brain injury after transient middle
12 cerebral artery occlusion in the rat. *Brain Research*, v. 656, n. 2, p. 344-352, Sep. 1994.
13 doi: 10.1016/0006-8993(94)91478-8.
14
- 15 MOCCO, J. et al. HuEP5C7 as a humanized monoclonal anti-E/P-selectin neurovascular
16 protective strategy in a blinded placebo-controlled trial of nonhuman primate stroke.
17 **Circulation Research**, v. 91, n. 10, p. 907–914, Nov. 2002.
18 doi: 10.1161/01.res.0000042063.15901.20.
19
- 20 MORISAKI, N. New indices of ischemic heart disease and aging: studies on the serum levels
21 of soluble intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) and soluble vascular cell adhesion
22 molecule-1 (VCAM-1) in patients with hypercholesterolemia and ischemic heart disease.
23 **Atherosclerosis**, v. 131, n. 1, p. 43–48, May 1997. doi: 10.1016/s0021-9150(97)06083-8.
24
- 25 NADAR, S. K.; LIP, G. Y. H.; BLANN, A. D. Platelet morphology, soluble P selectin and
26 platelet P-selectin in acute ischaemic stroke. The West Birmingham stroke project.
27 **Thrombosis and Haemostasis**, v. 92, n. 6, p. 1342–1348, Dec. 2004. doi: 10.1160/TH04-07-
28 0433.
29
- 30 NAGY-BALÓ, Z. et al. Activated Human Memory B Lymphocytes Use CR4 (CD11c/CD18)
31 for Adhesion, Migration, and Proliferation. **Frontiers in Immunology**, v. 11, p. 565458, Sep
32 2020. doi: 10.3389/fimmu.2020.565458
33
- 34 NETO, MORVAN. Extravasamento de leucócito; (b) moléculas de adesão (interação
35 leucócito-endotélio vascular). Disponível em: <https://canal.cecierj.edu.br/recurso/8335>.
36 Acessado em 11 de fevereiro de 2022.
37
- 38 OLIVEIRA-FILHO, J., et al. Guidelines for acute ischemic stroke treatment-Part I. **Arquivos**
39 **de Neuropsiquiatria**, v. 70, n.8, p. 621-629, Aug. 2012. doi: 10.1590/s0004-
40 282x2012000800012.
41
- 42 OZKAN, A. et al. Can high-sensitivity c-reactive protein and ferritin predict functional
43 outcome in acute ischemic stroke? a prospective study. *Topics in Stroke Rehabilitation*, v. 20,
44 n. 6, p. 528–536, Jan. 2013. doi: 10.1310/tsr2006-528.
45
- 46 PATEL, R.B., et al., Circulating Vascular Cell Adhesion Molecule-1 and Incident Heart
47 Failure: The Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). **American Heart Association**,
48 v. 9, p.e019390, Nov. 2020. doi: 10.1161/jaha.120.019390
49

- 1 PETROVIC-DJERGOVIC, D. et al. Inflammatory Disequilibrium in Stroke. **Circulation**
2 **Research**, v.119, n.1, p.142-158. Jun. 2016. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.116.308022.
3
- 4 POWERS, W. J. Acute Ischemic Stroke. **New England Journal of Medicine**, v. 383, n. 3, p.
5 252–260, Jul. 2020. doi: 10.1056/NEJMcp1917030.
6
- 7 POWERS, W. J. et al. Guidelines for the early management of patients with acute ischemic
8 stroke: 2019 update to the 2018 guidelines for the early management of acute ischemic stroke
9 a guideline for healthcare professionals from the American Heart Association/American
10 Stroke Association. **Stroke**, v. 50, n. 12, p. e344-e418, Dec. 2019.
11 doi: 10.1161/STR.0000000000000211.
12
- 13 PURSCHWITZ, K. et al. Lösliche Leukozytenadhäsionsmoleküle bei Vegetariern
14 unterschiedlichen Alters. **Zeitschrift für Gerontologie und Geriatrie**, v. 34, n. 6, p. 476–
15 479, 1 Dec. 2001.
16
- 17 RALLIDIS, L. S. et al. Elevated soluble intercellular adhesion molecule-1 levels are
18 associated with poor short-term prognosis in middle-aged patients with acute ischemic stroke.
19 **International Journal of Cardiology**, v.132, n.2, p.216-220, Feb. 2009.
20 doi: 10.1016/j.ijcard.2007.11.031.
21
- 22 RAMIRO, L. et al. Inflammatory molecules might become both biomarkers and therapeutic
23 targets for stroke management. **Therapeutic Advances in Neurological Disorders**, v. 11,
24 p. 1–24, Aug. 2018. doi: 10.1177/1756286418789340
25
- 26 RAYASAM, A. et al. Contrasting roles of immune cells in tissue injury and repair in stroke:
27 The dark and bright side of immunity in the brain. **Neurochemistry International**, v.107,
28 p.104-116, Feb. 2017. doi: 10.1016/j.neuint.2017.02.009.
29
- 30 REICHE EM, et al. Immune-inflammatory, oxidative stress and biochemical biomarkers
31 predict short-term acute ischemic stroke death. **Metabolic Brain Disease**, v. 34, n. 3, p. 789-
32 804, Jun. 2019. doi: 10.1007/s11011-019-00403-6.
33
- 34 RELTON, J. K. et al. Lipocortin-1 Is an Endogenous Inhibitor of Ischemic Damage in the Rat
35 Brain. **Journal of Experimental Medicine**, n. 174, n. 2, p. 305-310, Aug. 1991.
36 doi: 10.1084/jem.174.2.305.
37
- 38 RICHARD, S. et al. E-selectin and vascular cell adhesion molecule-1 as biomarkers of 3-
39 month outcome in cerebrovascular diseases. **Journal of Inflammation**, v. 12, n. 61, p. 1-9,
40 Nov. 2015. doi: 10.1186/s12950-015-0106-z.
41
- 42 ROSAMOND, W. et al. Heart disease and stroke statistics: 2008 update: a report from the
43 American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee.
44 **Circulation**, v.117, n. 4, p.25-146. Jan. 2008.
45 doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.107.187998.
46
- 47 SABER, H.; SAVER, J. L. Distributional Validity and Prognostic Power of the National
48 Institutes of Health Stroke Scale in US Administrative Claims Data. **JAMA Neurology**, v.
49 77, n. 5, p. 606–612, May 2020. doi: 10.1001/jamaneurol.2019.5061.
50

- 1 SACCO, R. L. Risk factors, outcomes, and stroke subtypes for ischemic stroke. **Neurology**, v.
2 49, n. 5, p. S39-44, Nov. 1997. Supl. 4. doi: 10.1212/wnl.49.5_suppl_4.s39.
3
- 4 SACCO, R. L.; et al. An updated definition of stroke for the 21st century: A statement for
5 healthcare professionals from the American heart association/American stroke association.
6 **Stroke**, v. 44, n. 7, p. 2064–2089, Jul. 2013. doi: 10.1161/STR.0b013e318296aeca.
7
- 8 SADE, M. Y.; et al. Air pollution and ischemic stroke among young adults. **Stroke**, v. 46, n.
9 12, p. 3348–3353, Dec. 2015. doi: 10.1161/STROKEAHA.115.010992.
10
- 11 SHI, X. et al. Protective effect of anti-intercellular adhesion molecule-1 antibody on global
12 cerebral ischemia/reperfusion injury in the rat. **BioScience Trends**, v.3, n. 2, p. 48-52, Apr.
13 2009.
14
- 15 SCHITTENHELM, L.; HILKENS, C. M.; MORRISON, V. L. β 2 integrins as regulators of
16 dendritic cell, monocyte, and macrophage function. **Frontiers in Immunology**, v. 8, p. 1866,
17 Dec. 2017. doi: 10.3389/fimmu.2017.01866.
18
- 19 SHUKLA, V. et al. Cerebral ischemic damage in diabetes: An inflammatory perspective.
20 **Journal of Neuroinflammation**, v.14, n.1, p.22. Jan. 2017. doi:10.1186/s12974-016-0774-5.
21
- 22 SHYU, K.G et al. Serum levels of intercellular adhesion molecule-1 and E-selectin in patients
23 with acute ischaemic stroke. **Journal of Neurology**, v.244, p.90-93, Feb. 1997.
24 doi: 10.1007/s004150050055.
25
- 26 SOTGIU, S. et al. Inflammatory biomarkers in blood of patients with acute brain ischemia.
27 **European Journal of Neurology**, v. 13, n. 5, p. 505–513, May 2006. doi: 10.1111/j.1468-
28 1331.2006.01280.x.
29
- 30 SUPANC V, et al. Role of cell adhesion molecules in acute ischemic stroke. **Annals of Saudi**
31 **Medicine**, n. 31, v. 4, p. 365-370, Jul./Aug. 2011. doi:10.4103/0256-4947.83217
32
- 33 THIRD REPORT OF THE NATIONAL CHOLESTEROL EDUCATION PROGRAM
34 (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in
35 Adults (Adult Treatment Panel III) final report. **Circulation**, v. 106, p.25, 3143-3421, Dec.
36 2002.
37
- 38 THORNTON, P. et al. Matrix metalloproteinase-9 and urokinase plasminogen activator
39 mediate interleukin-1-induced neurotoxicity. **Molecular and Cellular Neurosciences**, v.370,
40 p.135-142, Jan. 2008. doi: 10.1016/j.mcn.2007.09.002.
41
- 42 TUTTOLOMONDO, A. et al. Plasma levels of inflammatory and thrombotic/fibrinolytic
43 markers in acute ischemic strokes: Relationship with TOAST subtype, outcome and infarct
44 site. **Journal of Neuroimmunology**, v. 215, n. 1–2, p. 84–89, Oct. 2009.
45 doi:10.1016/j.jneuroim.2009.06.019
46
- 47 VERHOEVEN, J. I, et al. Ambient air pollution and the risk of ischaemic and haemorrhagic
48 stroke. **The Lancet Planetary Health**, v. 5, p. e542-552, Aug. 2021. doi: 10.1016/S2542-
49 5196(21)00145-5.
50

- 1 VIDALE, S. et al. Postischemic inflammation in acute stroke. **Journal of Clinical**
2 **Neurology**, v.13, n.1, p. 1-9, Jan. 2017. doi: 10.3988/jcn.2017.13.1.1.
3
- 4 WANG, X. et al. Upregulation of intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1) on brain
5 microvascular endothelial cells in rat ischemic cortex. **Brain Research Molecular Brain**
6 **Research**, v.26, n.1-2, p.61-68, Oct, 1994. doi: 10.1016/0169-328x(94)90074-4.
7
- 8 WANG, J. Y. Association of soluble intercellular adhesion molecule 1 with neurological
9 deterioration of ischemic stroke: The Chongqing Stroke Study. **Cerebrovascular Diseases**,
10 v.21, n.1-2, p.67-73, Jan. 2006. doi: 10.1159/000090005.
11
- 12 WANG, Q., et al. The inflammatory response in stroke. **Journal of Neuroimmunology**, n,
13 184, p. 53-68, Mar. 2007. doi: 10.1016/j.jneuroim.2006.11.014.
14
- 15 WANG, Y.; et al., Prognostic Value of Serum 25-Hydroxyvitamin D in Patients with Stroke.
16 **Neurochemical Research**, v. 39, n. 7, p. 1332–1337, Jul. 2014. doi: 10.1007/s11064-014-
17 1316-0.
18
- 19 WINNEBERGER, J. et al. Platelet endothelial cell adhesion molecule-1 is a gatekeeper of
20 neutrophil transendothelial migration in ischemic stroke. **Brain, Behavior, and Immunity**, v.
21 93, p. 277–287, Mar. 2021. doi: 10.1016/j.bbi.2020.12.026
22
- 23 YAGHI, S. et al. Post t-PA transfer to hub improves outcome of moderate to severe ischemic
24 stroke patients. **Journal of Telemedicine and Telecare**, v.21, n.7, p.396-399, Oct. 2015. doi:
25 10.1177/1357633X15577531.
26
- 27 YANG C, et al. Neuroinflammatory mechanisms of blood-brain barrier damage in ischemic
28 stroke. *American Journal of Physiology. Cell Physiology*, v. 316, p. C135–C153, Feb. 2019.
29 doi: 10.1152/ajpcell.00136.2018.
30
- 31 YILMAZ, G.; GRANGER, D. N. Cell adhesion molecules and ischemic stroke. **Neurological**
32 **Research**, v. 30, n. 8, p. 783-793, Oct. 2008. doi: 10.1179/174313208X341085.
33
- 34 ZAREMBA, J.; LOSY, J. Adhesion molecules of immunoglobulin gene superfamily in
35 stroke. **Folia Morphologica**, v. 61, n. 1, p. 1–6, 2002.
36
- 37 ZHANG, H. et al. Risk factors for ischaemic and intracerebral haemorrhagic stroke in 22
38 countries (the INTERSTROKE study): a case-control study. **The Lancet**, v. 376, n. 9735, p.
39 112-123, Jul. 2010. doi: 10.1016/S0140-6736(10)60834-3.
40
- 41 ZHANG, R. L. et al. Anti–intercellular adhesion molecule–1 antibody reduces ischemic cell
42 damage after transient but not permanent middle cerebral artery occlusion in the Wistar rat.
43 **Stroke**, v. 26, n. 8, p. 1438–1443, Aug. 1995. doi: 10.1161/01.str.26.8.1438.
44
- 45 ZHAO, X. J. et al. Predictive values of CSS and NIHSS in the prognosis of patients with
46 acute cerebral infarction A comparative analysis. **Medicine (United States)**, v. 97, n. 39, Sep.
47 2018. doi: 10.1097/MD.00000000000012419.
48

1 ZHU, Z.; et al. Combination of the immune modulator fingolimod with alteplase in acute
2 ischemic stroke: a pilot trial. **Circulation**, v. 132, n. 12, p. 1104–1112, Sep. 2015. doi:
3 10.1161/CIRCULATIONAHA.115.016371.

4
5 ZOU, Y. et al. Alteration of soluble adhesion molecules during aging and their modulation by
6 calorie restriction. **The FASEB Journal**, v. 18, n. 2, p. 320–322, Feb. 2004.
7 doi: 10.1096/fj.03-0849fje.

8
9
10
11
12
13
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

APÊNDICES

APÊNDICE A

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

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

Prezado(a) Senhor(a):

Gostaríamos de convidá-lo (a) para participar 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”, a ser realizada no Hospital Universitário da Universidade Estadual de Londrina (HU/UUEL)”. O objetivo da pesquisa é “analisar a associação entre alterações na resposta inflamatória e no metabolismo de gorduras e de açúcar com a presença de placas de aterosclerose na carótida em um grupo de pacientes com acidente vascular encefálico agudo isquêmico (AVCI) agudo, conhecido como derrame cerebral, atendidos no HU/UUEL”. Sua participação é muito importante e ela se daria da seguinte forma: sua participação será voluntária para fornecer informações quanto ao sexo, idade, etnia (raça), peso, altura, pressão arterial, uso de medicamentos antes do derrame, hábitos de vida como atividade física, uso de álcool e fumo. Será realizado um exame de ultrassonografia com *doppler* da carótida para avaliar a presença e a espessura de placas de aterosclerose.

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

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

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

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

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

16 Caso o(a) senhor(a) tenha dúvidas ou necessite de maiores esclarecimentos poderá nos
17 contatar a professora e pesquisadora Edna Maria Vissoci Reiche, no Laboratório de Análises
18 Clínicas do HU/UEL, na avenida Robert Koch, 60, Vila Operária, pelos telefones 43-3371-
19 2321 (laboratório) ou 43-9991-1467 (celular), ou ainda por email (reiche@sercomtel.com.br),
20 ou procurar o Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da Universidade
21 Estadual de Londrina, situado junto ao LABESC – Laboratório Escola, no Campus
22 Universitário, telefone 3371-5455, e-mail: cep268@uel.br.
23 Este termo deverá ser preenchido em duas vias de igual teor, sendo uma delas devidamente
24 preenchida, assinada e entregue ao (à) senhor(a).

25
26
27
28 Londrina, ___ de _____ de 201_.

29
30
31
32 Pesquisador Responsável
33 Professora Dra. Edna Maria Vissoci Reiche
34 RG: 1.242.514-7 (SSP-PR)
35 Telefone: 43-3371-2321
36

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

41
42
43 Assinatura (ou impressão dactiloscópica): _____

44
45
46 Data: _____
47
48
49

APÊNDICE B

Questionário para coleta de dados

(PACIENTES E CONTROLES)

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

IDENTIFICAÇÃO

Nome: _____ ID _____

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

Antecedentes Mórbidos Pessoais: () Hipertensão arterial sistêmica () DM tipo 1

() Dislipidemia () DM tipo 2

() Dça Autoimune () Dça Hematológica

() Dça Infeciosa () AVC

() IAM () Outro: _____

Medicamentos de uso contínuo: _____

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

() antioxidantes () vitaminas () Outro: _____

Antecedentes Mórbidos Familiares: () Hipertensão arterial sistêmica () DM tipo 2

() Dislipidemia () AVC

() IAM () Outro: _____

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

Atividade física:

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

() NÃO

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

Peso (Kg) _____ Altura (m) _____

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

1
2
3
4

ANEXOS

ANEXO A

National Institute of Health Stroke Scale (NIHS)

NIH
STROKE
SCALE

Identificação do Paciente

Nome: _____

Registro: _____

Exame inicial: Data ____/____/____

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

5
6

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

1
2
3
4
5

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

1
2
3
4
5
6

1
2
3
4
5
6

Você sabe como fazer.

De volta pra casa.

Eu cheguei em casa do trabalho.

Próximo da mesa, na sala de jantar.

Eles ouviram o Pelé falar no rádio.

1
2
3

Mamãe

Tic-Tac

Paralelo

Obrigado

Estrada de ferro

Jogador de futebol

Lista para item 10. Disatria

- 1
- 2
- 3
- 4
- 5



Lista para nomeação no item 9. Melhor linguagem

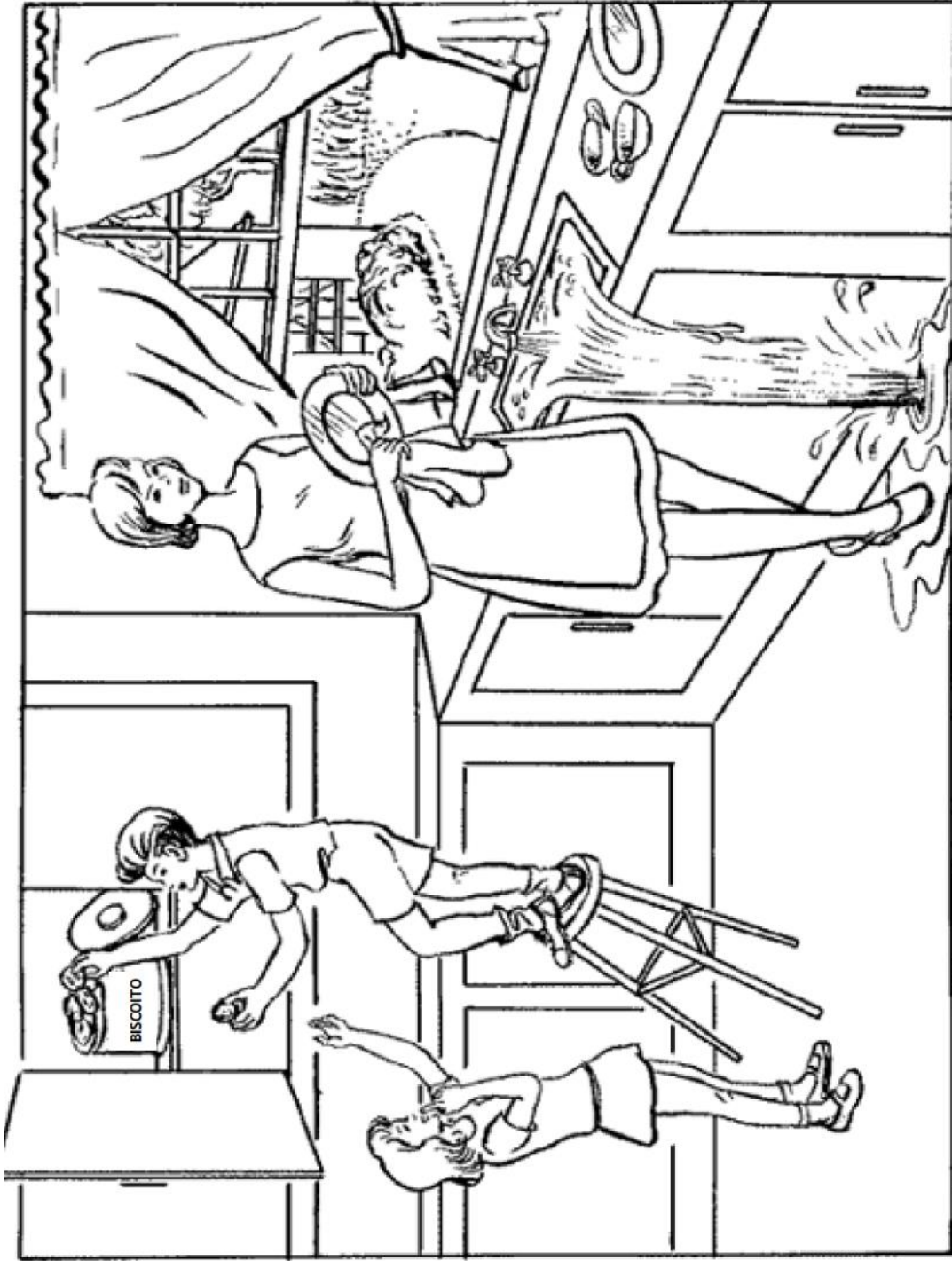


Figura para o item 9. Melhor linguagem

Copyright © 1983 by Lee & Feliger

- 1
- 2
- 3
- 4
- 5
- 6
- 7
- 8
- 9

ANEXO B

Escala de Rankin Modificada (mRS)

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37

0- Nenhum sintoma

1- Não apresenta incapacidade significativa, apenas sintomas; capaz de realizar as obrigações e atividades habituais

2- Leve incapacidade; incapaz de realizar todas as atividades prévias, porém capaz de realizar os cuidados consigo próprio sem assistência.

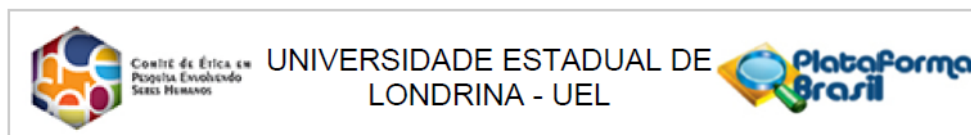
3- Moderada incapacidade; necessita alguma ajuda, consegue andar sem ajuda

4- Moderada /ou grave incapacidade; incapaz de andar sem assistência e não consegue realizar os cuidados consigo próprio, sozinho

5- Incapacidade grave; acamado e sob cuidados constantes de enfermagem, incontinente.

6- Morte

TOTAL (0-6): _____

1
2ANEXO C
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

UF: PR

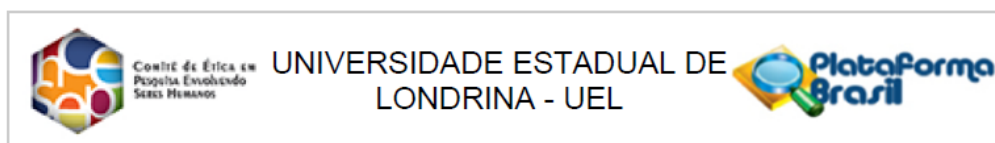
Município: LONDRINA

Telefone: (43)3371-5455

CEP: 86.057-970

E-mail: cep268@uel.br

3
4



Continuação do Parecer: 1.816.305

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

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário: (texto do pesquisador)

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

Objetivo Secundário: (texto do pesquisador)

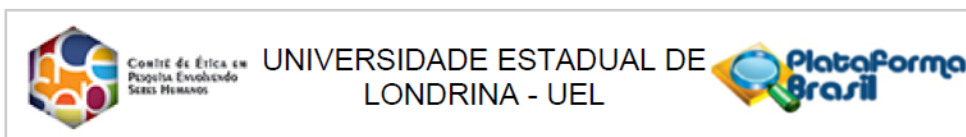
- Determinar os níveis séricos de marcadores inflamatórios, anti-inflamatórios e metabólicos em um grupo de pacientes com AVCI agudo e controles saudáveis; - Determinar a espessura da camada íntima média da carótida, grau de estenose e ecogenicidade da placa de aterosclerose em um grupo de pacientes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

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos: (texto do pesquisador)

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

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



Continuação do Parecer: 1.816.305

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

Benefícios: (texto do pesquisador)

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

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

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

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

TCLE - OK

Folha de Rosto - OK

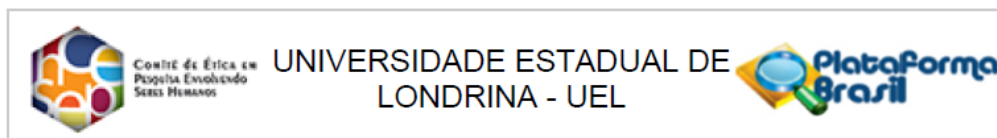
autorização da instituição co-participante - OK

Termo de Sigilo- OK

Declaração de respeito a Resolução 347/05 - OK

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

1



Continuação do Parecer: 1.816.305

Recomendações:

não há.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

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

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

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

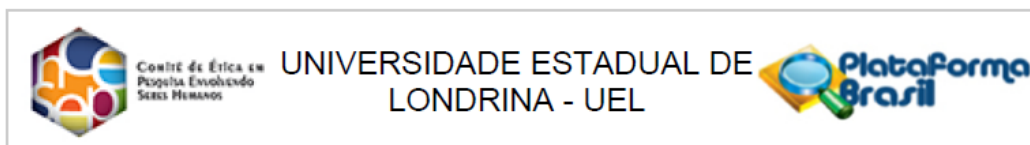
Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

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

2



Continuação do Parecer: 1.816.305

Não

LONDRINA, 10 de Novembro de 2016

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

Endereço: LABESC - Sala 14

Bairro: Campus Universitário

UF: PR

Município: LONDRINA

Telefone: (43)3371-5455

CEP: 86.057-970

E-mail: cep268@uel.br