

**MARCELO PRUDENTE DO ESPIRITO SANTO**

**Avaliação de mediadores inflamatórios como  
biomarcadores em modelo animal de hipertensão  
intracraniana**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina  
da Universidade de São Paulo para obtenção  
do título de Doutor em Ciências

Programa de Neurologia

Orientador: Prof. Dr. Wellingson Silva Paiva

(Versão corrigida. Resolução CoPGr 6018/11, de 13 de outubro de 2011. A versão original está disponível na Biblioteca da FMUSP)

**São Paulo  
2021**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**

Preparada pela Biblioteca da  
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Espirito Santo, Marcelo Prudente do  
Avaliação de mediadores inflamatórios como  
biomarcadores em modelo animal de hipertensão  
intracraniana / Marcelo Prudente do Espirito Santo.  
-- São Paulo, 2021.  
Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da  
Universidade de São Paulo.  
Programa de Neurologia.  
Orientador: Wellingson Silva Paiva.

Descritores: 1.Experimentação animal 2.Pressão  
intracraniana 3.Citocinas 4.Inflamação  
5.Encefalopatia 6.Barreira hematoencefálica

USP/FM/DBD-153/21

Responsável: Erinalva da Conceição Batista, CRB-8 6755

*“We choose to go to the moon in this decade and do the other things, not because they are easy, but because they are hard. Because that goal will serve to organize and measure the best of our energies and skills, because that challenge is one that we are willing to accept, one we are unwilling to postpone, and one which we intend to win.”*

*John F. Kennedy*

*Speech at Rice University September 12, 1962*

*“Optamos por ir à lua nesta década e fazer ainda outras coisas, não porque são fáceis, mas porque são difíceis. Porque esse objetivo servirá para organizar e medir o melhor de nossas energias e habilidades, porque esse desafio é um que estamos dispostos a aceitar, um que não estamos dispostos a adiar e que pretendemos vencer”*

*John F. Kennedy*

*Discurso na Universidade Rice 12 de setembro de 1962*

## DEDICATÓRIA

A meus pais, Clenita e Benedicto. Seu amor e exemplo inspiram todos os dias de minha vida.

À minha esposa, Juliana. Por sua paciência e por me fazer enxergar os cantos escuros, onde minha vista não alcança.

A minhas filhas, Maria Luisa e Lola. Vocês fazem tudo valer a pena.

À minha irmã, Patricia. Pelo amor incondicional.

Ao meu irmão, Brasil. Os dias ficam mais suaves e o trabalho mais leve com você por perto. Sem você, essa tese nunca seria possível.

Aos meus amigos: Flávio Miura, Felipe Saad, Otavio Quinta, Renato Forshaid, Roger Brock, Rogerio Adas, Wagner Tavares e Wellingson Silva Paiva. À Vida! (*L'Chaim!!*)

## **AGRADECIMENTOS**

Ao Prof. Dr. Manoel Jacobsen Teixeira, pelo apoio, incentivo e exemplo de ética de trabalho.

Ao meu orientador e amigo, Prof. Dr. Wellingson Silva Paiva, sua generosidade intelectual é um exemplo a ser seguido.

Ao Prof. Dr. Almir Ferreira de Andrade, pela confiança e incentivo ao longo de toda minha carreira. O ICRAN (Taipei 1999), ficará para a História.

Ao Professor Dr. Ricardo Ferreira Bento, pelo apoio e confiança.

Ao Prof. Dr. Roberto Sergio Martins, meu eterno preceptor. Sua disciplina, perseverança e dedicação são um exemplo. Suas sugestões e participação no exame de qualificação foram inestimáveis.

Ao Dr. Alessandro Belon, pela dedicação aos experimentos que permitiram esta tese e por sua participação no exame de qualificação.

Ao Dr. Gustavo Cartaxo Patriota, pelo auxílio na documentação dos experimentos.

Ao Dr. Davi Jorge Fontoura Solla, pelo auxílio na análise estatística dos dados experimentais

À bióloga e doutoranda do Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, Caroline Silverio Faria, pela conservação, elaboração de amostras e dosagens de citocinas. Sem sua ajuda e paciência este trabalho não seria possível.

À secretária do Programa de Pós-Graduação em Neurologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, Thais Figueira, pelo apoio logístico na elaboração desta tese.

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Serviço de Biblioteca e Documentação.  
*Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias.*

Elaborado por Aneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3ª ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentações; 2011.

Abreviatura dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

## SUMÁRIO

Lista de abreviaturas e siglas	
Lista de figuras	
Lista de tabelas	
Lista de gráficos	
Resumo	
Abstract	
1 INTRODUÇÃO .....	1
2 OBJETIVO.....	9
3 REVISÃO DA LITERATURA.....	11
3.1 Fisiologia e fisiopatologia da PIC.....	12
3.2 Perspectiva histórica da monitoração da PIC.....	14
3.3 Métodos invasivos de monitoração da PIC .....	18
3.3.1 Microssensores na medição invasiva da PIC.....	19
3.4 Métodos não invasivos na monitoração da PIC.....	22
3.4.1 Ultrassonografia Doppler transcraniana.....	23
3.4.2 Ultrassom da bainha do nervo óptico.....	26
3.4.3 Deslocamento da membrana timpânica.....	29
3.5 Revisão dos mediadores de inflamação expressos no tecido cerebral .....	31
3.5.1 Interleucinas 1 (IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-1ra).....	32
3.5.2 Interleucina 6.....	34
3.5.3 Interleucina 8.....	36
3.5.4 Interleucina 10.....	38
3.5.5 Fator de Necrose Tumoral $\alpha$ .....	40
4 MÉTODOS .....	43
4.1 Animais.....	44
4.2 Preparação do animal: anestesia e monitoração.....	45
4.3 Procedimento experimental.....	48
4.4 Dosagem de citocinas .....	55
4.4.1 Princípio da técnica de dosagem .....	56
4.4.2 Preparação das amostras .....	58
4.4.3 Preparação da diluição de solução padrão de citocinas .....	58
4.4.4 Preparo das amostras em placa multiplex .....	60
4.4.5 Preparação do sistema Magpix® .....	62
4.4.6 Leitura da placa multiplex com amostras .....	62
4.5 Análise estatística.....	66
4.6 Eutanásia, verificação e descarte de animais .....	67

5	RESULTADOS.....	69
5.1	Dados basais.....	70
5.2	Resultados da PIC.....	73
5.3	Resultados das citocinas.....	76
5.3.1	Interleucina 1 $\alpha$ .....	76
5.3.2	Interleucina 1 $\beta$ .....	79
5.3.3	Interleucina 1ra.....	82
5.3.4	Interleucina 2.....	85
5.3.5	Interleucina 4.....	88
5.3.6	Interleucina 6.....	91
5.3.7	Interleucina 8.....	94
5.3.8	Interleucina 10.....	97
5.3.9	Interleucina 12.....	100
5.3.10	Interleucina 18.....	103
5.3.11	TNF $\alpha$ .....	106
5.4	Significância estatística das concentrações de citocinas.....	109
5.5	Escore Z.....	110
5.6	Equações de estimativas generalizadas.....	111
6	DISCUSSÃO.....	116
6.1	Discussão de resultados.....	117
6.2	Limitações do estudo.....	124
7	CONCLUSÕES.....	126
8	ANEXOS.....	128
9	REFERÊNCIAS.....	135
	APÊNDICES.....	152



## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AG	- <i>Aktiengesellschaft</i> (do alemão, sociedade anônima)
BHE	- Barreira hematoencefálica
CCD	- <i>Charge coupled device</i> (do inglês, dispositivo de carga acoplada)
CEUA	- Comissão de Ética no Uso de Animais
cmH <sub>2</sub> O	- Centímetro de água
CO <sub>2</sub>	- Dióxido de carbono
CONCEA	- Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal
DMT	- Deslocamento da membrana timpânica
DP	- Desvio padrão
DTC	- Ultrassonografia Doppler transcraniana
DVE	- Derivação ventricular externa
EDTA	- Ácido etilenodiamino tetra-acético
EEG	- Equação de estimativa generalizada
ELISA	- <i>Enzyme linked immunosorbent assay</i> (do inglês, ensaio de imunoabsorção enzimática)
EtCO <sub>2</sub>	- Pressão final de dióxido de carbono expirado
FC	- Frequência cardíaca
FIO <sub>2</sub>	- Fração inspirada de oxigênio
FMUSP	- Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
Fr	- French
GCS	- <i>Glasgow coma score</i> (do inglês, escala de coma de Glasgow)
GOS	- <i>Glasgow outcome score</i> (do inglês, escala de resultados de Glasgow)
Hb	- Hemoglobina
HIC	- Hipertensão intracraniana
HSA	- Hemorragia subaracnoide

Ht	- Hematócrito
IL-1	- Interleucina 1
IL-10	- Interleucina 10
IL-12	- Interleucina 12
IL-18	- Interleucina 18
IL-1ra	- Interleucina 1 receptor agonista
IL-1 $\alpha$	- Interleucina 1 $\alpha$
IL-1 $\beta$	- Interleucina 1 $\beta$
IL-2	- Interleucina 2
IL-4	- Interleucina 4
IL-6	- Interleucina 6
IL-8	- Interleucina 8
IP	- Índice de pulsatilidade de Gosling
IV	- Intravenosa
LCR	- Líquido cefalorraquidiano
LED	- <i>Light emitting diode</i> (do inglês, diodo emissor de luz)
LIM	Laboratório de Investigação Médica
NaCl 0,9%	- Solução de cloreto de sódio a 0,9 %
O <sub>2</sub>	- Oxigênio
PA	- Pressão arterial
PaCO <sub>2</sub>	- Pressão parcial arterial de dióxido de carbono
PAD	- Pressão arterial diastólica
PAM	- Pressão arterial média
PaO <sub>2</sub>	- Pressão parcial arterial de oxigênio
PAS	- Pressão arterial sistólica
pCO <sub>2</sub>	- Pressão parcial de dióxido de carbono
PEEP	- Pressão positiva expiratória final
PIC	- Pressão intracraniana
PPC	- Pressão de perfusão arterial cerebral
PtiO <sub>2</sub>	- Pressão parcial de oxigênio tecidual cerebral
RM	- Ressonância magnética
SNC	- Sistema nervoso central

SO <sub>2</sub>	- Saturação de oxigênio
SpO <sub>2</sub>	- Saturação periférica de oxigênio
TCE	- Traumatismo cranioencefálico
TNF	- Fator de necrose tumoral
TNF�	- Fator de necrose tumoral �
UBNO	- Ultrassom da bainha do nervo óptico
UTI	- Unidade de terapia intensiva
VC	- Volume corrente

## LISTA DE SÍMBOLOS

®	-	marca registrada
µg	-	micrograma
µL	-	microlitro
h	-	hora
kg	-	quilograma
m/s <sup>2</sup>	-	metros por segundo ao quadrado
mg	-	miligrama
MHz	-	megahertz
mL	-	mililitro
mmHg	-	milímetro de mercúrio
ng	-	nanograma
°C	-	graus Celsius
pg	-	picograma
Pg/mL	-	picograma por mililitro
pH	-	potencial hidrogeniônico
rpm	-	rotações por minuto

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Curva de Volume X Pressão intracraniana .....	13
Figura 2 - Onda A - onda de planalto .....	15
Figura 3 - Animal preparado com cateterização de veia femoral e sondagem vesical .....	47
Figura 4 - Extremidade do cateter Neurovent-PTO Raumedic® utilizado nos experimentos .....	48
Figura 5 - Crânio de animal com reparos anatômicos.....	49
Figura 6 - Aspecto do crânio do animal preparado com monitor de PIC e sonda vesical .....	50
Figura 7 - Tela do monitor de PIC demonstrando curva de pressão durante o experimento e medidas de PtiO2 e temperatura cerebral.....	51
Figura 8 - Fluxograma do experimento .....	54
Figura 9 - Esquema ilustrativo da técnica Luminex® para captura e detecção de citocinas .....	57
Figura 10 - Fluxograma demonstrando a diluição das soluções padrão.....	59
Figura 11 - Placa magnética para agitação do painel de esferas.....	60
Figura 12 - Aparelho Magpix®, que utiliza a tecnologia xMAP® para leitura de microesferas.....	63
Figura 13 - Fluxograma demonstrando os passos de preparo da placa multiplex e leitura pelo sistema Luminex® .....	64
Figura 14 - Exemplo de curva padrão da citocina IL-1ra obtido no ensaio Luminex® .....	65
Figura 15 - Encéfalo do animal, destacando se hemorragia subpial no ponto de entrada do monitor de PIC e sonda vesical .....	68

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Descrição dos grupos de animais de acordo com peso e sexo .....	70
Tabela 2 - Comparação de valores da PA entre os diferentes grupos no momento basal .....	71
Tabela 3 - Comparação de valores da FC entre os diferentes grupos no momento basal .....	71
Tabela 4 - Comparação de valores de temperatura corporal e temperatura cerebral entre os diferentes grupos no momento basal .....	72
Tabela 5 - Comparação de valores de SpO <sub>2</sub> , EtCO <sub>2</sub> e PtiO <sub>2</sub> entre os diferentes grupos no momento basal.....	72
Tabela 6 - Valores da PIC individualizados.....	73
Tabela 7 - Comparação dos valores médios da PIC em diferentes grupos e momentos .....	75
Tabela 8 - Valores individualizados de IL-1 $\alpha$ para o Grupo 1 (4 mL).....	76
Tabela 9 - Valores individualizados de IL-1 $\alpha$ para o Grupo 2 (7 mL).....	77
Tabela 10 - Valores individualizados de IL-1 $\beta$ para o Grupo 1 (4 mL).....	79
Tabela 11 - Valores individualizados de IL-1 $\beta$ para o Grupo 2 (7 mL).....	80
Tabela 12 - Valores individualizados de IL-1ra para o Grupo 1 (4 mL).....	82
Tabela 13 - Valores individualizados de IL-1ra para o Grupo 2 (7 mL).....	83
Tabela 14 - Valores individualizados de IL-2 para o Grupo 1 (4 mL).....	85
Tabela 15 - Valores individualizados de IL-2 para o Grupo 2 (7 mL).....	86
Tabela 16 - Valores individualizados de IL-4 para o Grupo 1 (4 mL).....	88
Tabela 17 - Valores individualizados de IL-4 para o Grupo 2 (7 mL).....	89
Tabela 18 - Valores individualizados de IL-6 para o Grupo 1 (4 mL).....	91
Tabela 19 - Valores individualizados de IL-6 para o Grupo 2 (7 mL).....	92
Tabela 20 - Valores individualizados de IL-8 para o Grupo 1 (4 mL).....	94

Tabela 21 - Valores individualizados de IL-8 para o Grupo 2 (7 mL) .....	95
Tabela 22 - Valores individualizados de IL-10 para o Grupo 1 (4 mL) .....	97
Tabela 23 - Valores individualizados de IL-10 para o Grupo 2 (7 mL) .....	98
Tabela 24 - Valores individualizados de IL-12 para o Grupo 1 (4 mL) .....	100
Tabela 25 - Valores individualizados de IL-12 para o Grupo 2 (7 mL) .....	101
Tabela 26 - Valores individualizados de IL-18 para o Grupo 1 (4 mL) .....	103
Tabela 27 - Valores individualizados de IL-18 para o Grupo 2 (7 mL) .....	104
Tabela 28 - Valores individualizados de TNF $\alpha$ para o Grupo 1 (4 mL) .....	106
Tabela 29 - Valores individualizados de TNF $\alpha$ para o Grupo 2 (7 mL) .....	107
Tabela 30 - Valor de p para variações de valores de concentração de citocinas .....	109
Tabela 31 - Variação média padronizada (escore Z) das citocinas ao longo do tempo .....	110
Tabela 32 - Resultados de EEGs para relação citocinas <i>versus</i> PIC .....	111
Tabela 33 - Resultados de EEGs para relação citocinas <i>versus</i> PIC excluído o momento de pós-desinsuflação .....	115

## LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Valores médios e respectivos erros padrões da PIC de acordo com grupos .....	74
Gráfico 2 - Média e erro padrão das medidas de IL-1 $\alpha$ .....	78
Gráfico 3 - Média e erro padrão das medidas de IL-1 $\beta$ .....	81
Gráfico 4 - Média e erro padrão das medidas de IL-1ra .....	84
Gráfico 5 - Média e erro padrão das medidas de IL-2 .....	87
Gráfico 6 - Média e erro padrão das medidas de IL-4 .....	90
Gráfico 7 - Média e erro padrão das medidas de IL-6 .....	93
Gráfico 8 - Média e erro padrão das medidas de IL-8 .....	96
Gráfico 9 - Média e erro padrão das medidas de IL-10 .....	99
Gráfico 10 - Média e erro padrão das medidas de IL-12 .....	102
Gráfico 11 - Média e erro padrão das medidas de IL-18 .....	105
Gráfico 12 - Média e erro padrão das medidas de TNF $\alpha$ .....	108
Gráfico 13 - Diagrama de dispersão da PIC em função de IL-1ra e linha de tendência.....	112
Gráfico 14 - Diagrama de dispersão da PIC em função de IL-8 e linha de tendência.....	113
Gráfico 15 - Diagrama de dispersão da PIC em função de TNF $\alpha$ e linha de tendência.....	113



## RESUMO

Espirito Santo MP. *Avaliação de mediadores inflamatórios como biomarcadores, em modelo animal de hipertensão intracraniana* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, 2021.

**Introdução:** o aumento da pressão intracraniana consiste na via final comum de inúmeras patologias neurocirúrgicas, sendo causa frequente de sequelas neurológicas e óbito. O tratamento para controle da pressão intracraniana tem como base sua monitoração. Essa monitoração utiliza técnicas invasivas com introdução de cateteres intracranianos associados a riscos de complicações infecciosas, hemorrágicas e sujeitos a perda de acurácia ao longo do tempo. A busca de métodos capazes de inferir a existência de aumento da pressão intracraniana de forma não invasiva tem sido objeto de estudo frequente. Dentre esses métodos foi encontrada a pesquisa de biomarcadores em tecidos periféricos, como as citocinas dosadas no sangue. Faltam, no entanto, estudos que possam avaliar de forma controlada o impacto do aumento da pressão intracraniana sobre a dosagem desses biomarcadores. Este estudo teve como objetivo avaliar os efeitos da variação da pressão intracraniana sobre a concentração sérica de citocinas em um modelo experimental de hipertensão intracraniana reversível. **Métodos:** foram estudados 20 suínos (*Sus domesticus*), sob anestesia geral, devidamente assistidos com monitoração ventilatória e hemodinâmica. Durante o experimento foi simulado um processo expansivo intracerebral por meio da insuflação do balão de uma sonda vesical de tamanho 8 Fr implantada no tecido cerebral do animal por meio de uma trepanação. As medidas de pressão intracraniana foram realizadas por meio de um cateter de monitoração também implantado no parênquima cerebral do animal por meio de uma trepanação distinta. Foram colhidas amostras de sangue periférico em 4 momentos do experimento: após a preparação completa do animal, após a insuflação do balão, momentos antes da desinsuflação do balão, após a desinsuflação do balão. Foram estudados 2 grupos: um com insuflação do balão de 4 mL e outro com insuflação de 7 mL. As amostras de sangue periférico foram então analisadas, procedendo se à dosagem de citocinas por meio de painel de esferas de citocinas porcinas que utiliza tecnologia de anticorpos de captura e de detecção e dosagem por leitura de marcador fluorescente acrescentado ao complexo de anticorpos. As relações entre medidas de pressão intracraniana e dosagens de citocinas nos diferentes momentos foram estudadas utilizando se métodos estatísticos. **Resultados:** o experimento obteve variações da pressão intracraniana ao longo de seus momentos, assim como gradientes dos valores de pressão intracraniana entre ambos os grupos. As citocinas

que apresentaram as maiores variações em suas concentrações durante o experimento, em relação ao Desvio Padrão após padronização (escore Z) foram IL-1ra, IL-1 $\beta$ , IL-6 e IL-12. Após cálculo de equações de estimativas generalizadas para correlação entre valores de pressão intracraniana e citocinas verificou-se que apenas os valores de IL-1ra, IL-8 e TNF $\alpha$  apresentaram associação estatisticamente significativa com os valores da pressão intracraniana, entretanto demonstrando uma relação fraca com esses valores. Desse modo, não se demonstrou relação estatisticamente significativa entre variação da pressão intracraniana e dosagem sérica de citocinas nos diferentes grupos **Conclusão:** verificou-se que o experimento foi capaz de induzir hipertensão intracraniana; verificou-se variação nas dosagens séricas de citocinas nos diferentes momentos do experimento e não se verificou relação entre as variações das medidas de pressão intracraniana nos diferentes grupos e momentos e variações da dosagem sérica de citocinas no presente estudo.

Descritores: Experimentação animal; Pressão intracraniana; Citocinas; Inflamação; Encefalopatia; Barreira hematoencefálica.

## ABSTRACT

Espirito Santo MP. *Evaluation of inflammatory mediators as biomarkers in an animal model of intracranial hypertension* [thesis]. São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2021."

**Introduction:** increase in intracranial pressure is the common final result of numerous neurosurgical pathologies, its presence being a frequent cause of neurological disability and death. The control of intracranial pressure is based on its monitoring. This monitoring uses invasive techniques, with the insertion of intracranial catheters, which are associated with the risk of infectious and hemorrhagic complications and subject to loss of accuracy over time. The search for methods capable of inferring the existence of increased intracranial pressure in a non-invasive way has been the object of frequent study. Among these methods, we can point the search for biomarkers in peripheral tissues, such as cytokines measured in the peripheral blood. Nevertheless, there is a lack of studies that can assess in a controlled way the impact of increased intracranial pressure on the dosage of these biomarkers. **Objective:** this study aims to evaluate the effects of the variation of intracranial pressure on the serum concentration of cytokines, in an experimental model of reversible intracranial hypertension. **Methods:** twenty pigs (*Sus domesticus*) were studied while under general anesthesia and properly assisted with ventilatory and hemodynamic monitoring. During the experiment, an intracerebral expansive process was simulated by inflating the balloon of a size 8 Fr urethral catheter implanted in the animal's brain tissue through trepanation. Intracranial pressure measurements were performed using a monitoring catheter also implanted in the animal's brain parenchyma by means of another trepanation. Peripheral blood samples were collected at 04 moments during the experiment: after the animal was completely prepared, after the balloon was inflated, moments before the balloon was deflated and after the balloon was deflated. Two groups were studied: one where the balloon was inflated until 4 mL and the other where the balloon was inflated until 7 mL. The peripheral blood samples were then analyzed, proceeding with the dosage of cytokines through a panel of porcine cytokine spheres that uses capture and detection antibody technology and dosage by reading a fluorescent marker added to the antibody complex. The relationships between intracranial pressure measurements and cytokine measurements at different times were studied using statistical methods **Results:** the experiment obtained variations of the intracranial pressure throughout its moments, as well as gradients of the values of intracranial pressure between both groups. The cytokines that showed the greatest variations in their dosages during the experiment, in relation to the Standard

Deviation after standardization (Z-score) were IL-1ra, IL-1 $\beta$ , IL-6 and IL-12. After calculating generalized estimating equations for the correlation between intracranial pressure and cytokines, we found that only the values of IL-1ra, IL-8 and TNF $\alpha$  showed a statistically significant association with the values of intracranial pressure, showing however, a weak relationship with these values. Thus, there was no statistically significant relationship between variations in intracranial pressure and serum levels of cytokines in different groups **Conclusion:** we found that the experiment was able to induce intracranial hypertension; we verified variation in serum cytokine dosages at different times of the experiment; we did not find a relationship between variations in intracranial pressure measurements in different groups and moments and variations in serum cytokine levels in our study.

Descriptors: Animal experimentation; Intracranial pressure; Cytokines; Inflammation; Brain diseases; Blood-brain barrier.

# **1 INTRODUÇÃO**

A hipertensão intracraniana (HIC) consiste na via final comum de diversos processos patológicos do sistema nervoso central (SNC). Distúrbios na circulação do líquido cefalorraquidiano (LCR), processos traumáticos difusos e processos expansivos focais intracranianos, em particular os de caráter agudo, tendem a levar a um aumento da pressão intracraniana (PIC), estabelecendo eventual HIC. Uma vez iniciado esse processo, mecanismos fisiológicos de compensação são desencadeados a fim de manter a PIC dentro de seu intervalo normal. A exaustão desses mecanismos de compensação da PIC leva à HIC e, conseqüente diminuição da pressão de perfusão arterial cerebral (PPC), resultando em isquemia e morte de tecido neuronal. A quantificação da PIC para direcionamento de terapias e prevenção da HIC é portanto essencial no tratamento de inúmeras patologias do SNC (Le Roux, 2014).

A quantificação da PIC é realizada na prática clínica por meio de técnicas invasivas de monitoração. Isso limita o método a locais com recursos técnicos intensivos. Somado a esse fato, os métodos de medição da PIC estão sujeitos a questionamento quanto à sua acurácia, a qual com o passar dos dias tende a se perder, um fenômeno pouco abordado mas bem conhecido na rotina das UTIs neurocirúrgicas (Zacchetti *et al.*, 2015). Essas dificuldades, associadas a riscos de complicações clínicas, sobretudo

infeciosas e hemorrágicas, levaram desde a tentativas de desenvolvimento de métodos não invasivos de monitoração (Kristiansson *et al.*, 2013), até ao questionamento da necessidade da monitoração da PIC para o tratamento da HIC (Chesnut *et al.*, 2012).

A diminuição da PPC secundária à HIC desencadeia uma série de eventos: isquemia, edema e necrose do tecido neuronal. Durante esse processo há a liberação local de substâncias que podem ser dosadas em amostras do tecido cerebral, do LCR e mesmo do sangue periférico, isso devido à quebra concomitante da barreira hematoencefálica (BHE). A BHE é uma estrutura anatômica formada pelas *tight junctions*, membrana basal e podócitos das células da glia, que impede a passagem passiva de moléculas hidrofílicas maiores que 500 Daltons entre o tecido cerebral e sanguíneo. Entretanto, após a lesão causada pelo efeito focal e difuso da hipertensão intracraniana, ocorre uma ruptura desta barreira, com consequente aumento da sua permeabilidade, o que possibilita o achado no sangue periférico de substâncias antes presentes apenas no SNC (Pelinka *et al.*, 2004).

Algumas das substâncias liberadas no processo desencadeado pela queda da PPC secundária à HIC podem ser consideradas biomarcadores. Biomarcadores ou marcadores biológicos são entidades que podem ser medidas experimental e objetivamente em amostra de tecido ou líquido corpóreo, possuindo alta sensibilidade e especificidade e indicam a ocorrência de uma determinada função, normal ou patológica, ou uma resposta a um agente farmacológico ou outra intervenção terapêutica (FDA-NIH Biomarker Working Group, 2016).

Do mesmo modo que o comprometimento da BHE possibilita o achado no sangue periférico de substâncias antes presentes apenas no sistema nervoso central, permite também a entrada de neutrófilos, monócitos e linfócitos circulantes no tecido neuronal lesionado (Kubes e Ward, 2000). O acúmulo de células imunes trazidas pelo sangue ao tecido neuronal foi relatado em pacientes com traumatismo cranioencefálico (TCE) e em modelos animais de trauma cerebral (Morganti-Kossmann *et al.*, 2001). Essas células ativadas liberam mediadores inflamatórios incluindo prostaglandinas, radicais livres, fatores de complemento e citocinas pró-inflamatórias, que podem também atuar como biomarcadores durante o processo de lesão do tecido neuronal.

Modelos experimentais de TCE têm demonstrado diversos mediadores de inflamação expressos no tecido neuronal após lesão tecidual. Muitos deles passam a apresentar picos de concentração da ordem de  $10^3$  além dos níveis habituais. A magnitude e dinâmica da expressão desses mediadores podem ser capazes de revelar não somente informações sobre a lesão primária, mas também sobre a sequência de eventos que se sucedem. Por exemplo, em um determinado estudo, um modelo de TCE difuso em ratos demonstrou que a produção de fator de necrose tumoral (TNF) é maior, e a expressão de Interleucina  $1\beta$  (IL- $1\beta$ ) maior e mais prolongada, quando a lesão inicial é seguida de um período de 30 minutos de hipóxia (Yan *et al.*, 2011).

Dentre esses mediadores de inflamação, as citocinas têm sido estudadas como marcadores de lesão neuronal, sendo elas pequenas proteínas de vida curta produzidas por leucócitos e células gliais. Há um



grande número de citocinas, muitas com funções sobrepostas, que formam uma complexa rede de mediadores inflamatórios. Citocinas que iniciam ou propagam uma resposta inflamatória são chamadas de pró-inflamatórias, enquanto as citocinas que inibem a resposta inflamatória são chamadas de anti-inflamatórias (Woodcock e Morganti-Kossmann, 2013). O perfil de expressão de cada citocina após lesão neuronal tem o potencial de fornecer informações sobre o tipo e a extensão do dano tecidual, podendo ser fácil e rapidamente medido por meio de ensaios imunológicos, demonstrando assim potencial uso como biomarcadores.

Entre as citocinas, a Interleucina 1 (IL-1), Interleucina 6 (IL-6), Interleucina 10 (IL-10) e o TNF ilustram bem essa interação entre processos patológicos do SNC e mediadores inflamatórios:

- Interleucina 1: a família de citocinas interleucina 1 inclui duas proteínas agonistas, interleucina 1  $\alpha$  (IL-1 $\alpha$ ) e IL-1 $\beta$ , as quais desencadeiam a ativação celular após ligação com receptores específicos de membrana. Também incluído nessa família há a interleucina 1 receptor agonista (IL-1ra), uma proteína que neutraliza a ação da IL-1. A IL-1 é um importante iniciador da resposta imune, desempenhando um papel fundamental no desencadeamento e evolução de uma complexa cascata inflamatória humoral e celular. Elevação na dosagem de IL-1 $\beta$  foi detectada no LCR e no parênquima cerebral logo nas primeiras horas após lesão cerebral em humanos e roedores, em modelos que empregaram a microdiálise cerebral (Winter *et al.*, 2002).

Experimentos em animais para teste de drogas imunossupressoras como minociclina ou eritropoietina após o TCE, atribuíram os mecanismos neuro protetores desses compostos aos efeitos da redução da síntese de IL-1 no cérebro (Bye *et al.*, 2007; Crack *et al.*, 2009).

- Interleucina 6: é uma citocina multifuncional que desempenha um papel importante na defesa imunológica, contribuindo com importantes efeitos reguladores sobre a resposta inflamatória. Possui ainda efeitos neurotróficos diretos e indiretos sobre os neurônios (Benveniste, 1998). Estudos utilizando modelo experimental de lesão criogênica em camundongos transgênicos GFAP-IL-6 demonstraram produção aumentada de IL-6 no tecido cerebral estimulando mecanismos de neuroproteção (Taupin *et al.*, 1993).
- Interleucina 10: é produzida no sistema nervoso central pela microglia e astrócitos, e na periferia por células linfopoiéticas. Suas características neuro protetoras incluem a supressão da ativação da microglia e da astroglia, bem como a diminuição da produção de citocinas pró-inflamatórias (Kremlev e Palmer, 2005). Em humanos, dosagens aumentadas de IL-10 no LCR de pacientes adultos com TCE corresponderam a reduções nas concentrações dos fatores de necrose tumoral; no entanto, não foi encontrada correlação entre as dosagens de IL-10 e desfecho clínico (Csuka *et al.*, 1999).

- Fator de necrose tumoral: desempenha um papel central no início e na regulação da cascata de citocinas durante a resposta inflamatória. Devido aos baixos níveis de expressão do TNF no cérebro saudável, tem sido difícil determinar seu papel preciso em condições fisiológicas. Nos estados inflamatórios ou de doença o TNF, juntamente com vários outros mediadores pró-inflamatórios e substâncias neuro tóxicas, é produzido predominantemente pela microglia ativada. Achados de estudos experimentais sugerem que a função do TNF pode diferir na fase aguda e tardia após o TCE (Sullivan *et al.*, 1999).

A compreensão da dinâmica de biomarcadores específicos promete, portanto, auxiliar no diagnóstico, manuseio e prognóstico dos processos que levam à lesão neuronal. A resposta inflamatória que ocorre após agressão ao tecido neuronal tem o potencial de apresentar aos pesquisadores, as citocinas como biomarcadores capazes de fornecer informações específicas sobre o grau e tipo de lesão cerebral (Frugier *et al.*, 2010).

Tendo a medida da PIC como a variável de interesse para inferência de lesão neuronal, procurou-se na literatura estudos que correlacionassem medidas de PIC com dosagem de biomarcadores. Foram encontrados estudos utilizando a dosagem de citocinas como biomarcadores em diversas condições clínicas que cursam com aumento da PIC como TCE, hemorragia subaracnoide (HSA) e hipertensão intracraniana idiopática. No caso da hipertensão intracraniana idiopática, a presença de concentrações elevadas de citocinas em LCR e sangue de pacientes parece ser relacionada com

fatores imunológicos causadores da patologia, mais do que como consequência do aumento da PIC (Edwards *et al.*, 2013). Nos estudos em trauma e HSA, a variação da dosagem de citocinas nos diversos trabalhos se confunde com o efeito inflamatório da agressão sistêmica e ao tecido cerebral (Brough *et al.*, 2015). Foi identificada assim, uma dificuldade nesses estudos, de métodos que pudessem avaliar de forma prospectiva e controlada o efeito exclusivo da variação da PIC sobre a dosagem de biomarcadores. Avaliou-se então que seria necessário um experimento em que se pudesse isolar a PIC como variável controlada, o que somente poderia ser obtido por meio de um modelo experimental em animais. Foi utilizado um modelo experimental de variação de PIC, secundário à presença de uma massa expansiva intracerebral de volume controlado e reversível pelo experimentador, na tentativa de se estabelecer uma correlação direta entre PIC e concentração de biomarcadores (citocinas) dosados no sangue periférico (Andrade *et al.*, 2013).

Sendo assim, o objetivo desse trabalho é que a análise das condições da PIC e sua relação com a dosagem de citocinas em sangue periférico como biomarcadores, durante experimentos em um modelo animal controlado, represente uma contribuição na compreensão de mecanismos de lesão do tecido encefálico nos regimes de HIC e por conseguinte, colabore na busca de métodos não invasivos de diagnóstico e tratamento da HIC no ambiente da prática clínica.

## **2 OBJETIVO**

Avaliar os efeitos da variação da pressão intracraniana sobre a concentração sérica de citocinas em um modelo experimental de hipertensão intracraniana controlada.

### **3 REVISÃO DA LITERATURA**

### **3.1 Fisiologia e fisiopatologia da PIC**

O anatomista escocês Alexander Monro foi o primeiro a descrever a PIC em 1783. Monro faz quatro proposições em seu trabalho: 1) o cérebro é contido em uma estrutura rígida, 2) o cérebro é uma estrutura incompressível, 3) o volume de sangue contido a qualquer momento na caixa craniana tem de ser constante, 4) uma drenagem constante do sangue venoso é necessária de modo a criar espaço para o suprimento arterial. O colega de Monro, George Kellie confirmou suas observações anos mais tarde, baseado em autopsias de humanos e animais. Essas asserções passaram a ser conhecidas como doutrina de Monro-Kellie.

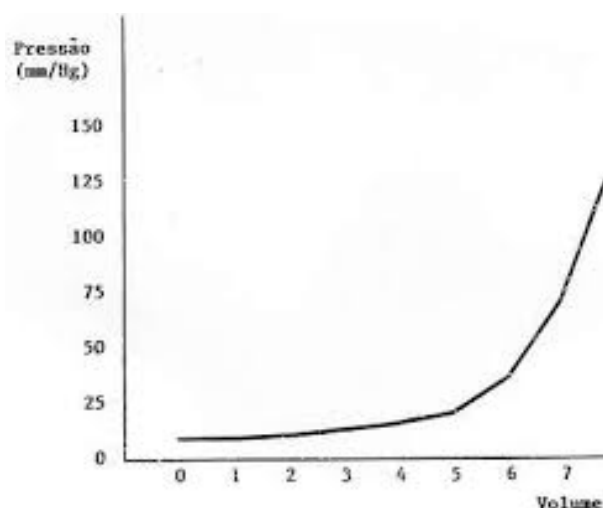
Em 1842, o fisiologista francês François Magendie introduz o conceito de fluído no compartimento intracraniano, após puncionar a cisterna magna de animais e analisar o LCR. Com esse novo conceito em mente, em 1846, o médico inglês George Burrows propõe a ideia da relação recíproca entre volumes de LCR e sangue dentro da caixa craniana, onde o aumento de um leva a redução de outro, desse modo introduzindo o componente liquórico na doutrina de Monro-Kellie.

Em 1926, Harvey Cushing formula a doutrina que rege a PIC conforme se conhece hoje: em um crânio intacto, o volume de tecido nervoso, sangue e LCR é constante e, o aumento em um desses componentes leva a diminuição de um ou dois dos outros.



Essa relação prevê ainda uma reserva compensatória também chamada de compensação espacial. Em indivíduos jovens é de 60 mL a 80 mL e de 100 mL a 140 mL em indivíduos idosos, por conta principalmente da atrofia do tecido cerebral.

Ao analisar a curva na Figura 1, verificou-se que sua primeira porção é caracterizada por um aumento pequeno da PIC em função do aumento do volume intracraniano, por conta dessa reserva compensatória ainda capaz de acomodar o volume extra. Conforme o volume intracraniano aumenta, a reserva compensatória tende à exaustão, levando a um aumento rápido na PIC.



**Figura 1 - Curva de Volume X Pressão intracraniana**

A PIC normal varia de acordo com a idade e a postura corporal, mas é mantida na faixa de 5 mmHg a 15 mmHg em adultos saudáveis quando medida em posição supina, 3 mmHg a 7 mmHg em crianças e 1,5 mmHg a 6 mmHg nos lactentes (Raboel *et al.*, 2012).

A pressão de perfusão cerebral é definida como a diferença entre a pressão arterial média (PAM) e a PIC:

$$PPC = PAM - PIC$$

Nos casos de PIC elevada, ou de hipotensão circulatória, a PPC é diminuída. Em condições fisiológicas normais o sistema de autorregulação cerebral mantém um fluxo sanguíneo constante para o cérebro por meio da dilatação ou constrição de arteríolas. No entanto, a autorregulação somente é efetiva quando a PAM se mantém entre 50 mmHg e 150 mmHg. Pressões acima do limite em que a autorregulação se mantém, levam a hiperemia e edema cerebral. Pressões abaixo do limite, levam a fluxo sanguíneo insuficiente e isquemia.

### 3.2 Perspectiva histórica da monitoração da PIC

Os pioneiros da monitoração clínica da PIC foram Guillaume e Janny que usaram um transdutor eletromagnético conectado a um sistema hidrostático fechado, em contato com o espaço liquórico raquiano. Seus registros de pacientes em 1951 foram as primeiras medidas de PIC na literatura (Sonig *et al.*, 2020).

Em 1960, Nils Lundberg, neurocirurgião da Universidade de Lund, na Suécia, traz uma contribuição inovadora para o campo da monitoração da PIC ao descrever um método que possibilitava o registro contínuo da PIC com menor risco de infecção (Lundberg *et al.*, 1965). Lundberg monitorou a PIC utilizando cateteres ventriculares posicionados no corno lateral dos ventrículos de 368 pacientes por uma semana em média. O sistema, conectado ao cateter ventricular, ao variar a pressão tinha essa variação

traduzida em sinais elétricos por um transdutor por deformação, também chamado de extensômetro ou *strain gauge*. Este sinal elétrico era então amplificado e lido por um potenciômetro com gravador acoplado. Por meio deste método Lundberg definiu três tipos de ondas de PIC, afirmando que a interpretação visual das ondas era mais significativa do que apenas os números absolutos da PIC e que sintomas da topografia do tronco cerebral resultavam de PIC elevada. Sua descoberta mais significativa foi a Onda A (onda de planalto), que é caracterizada por um aumento de PIC de 25 mmHg para 75 mm Hg e significa deterioração neurológica iminente.

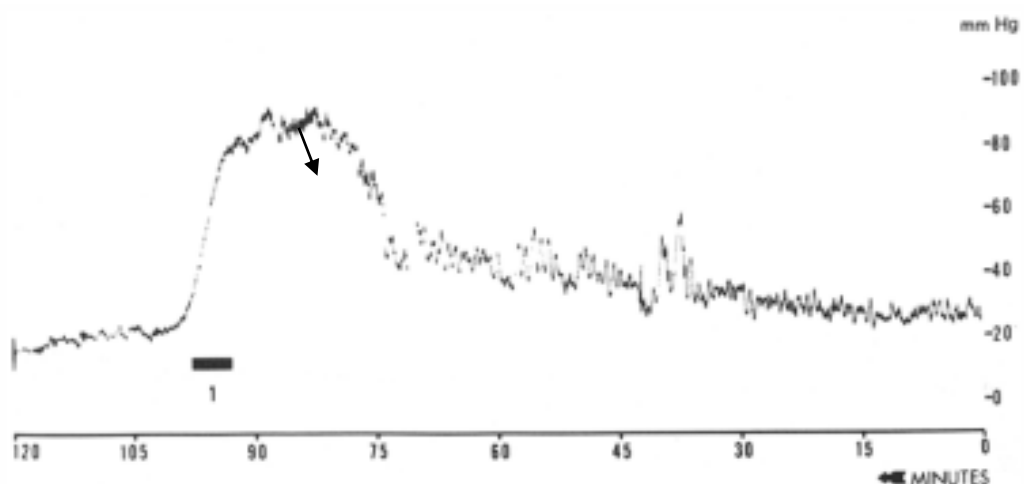


Figura 2 - Onda A - onda de planalto [Fonte: Lundberg *et al.*, 1965]

Mesmo após o trabalho de Lundberg *et al.* (1965), a monitoração rotineira da PIC manteve pouca aceitação entre neurocirurgiões e intensivistas. Somente nas décadas de 1970 e 1980 o método descrito em seu trabalho para monitoração de PIC passa a ser usado progressivamente com maior frequência, sobretudo em casos de hemorragia subaracnoide e TCE. Em 1978, Saunders relata que:

[...] neurocirurgiões são bastante seletivos em sua escolha de pacientes monitorados e, mesmo aqueles pouco neurocirurgiões com grande experiência em monitoração declararam não ser parte de sua rotina. Muitos dos relatos parecem indicar uma diminuição no entusiasmo pela monitoração, ou pelo menos uma visão mais crítica de seus benefícios.

Desde então, a visão sobre a utilidade e eficácia da monitoração da PIC vem mudando, sendo agora vista como uma ferramenta essencial para gestão do paciente neurocirúrgico crítico, em especial no paciente com TCE grave. Segundo as Diretrizes para Manuseio do TCE Grave da *Brain Trauma Foundation* (Carney *et al.*, 2017) é recomendação de nível IIB o manuseio de pacientes com TCE grave com uso de monitoração de PIC visando a redução de mortalidade desses pacientes. Essa transformação progressiva do pensamento foi produto de múltiplos estudos que apontaram melhores resultados com monitoração agressiva da PIC em pacientes com TCE (Balestreri *et al.*, 2006). Por outro lado, como evidencia a recomendação de nível IIB da *Brain Trauma Foundation*, o único estudo controlado prospectivo e randomizado até o momento, do impacto do uso da monitoração da PIC em TCE, mostrou que o monitoramento da PIC não foi superior ao seguimento do paciente com TCE utilizando se apenas de um protocolo de exames clínicos e radiológicos juntamente a condutas agressivas para prevenção de HIC (Chesnut *et al.*, 2012).

Os dispositivos para monitoração invasiva da PIC são classificados em três tipos: sistemas hidrostáticos, cateteres com transdutores acoplados e monitores telemétricos. Em 1973, Vries *et al.* introduziram o parafuso subaracnoide, um tipo de sistema hidrostático como tentativa de limitar a alta

taxa de infecção causada por cateteres ventriculares na época. No entanto, como o parafuso ainda apresentava um alto risco de infecção sem possibilitar a drenagem de LCR, além de frequentemente subestimar a PIC, acabou estimulando o desenvolvimento de métodos mais eficazes como por exemplo, o cateter de fibra óptica.

Nos últimos 30 anos, houve grandes avanços nas tecnologias de monitoração. Vários tipos de sensores com transdutores acoplados e monitores telemétricos surgiram. Tecnologias baseadas em fibra óptica, extensômetros e sensores pneumáticos surgiram e se tornaram amplamente utilizados.

O conceito de monitoração não invasiva é especialmente atraente, sendo visto como o futuro próximo das técnicas de monitoração da PIC devido ao bom custo-efetividade e complicações mínimas. As modalidades de monitoração não invasiva mais investigadas incluem a ultrassonografia Doppler transcraniana (DTC), a ultrassonografia da bainha do nervo óptico (UBNO) e o deslocamento da membrana timpânica (DMT).

A DTC foi introduzida em 1982 por Aaslid *et al.* (1982) quando estabeleceram o método ao demonstrar as velocidades do fluxo sanguíneo cerebral nas artérias cerebral média, cerebral anterior e comunicante posterior de 50 voluntários saudáveis. Nesse trabalho os autores propõem a utilidade do método inicialmente para diagnóstico de vasoespasmos pós-hemorragia subaracnoide e oclusões arteriais do SNC.

As primeiras investigações do método de DMT foram publicadas por Reid *et al.*, em 1990. Nesse trabalho, os investigadores avaliaram 58 pacientes com HIC, concluindo que mudanças na PIC afetam o regime de

pressão hidrostática ao nível da cóclea, podendo ser medido de forma indireta durante a contração do reflexo estapédio e sugerindo o método como modo não invasivo de monitoração da PIC. No entanto, a utilidade do DMT permanece limitada porque são necessários reflexos de estribo intactos, aqueduto coclear patente e pressão média normal do ouvido médio.

### **3.3 Métodos invasivos de monitoração da PIC**

A monitoração da PIC por técnicas invasivas ainda é o padrão na prática clínica. A medição da PIC pode ser realizada por diferentes técnicas: intraventricular, epidural, subdural e intracerebral. O uso dos métodos de monitoração intraventricular e intracerebral são os mais comuns, enquanto as medidas epidurais e subdurais são raramente utilizadas hoje em dia.

A técnica padrão constitui em um procedimento invasivo que envolve a inserção de cateter no compartimento intracraniano por um pequeno orifício perfurado através do crânio (trepanação). Uma sonda/sensor de pressão é então introduzida pela trepanação, sendo então posicionada no espaço ventricular, parênquima cerebral, espaço epidural (entre crânio e dura), ou espaço subdural (entre cérebro e dura).

A monitoração da PIC no espaço ventricular é o método original descrito, sendo a técnica ainda considerada como padrão ouro de monitoração. Uma vantagem significativa deste sistema é que a drenagem de LCR pode ser usada como medida terapêutica quando existe HIC. Os sistemas para monitoração da PIC no espaço ventricular evoluíram desde a descrição da técnica por Lundberg *et al.* (1965). Atualmente os sistemas são baseados em

sensores independentes da manutenção hidrostática do sistema, sendo possível que a PIC seja monitorada mesmo que haja obstrução do cateter de drenagem de LCR. Embora a monitoração da PIC no espaço ventricular seja bastante vantajosa, seja pela maior precisão da medida ou pela possibilidade da drenagem de LCR durante regimes de HIC, as desvantagens existem: 1) O vazamento de LCR pode levar a erros de medida. 2) Há um risco maior de infecção do LCR em ventriculostomias, alcançando até 21,95% em algumas séries (Lozier *et al.*, 2008). 3) A colocação incorreta pode levar a lesões em estruturas cerebrais importantes, como a cápsula interna, tálamo e gânglios basais. A taxa de cateteres mal posicionados pode alcançar 12,3% (Saladino *et al.*, 2009). 4) A inserção do cateter em ventrículos muito pequenos, muitas vezes relacionados ao inchaço cerebral, pode ser tecnicamente mais complexa.

### **3.3.1 Microssensores na medição invasiva da PIC**

Microssensores para monitoração invasiva da PIC são classificados em microssensores de fibra óptica, extensômetros ou *strain gauge* e sensores pneumáticos.

Para microssensores de fibra óptica, como o Camino ICP Monitor<sup>®</sup> (Camino Laboratories, San Diego, EUA), luz é transmitida por meio de um cabo de fibra óptica em direção a um espelho móvel localizado na extremidade do sensor, posicionado no ventrículo ou tecido cerebral. Variações da PIC levam a mudança na posição do espelho e, as mudanças na intensidade da luz refletida, transmitidas por uma fibra óptica de retorno, são traduzidas em um valor da PIC.

Microssensores que se utilizam de extensômetros incluem o Codman Micro Sensor<sup>®</sup> (Codman, Raynham, EUA) e o Neurovent-PTO Raumedic<sup>®</sup> (Raumedic, Munchberg, Alemanha), utilizado no presente experimento. Esses sensores possuem um sistema de diafragma cuja deformação induzida pela mudança da PIC modifica a resistência do extensômetro, sendo traduzida em sinais elétricos que são amplificados e lidos, traduzindo-se em uma medida da PIC.

Sensores pneumáticos, como o Spiegelberg Silverline<sup>®</sup> (Spiegelberg, Hamburg, Alemanha), possuem um cateter/sensor preenchido por fluido em sua extremidade. A variação da PIC interfere nesse sensor, permitindo a leitura da PIC e a inferência da complacência cerebral. No entanto, essa aparente vantagem não foi corroborada por estudo com pacientes e TCE, o qual demonstrou uma deterioração progressiva da qualidade da medida de complacência cerebral (Kiening *et al.*, 2003).

Uma propriedade relevante para os dispositivos de monitoração da PIC é sua compatibilidade com o campo magnético de um aparelho de ressonância magnética (RM). Os sensores Codman Micro Sensor<sup>®</sup> (Codman, Raynham, EUA), Neurovent-PTO Raumedic<sup>®</sup> (Raumedic, Munchberg, Alemanha) e Spiegelberg Silverline<sup>®</sup> (Spiegelberg, Hamburg, Alemanha) são compatíveis com campos magnéticos. Já o Camino<sup>®</sup> ICP Monitor (Camino Laboratories, San Diego, EUA), possui elementos ferromagnéticos em sua construção que o tornam incompatível com equipamentos de RM.



Os microssensores são capazes de monitorar a PIC de modo tão preciso quanto o dispositivo hidrostático (Brain Trauma Foundation *et al.*, 2007; Raboel *et al.*, 2012). Os dispositivos hidrostáticos possuem a capacidade de recalibração do sistema a qualquer momento, sendo essa a principal vantagem em relação aos microssensores, que apresentam uma tendência de perda da precisão com o passar do tempo. No entanto, a incapacidade dos dispositivos hidrostáticos em medirem a PIC e drenarem simultaneamente LCR é uma grande desvantagem do ponto de vista operacional. Enquanto mantém a drenagem do LCR, a pressão liquórica exercida sobre o sensor hidrostático é parcial, sendo, portanto, subestimada. Nos sistemas de derivação ventricular externa (DVE) que medem a PIC pelos diferentes sistemas de microssensores, o canal de escoamento do LCR e o microssensor localizados na ponta do cateter são posicionados de forma independente, sendo a pressão do LCR exercida em sua totalidade sobre o dispositivo de medida.

### **3.4 Métodos não invasivos na monitoração da PIC**

O conceito de um método de monitoração não invasiva da PIC é interessante do ponto de vista prático e visto como o futuro próximo das técnicas de monitoração.

Vários métodos não invasivos vêm sendo desenvolvidos para monitoração da PIC podendo ser classificados em cinco categorias: dinâmica de fluídos, oftálmicas, otológicas, eletrofisiológicas e outras. Ressonância magnética, ultrassonografia Doppler transcraniana e espectroscopia no infravermelho próximo são exemplos de métodos que utilizam técnicas baseadas na dinâmica de fluídos. Essas técnicas vêm sendo utilizadas para estudos não somente da PIC, mas também do fluxo sanguíneo e complacência cerebral. Ultrassom da bainha do nervo óptico, pupilometria, tomografia de coerência óptica retiniana e oftalmodinamometria venosa são técnicas que utilizam as diversas possíveis repercussões do aumento da PIC sobre a fisiologia ocular. Isso é possível por conta da extensão da dura mater sobre a bainha do nervo óptico e comunicação entre o LCR que banha o nervo óptico e o espaço subdural encefálico. O DMT pode ser utilizado como técnica não invasiva de medição da PIC uma vez que o ouvido possui comunicação direta com o LCR por meio do aqueduto coclear, que conecta a perilinfa da cóclea com o LCR da fossa posterior.

Outras técnicas compreendem as eletrofisiológicas como potencial evocado visual e métodos eletroencefalográficos, método baseado na elasticidade da caixa craniana entre outros. A presente revisão de literatura

se concentrou nas técnicas mais disponíveis, seja devido a maior quantidade de evidências quanto à equivalência de precisão se comparados aos métodos invasivos, ou devido a facilidade operacional.

### **3.4.1 Ultrassonografia Doppler transcraniana**

A técnica de ultrassonografia Doppler transcraniana para monitoração da hemodinâmica cerebral foi introduzido por Aaslid *et al.* (1982). Utilizando um equipamento de ultrassom Doppler de 2 MHz sobre regiões de menor espessura do crânio, chamadas de janelas acústicas, ou sobre a região do forame magno, é possível medir a velocidade de fluxo sanguíneo das artérias intracranianas. Através da via temporal é possível identificar e avaliar a velocidade do fluxo sanguíneo nas artérias carótida interna (porção supraclinoídea), cerebral média (segmentos M1 e M2), cerebral anterior (segmento A1) e cerebral posterior (segmentos P1 e P2). Outras vias ultrassonográficas comumente utilizadas são as vias transorbital e suboccipital. A via transorbital permite avaliar a velocidade do fluxo sanguíneo das artérias oftálmica e carótida interna junto à região do sifão carotídeo. Pela via suboccipital avalia se o fluxo da artéria basilar e da região distal das artérias vertebrais.

Uma ampla gama de usos foi descrita para o método, incluindo detecção de vasoespasma nas hemorragias subaracnoides, detecção de êmbolos, doença oclusiva arterial, avaliação de circulação colateral, medidas de autorregulação cerebral, diagnóstico de morte encefálica e medida da PIC (Saqqur *et al.*, 2007; Ragauskas *et al.*, 2012).

Desde a introdução da técnica, diversas abordagens têm sido utilizadas no sentido de avaliar se a PIC por meio do DTC. Atualmente o método mais utilizado é baseado no índice de pulsatilidade de Gosling (IP) definido pela fórmula (Gosling e King, 1974):

$$IP = \frac{\text{Velocidade Fluxo Sangue Pico Sistólico} - \text{Velocidade Fluxo Sangue Fim Diástole}}{\text{Velocidade Fluxo Sanguíneo Médio}}$$

Com o aumento da PIC a pressão de perfusão cerebral diminui causando uma redução mais acentuada da velocidade de fluxo diastólica em comparação com a velocidade de fluxo sistólica, e levando a um aumento do IP.

Em estudo com 10 pacientes e diagnóstico de TCE, Homburg *et al.* (1993) correlacionaram medidas de PIC obtidas por método invasivo, com o IP obtido por DTC. Obtiveram uma correlação exponencial positiva entre IP e PIC com aumento de 2,4% do IP por mmHg de PIC por método invasivo e correlação  $r$  de 0,82. Em estudos semelhantes presentes na literatura observou-se correlação entre IP e PIC variando de 0,36 em estudo com TCE em 13 crianças e portanto, não correlacionados (Figaji *et al.*, 2009), a 0,94 em estudo com 81 pacientes e várias patologias levando a aumento da PIC (Bellner *et al.*, 2004). Na literatura esse estudo é o único que estabelece uma previsão estatística da variação do IP com PIC, observando uma precisão de  $\pm 2,5$  mmHg na PIC prevista pelo valor do IP, com intervalo de confiança de 95%, em relação à PIC medida invasivamente por cateter intraventricular. O estudo propõe uma equação para correlacionar PIC medida invasivamente, com o valor de IP:

$$PIC = (10,93 \times IP) - 1,28 \text{ mmHg} \pm \text{mmHg}$$

A principal limitação do DTC é a possibilidade de valores obtidos variarem em função do operador do método. Existe uma curva de aprendizado na habilidade do operador em localizar uma janela acústica adequada e obter um sinal com a profundidade e ângulo de insonação ótimos. Sendo assim, a reprodutibilidade de resultados obtidos pelo método foi questionada na literatura. No entanto, estudos posteriores demonstram uma boa reprodutibilidade de resultados entre observadores (Maeda *et al.*, 1990; McMahon *et al.*, 2007).

Além das limitações do método e de operador apontadas acima, a velocidade de fluxo e por conseguinte, o desenho da curva do pulso e IP, são influenciados por condições fisiológicas e patológicas. Essas incluem variações da pressão parcial arterial de dióxido de carbono (PaCO<sub>2</sub>), hematócrito, pressão arterial (PA), variações do calibre das artérias e microangiopatia. Sedação é outro fator capaz de alterar o fluxo sanguíneo cerebral, a depender do tipo de anestésico utilizado. A medida do IP deve sempre ser interpretada à luz desses diversos fatores.

Ainda na literatura, existe a discussão sobre a possibilidade do IP refletir melhor a PIC ou a pressão de perfusão cerebral (PPC). Estudo de Zweifel *et al.* (2012) demonstrou que em uma coorte de 209 pacientes com diagnóstico de TCE, após avaliação de PIC medida com técnica invasiva e IP obtida por DTC, os valores de PIC eram preditos com precisão de 95% dentro de um intervalo de  $\pm 15$  mmHg para a PIC e de  $\pm 25$  mmHg para a PPC.

A técnica continua sendo desenvolvida, e abordagens de modo a interpretar melhor o desenho da onda de pulso vêm sendo desenvolvidas na tentativa de se estabelecer uma melhor correlação com aumento da PIC, queda da PPC ou diminuição do fluxo sanguíneo cerebral (Hu *et al.*, 2010).

Pode-se concluir que o DTC é útil como ferramenta para identificar pacientes com aumento da PIC em um cenário de atendimento inicial, uma vez que é facilmente acessível podendo ser realizado rápida e imediatamente à beira do leito, demonstrando uma correlação aceitável quando comparado com a medida de PIC obtida com os métodos invasivos.

#### **3.4.2 Ultrassom da bainha do nervo óptico**

O exame oftalmoscópio é parte rotineira do exame neurológico e parte significativa dele é focado na pesquisa de sinais de HIC. Sinais como edema do disco óptico, borramento e bordas elevadas da papila são sinais de HIC, sendo, no entanto, encontrados em fases tardias de sua evolução. Além disso, considerando que mesmo o borramento de papila é um sinal incomum em pacientes com HIC de início recente, uma papila normal não exclui a presença de HIC.

Métodos para avaliação da PIC por meio da fisiologia ocular vêm sendo desenvolvidos recentemente. O nervo óptico é considerado parte do sistema nervoso central e o compartimento subaracnoide de sua bainha nervosa contém LCR e se comunica com o espaço subaracnoide do encéfalo. A PIC é transmitida via espaço subaracnoide ao nervo, causando expansão da bainha nervosa e aumento de seu diâmetro.

O UBNO utiliza um transdutor de 5 MHz a 10,5 MHz posicionado sobre a pálpebra superior. A região anterior da bainha do nervo óptico é considerada mais sensível a variações de PIC, quando comparada às porções posteriores do nervo. Desse modo medidas realizadas a uma profundidade de 3 mm após a saída do nervo do globo ocular, são consideradas mais precisas (Major *et al.*, 2011). A técnica tem uma curva de aprendizado favorável, com alta concordância entre observadores (Bäuerle *et al.*, 2012).

Vários estudos estabeleceram correlação direta entre medidas obtidas com o UBNO e dispositivos invasivos para medição da PIC, obtendo coeficientes de correlação entre 0,46 e 0,74 (Geeraerts *et al.*, 2007; Strumwasser *et al.*, 2011).

Estudo realizado na Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo por Jeng (2019), utilizando o mesmo modelo experimental com 30 animais, procurou avaliar a correlação entre as medidas de PIC obtidas pelo UBNO e monitoração invasiva. Foram medidos simultaneamente o diâmetro da bainha do nervo óptico com ultrassom e a PIC com cateter intracerebral, além de dados laboratoriais e hemodinâmicos dos animais. Os valores foram correlacionados entre si para definir a aplicação deste procedimento em diferentes situações clínicas de HIC. As médias dos diâmetros das bainhas dos nervos ópticos obtidas por UBNO foram estatisticamente significantes para prever o valor de PIC, estabelecendo-se a função linear:

$$PIC = 238,2 \times \text{Diâmetro Nervo Óptico} - 80,5$$

Uma desvantagem do método consiste na presença de várias condições que alteram o diâmetro do nervo óptico, como por exemplo hipertireoidismo e sarcoidose. Pacientes com glaucoma e catarata foram excluídos dos principais estudos populacionais, sendo incerto se a técnica é aplicável em pacientes com esses diagnósticos tão prevalentes. Além disso, lesões da órbita e do nervo óptico, presentes em até 10% de todos os TCEs, podem tornar a técnica do UBNE inutilizável nessas circunstâncias (Soldatos *et al.*, 2009).

No presente momento de desenvolvimento da técnica ela não se mostra precisa o suficiente para substituir os métodos invasivos na prática clínica. No entanto, estudo observacional com 536 medidas de bainha de nervo óptico realizadas por intensivistas demonstrou sensibilidade de 96% e especificidade de 94% para detecção de HIC (> 20 mmHg) em um grupo heterogêneo de pacientes com TCE demonstrando que a técnica pode ser utilizada como método de triagem para HIC em cenários onde não existe a disponibilidade de métodos invasivos para medição de PIC (Rajajee *et al.*, 2011).



### 3.4.3 Deslocamento da membrana timpânica

Técnicas audiológicas para medir a PIC são baseadas na estreita relação entre a pressão do LCR e a pressão do fluido coclear. A PIC é transmitida ao fluido coclear através do aqueduto coclear.

O deslocamento da membrana timpânica foi o primeiro método audiológico proposto para avaliação da PIC de forma não invasiva. A técnica é baseada nas medições da DMT obtidas em resposta ao desencadeamento do reflexo acústico. O reflexo acústico é desencadeado por estimulação sonora, a qual induz a contração do músculo estapédio e por sua vez, provoca um movimento do estribo. O estribo repousa sobre a janela oval, onde sua posição é determinada pela pressão do líquido coclear e, portanto, pela pressão do LCR. Desse modo, uma variação na pressão do líquido coclear induz alterações na dinâmica da movimentação do estribo e conseqüentemente, da membrana timpânica. Um transdutor fica conectado a um fone posicionado junto ao meato acústico externo do paciente. Um estímulo de 1000 Hz com pressão sonora de 100, 110 e 115 decibéis estimula uma contração controlada do musculo estapédio e movimentação dos ossículos e membrana timpânica. Mudanças da pressão perilinfática são quantificadas indiretamente em função do máximo deslocamento interno da membrana timpânica e do deslocamento médio, medidos enquanto o estímulo sonoro é aplicado (Marchbanks *et al.*, 1987).

Em um estudo clínico conduzido por Reid *et al.* (1990), 58 pacientes com vários distúrbios neurológicos foram avaliados usando DMT. Em 17 desses pacientes compararam os valores de PIC obtidos por DMT com a

PIC obtida de forma invasiva concluindo que a DMT identificou corretamente a PIC como alta ou normal em 76% dos pacientes e incorretamente em 13%, não se determinando os valores absolutos da PIC.

Outro estudo, conduzido por Shimbles *et al.* (2005) testou a técnica em 148 pacientes com hidrocefalia e hipertensão intracraniana benigna e em 77 controles saudáveis. A técnica foi aplicada com sucesso em 70% dos indivíduos saudáveis, mas em apenas 40% na população de pacientes. Observou-se que a baixa taxa de sucesso deveu se principalmente ao fato de o ducto perilinfático ser menos patente com a idade, principalmente após os 40 anos. Além disso, um subgrupo de casos na população de pacientes foi submetido a monitoração invasiva da PIC durante o experimento. Foi encontrada uma correlação entre os valores de PIC medidos invasivamente e a DTM. No entanto, obteve se limites preditivos da regressão linear muito amplos ( $\pm 25$  mmHg), de modo a estabelecer com sucesso uma medida clinicamente útil da PIC.

Além do ponto citado acima, outras limitações do método de DMT são encontradas. Uma delas é que, com um reflexo estapediano ausente, não haverá deslocamento da membrana. O reflexo estapediano ausente ocorre em disfunções do tronco cerebral e da orelha média e também devido ao uso de relaxantes musculares e sedação, uma situação comum em Unidades de Terapia Intensiva (UTIs). Um aqueduto coclear patente também é crucial. Como os estudos anatômicos mostram resultados variados sobre a patência de aquedutos na população geral, a perviedade precisa ser testada (Tekdemir *et al.*, 2000). Esse teste, juntamente com outros necessários

prolonga o tempo total do exame de DMT, durando aproximadamente de 45 a 60 minutos, requerendo ainda um audiologista experiente para obter resultados válidos, o que dificulta sobremaneira seu uso na prática clínica.

### **3.5 Revisão dos mediadores de inflamação expressos no tecido cerebral**

Os insultos secundários que ocorrem após a agressão inicial ao tecido cerebral resultam de uma interação complexa de fatores e substâncias, incluindo alterações no fluxo sanguíneo cerebral, alterações bioquímicas, edema, estresse oxidativo, liberação de mediadores citotóxicos, inflamação, apoptose e necrose. Inflamação é um fator predominante na lesão secundária ao tecido neural. Citocinas produzidas sistemicamente, além da microglia e macrófagos recrutados, são fundamentais nesse processo. O papel das citocinas na neuroinflamação tem sido extensivamente estudado por diversos pesquisadores, no entanto poucos estudos tentaram correlacionar as concentrações dessas substâncias com fatores clínicos de severidade do TCE, em especial HIC.

Citocinas são proteínas pequenas e de meia vida curta, produzidas por leucócitos e células gliais. Existe um grande número de diferentes citocinas, muitas com funções sobrepostas, que formam uma complexa rede de mediadores inflamatórios. Citocinas que desencadeiam ou propagam uma resposta inflamatória são chamadas de pró inflamatórias, enquanto citocinas que inibem a resposta inflamatória são analogamente chamadas de anti-inflamatórias. O padrão de expressão de cada citocina, após a injúria do

tecido cerebral, tem o potencial de fornecer informação sobre a extensão da lesão, podendo ser rápida e facilmente medido via ensaios imunológicos. No entanto, as concentrações de citocinas variam dependendo do tecido ou fluido onde são medidas e o padrão temporal de resposta imune do tecido cerebral humano e de modelos experimentais podem apresentar diferenças.

Embora não seja tão específico à lesão neurológica, o processo inflamatório foi escolhido como bom candidato para a identificação de biomarcadores que possam ser úteis na detecção do desenvolvimento da HIC devido à ampla disponibilidade de ensaios e seu papel vital nas lesões secundárias. O processo de inflamação no tecido nervoso é excepcionalmente complexo e nenhuma molécula foi ainda identificada como totalmente benéfica ou prejudicial para o tecido neuronal.

### **3.5.1 Interleucinas 1 (IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-1ra)**

A família de citocinas IL-1 desempenha um importante papel no SNC incluindo a regulação da produção de outras citocinas, indução de febre e estímulo da fagocitose e da morte celular programada (Dinarello, 2011). Modelos experimentais com camundongos sugerem que as IL-1 induzem neurodegeneração aguda e induzem a morte celular por meio do aumento de atividade convulsiva (Patel *et al.*, 2003).

A família das IL-1 inclui as agonistas IL-1 $\alpha$  e IL-1 $\beta$  e a antagonista IL-1ra. Dessas, a IL-1 $\beta$  é a mais estudada no contexto do TCE, sendo uma citocina pró-inflamatória implicada na liberação de fosfolipase 2, prostaglandinas e na ativação da ciclo-oxigenase 2. A ação primária da IL-1 $\beta$

é a regulação da liberação de outras citocinas, além de ter um papel na apoptose, adesão de leucócitos a células endoteliais, formação de edema e abertura da BHE (Benveniste, 1998).

As IL-1 medidas no LCR e no sangue apresentam resultados variados quando avaliadas até 6 meses após lesão do tecido cerebral. Em um estudo com 32 homens e mulheres adultos e TCE grave, concentrações mais baixas de IL-1 $\beta$  no LCR até 5 dias após o TCE foram associadas a resultados neurológicos mais favoráveis após 6 meses do evento, com pontuações medidas pelo *Glasgow Outcome Score* (GOS) de 4 e 5 (Nwachuku *et al.*, 2016). No entanto, outro trabalho demonstrou que não havia diferenças significativas nas concentrações sanguíneas de IL-1 $\beta$  quando avaliadas em pacientes do sexo masculino no período de 48 horas após TCE grave, em comparação com pacientes controle (Ferreira *et al.*, 2014).

Embora mudanças na expressão de IL-1 $\beta$  no LCR e plasma após lesão aparentem ser pequenas, tentativas foram feitas de modo a correlacionar concentrações de IL-1 $\beta$  e desfecho clínico. Concentrações séricas de IL-1 $\beta$  medidas 6 horas após TCE correlacionaram com a gravidade do TCE em 48 pacientes (Taşçi *et al.*, 2003).

Outra consideração importante é a proporção da concentração entre as diferentes citocinas da família IL-1 na lesão tecidual cerebral. A IL-1ra se liga ao receptor para IL-1 e bloqueia os efeitos inflamatórios da IL-1 $\alpha$ , causando um efeito considerado neuroprotetor. Sendo assim, desfechos clínicos piores foram associados a concentrações mais baixas de IL-1ra no

LCR coletado em até 4 dias de pacientes após TCE grave. Além disso, os piores resultados foram relacionados à menor proporção de IL-1ra/IL-1 $\alpha$  (1:3487), enquanto os maiores índices de IL-1ra/IL-1 $\beta$  (1:933) foram associados a melhores resultados (Hutchinson *et al.*, 2007).

### **3.5.2 Interleucina 6**

A IL-6 é uma citocina multifuncional que possui propriedades pró e anti-inflamatórias, dependendo da via de sinalização que está regulando. A produção de IL-6 é facilitada pela microglia e astrócitos ativados durante a inflamação do tecido cerebral. No geral, a IL-6 é considerada o principal regulador das respostas inflamatórias, agindo na defesa de curto prazo contra infecções e lesões teciduais e sinalizando o sistema imunológico contra a fonte de inflamação. Em modelo experimental, a IL-6 mostrou ter um papel protetor, mantendo a sobrevivência de neurônios medulares de ratos, criados em cultura de tecidos (Kushima e Hatanaka, 1992).

No entanto, em trabalho clínico, elevações da concentração sanguínea de IL-6 em até 48 horas após TCE grave foram relacionados com piores desfechos no longo prazo. Em estudo prospectivo com uma coorte de 24 pacientes do sexo masculino e TCE grave, as concentrações plasmáticas de IL-6 foram significativamente elevadas em não sobreviventes se comparadas com aqueles que sobreviveram ao TCE (Ferreira *et al.*, 2014). Da mesma forma, as concentrações séricas de IL-6 medidos em uma coorte de paciente de ambos os sexos e TCE grave indicaram que as maiores concentrações de IL-6 foram encontradas no primeiro dia após o trauma,

havendo uma correlação estatisticamente significativa entre maiores concentração iniciais e piores prognósticos associados à falência de múltiplos órgãos, sepse e maus resultados neurológicos (Lustenberger *et al.*, 2016). Em outro estudo, com uma coorte composta principalmente por pacientes do sexo masculino (76,2%), as concentrações séricas e em LCR de IL-6, foram mais altas em 24 a 28 horas após o TCE, sendo também associadas a desfechos desfavoráveis (Yan *et al.*, 2014).

Outros estudos com pacientes de TCE grave concentraram-se em quantificar desfechos neurológicos usando a GOS, obtendo concentrações mais altas de IL-6 associados a resultados desfavoráveis, indicados por escores mais baixos de GOS. As concentrações séricas de IL-6 em uma coorte, majoritariamente masculina (97,7%) e TCE grave, mostraram que um aumento na IL-6 estava correlacionado com um resultado desfavorável, indicado por escores na GOS de 1 a 3, 6 meses após a lesão (Yousefzadeh-Chabok *et al.*, 2015).

Concentrações mais altas de IL-6 no LCR também foram associadas com escores desfavoráveis de GOS (1 a 3) em 6 e 12 meses após TCE grave em uma coorte de homens e mulheres adultos (Kumar *et al.*, 2015a).

A IL-6 sérica foi ainda identificada como um possível biomarcador capaz de prever elevação da PIC em pacientes com TCE isolado (Hergenroeder *et al.*, 2010). Em uma coorte de indivíduos com TCE grave, concentrações séricas de IL-6 elevados foram capazes de prever elevação da PIC em 85% dos pacientes com diagnóstico de TCE isolado. Por outro lado, as concentrações de IL-6 não tinham valor prognóstico em antecipar os

níveis de PIC em indivíduos com politraumatismo associados a TCE grave. Enquanto os estudos revisados usaram várias amostras (por exemplo, LCR, soro e plasma), todos os estudos mostraram uma conclusão semelhante, mostrando concentrações aumentadas de IL 6 associadas a desfechos neurológicos desfavoráveis. Isso sugere que as concentrações de IL-6 têm o potencial de servir como biomarcadores prognósticos da recuperação de pacientes com TCE graves. No entanto sua falta de especificidade não permite discernir entre lesão cerebral e lesões periféricas, limitando seu uso no contexto clínico, em pacientes politraumatizados.

### **3.5.3 Interleucina 8**

Interleucina 8 (IL-8) é uma citocina pró-inflamatória com propriedades quimiotáticas, sendo secretada pelas células gliais, macrófagos e células endoteliais. É um importante mediador da ativação e quimiotaxia de neutrófilos, sendo liberado pelos astrócitos em resposta a outras citocinas, incluindo IL-1 $\beta$  e TNF, ambas expressadas momentos após lesão cerebral.

Em humanos, a IL-8 é presente em concentrações muito baixas. Concentrações fisiológicas de IL-8 no plasma são de 5 pg/mL a 18 pg/mL e no LCR, 5 pg/mL a 72 pg/mL (Maier *et al.*, 2001). Picos de concentração de IL-8 são presentes no LCR após TCE, com dosagens atingindo até 29.000 pg/mL. Aumentos da concentração plasmática de IL-8 após TCE também foram reportadas, porém de menor magnitude, sendo encontrados picos de concentração de aproximadamente 100 pg/mL em TCE grave (Csuka *et al.*, 1999).



Picos de IL-8 no LCR foram relacionados com aumento de mortalidade. Em um estudo, LCR foi obtido de 27 crianças que sofreram TCE grave, sete com diagnóstico de meningite e 24 crianças sem esses diagnósticos. O aumento na concentração de IL-8 no LCR das crianças com diagnóstico de TCE foi semelhante ao das crianças com meningite. O aumento da expressão de IL-8 persistiu por vários dias e uma correlação significativa foi verificada entre IL-8 e mortalidade (Whalen *et al.*, 2000).

Embora concentrações plasmáticas de IL-8 sejam mais baixas que sua concentração no LCR, vários trabalhos demonstraram correlação entre concentração periférica de IL-8 e resultados clínicos pós-TCE. Estudo com medidas séricas de IL-8 e proteína S-100B na admissão e após 12 horas em 20 pacientes com diagnóstico de TCE demonstrou piores desfechos medidos pela GOS após 12 meses, em pacientes com maiores concentrações de ambas (Mussack *et al.*, 2002). Mais recentemente, esse resultado foi corroborado por trabalho em que amostras de sangue periférico de 28 pacientes pediátricos com diagnóstico de TCE foram coletadas 24 horas após o trauma e correlacionou maiores concentrações de IL-8 à admissão com GOS abaixo de 4, 6 meses após o evento (Lo *et al.*, 2010).

Em resumo, a maioria dos estudos atuais analisou as concentrações de IL-8 no sangue ou LCR. A coleta de amostras variou de coleta na admissão, um único momento durante a hospitalização ou em vários momentos (entre 1 e 5 dias após a lesão). Embora a variação no protocolo de coleta possa influenciar as concentrações de IL-8, os estudos revisados concluíram que concentrações mais altas de IL-8, no sangue ou LCR, estavam associadas a piores desfechos clínicos.

### 3.5.4 Interleucina 10

A IL-10 é considerada primariamente uma citocina anti-inflamatória, possuindo um potente efeito inibitório na produção de vários mediadores pró-inflamatórios, entre essas a IL-1 $\beta$  e TNF, mas também IL-1 $\alpha$ , fator estimulante de colônia granulócito-macrófago, IL-6, IL-8, interleucina 12 (IL-12) e interleucina 18 (IL-18) (Woodcock e Morganti-Kossmann, 2013). A inibição da IL-1 $\beta$  e TNF é sua função mais importante, considerando se o papel central no início e propagação da resposta inflamatória que possuem essas citocinas.

Embora as propriedades anti-inflamatórias da IL-10 sejam bem estabelecidas, existem poucos trabalhos experimentais demonstrando o perfil de expressão da IL-10 em lesões do SNC. Estudos demonstraram aumento da expressão de IL-10 em tecido cerebral de ratos 4 horas após lesão cerebral simulando um TCE fechado difuso e mantendo se elevados até 20 horas após (Knoblach *et al.*, 1999). No entanto, outro trabalho demonstrou redução da expressão de IL-10 em tecido cerebral de ratos 1 dia após lesão por um modelo de trauma fechado focal (Lee *et al.*, 2012). Esses resultados sugerem que essa citocina anti-inflamatória pode representar um papel principalmente na fase tardia pós-agressão ao tecido cerebral. A diferença entre ambos os estudos indica ainda que possa haver uma diferença no padrão de expressão da IL-10 baseado no tipo de lesão.

Em humanos, concentrações elevadas de IL-10 foram correlacionadas com gravidade da lesão. Em estudo de uma coorte composta predominantemente de pacientes do sexo masculino com

diagnóstico de TCE classificados de moderados a graves conforme a pontuação na escala de coma de Glasgow (GCS), a afirmação acima foi corroborada (Di Battista *et al.*, 2016).

Concentrações séricas elevadas de IL-10 também foram associados à mortalidade. Em uma amostra de pacientes com TCE grave, as taxas de mortalidade foram até seis vezes maiores em indivíduos com concentrações mais altas de IL-10 (> 90 pg/mL) em comparação com aqueles com concentrações mais baixas de IL-10 (< 50 pg/mL) (Schneider Soares *et al.*, 2012). Concentrações elevadas de IL-10 também foram correlacionados com a gravidade do TCE medida em função da GCS, disfunção da BHE quando avaliada por uma proporção da concentração de IL-10 em LCR *versus* plasma, e mortalidade, no TCE grave (Kirchhoff *et al.*, 2008).

Uma diferença notável entre esses estudos é o momento de coleta das amostras. Estudos indicando concentrações elevadas de IL-10 e sua associação com a mortalidade coletaram várias amostras em momentos variados até 96 horas após a lesão. Em contraste, achados de estudo com amostras colhidas em um único momento 6 horas após a lesão, sugerem que as concentrações de IL-10 não estavam relacionadas a resultados desfavoráveis (Yousefzadeh-Chabok *et al.*, 2015). Quando analisada conjuntamente com o perfil de outras citocinas, a IL-10 pode ser considerada como um marcador independente para o prognóstico do TCE, no entanto pesquisas adicionais poderiam explorar o impacto do tempo de coleta de amostras nas concentrações e estabelecer um padrão de curva de expressão dessa citocina no TCE.

### 3.5.5 Fator de Necrose Tumoral $\alpha$

O Fator de Necrose Tumoral  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ) é uma citocina com potente função pró-inflamatória e regulatória da cascada de citocinas durante a resposta inflamatória. É produzida primariamente por células do sistema imune como monócitos e macrófagos, mas também pela micróglia e astrócitos. O TNF $\alpha$  e seus receptores são essenciais para diversos processos cerebrais, incluindo formação e regulação de sinapses, neurogênese e manutenção do sistema nervoso central (Montgomery e Bowers, 2012). Durante estados inflamatórios, o TNF- $\alpha$  media a progressão do processo, intermediando a gliose, desmielinização, inflamação, deterioração da barreira hematoencefálica e morte celular (Zhang e An, 2007).

Estudos em modelos experimentais com TCE inicialmente demonstraram um efeito deletério do aumento da expressão do TNF $\alpha$  (Shohami *et al.*, 1996; Trembovler *et al.*, 1999). No entanto, trabalhos com modelos experimentais empregando camundongos geneticamente modificados para não expressão de receptores de TNF $\alpha$  demonstraram maior mortalidade e aumento do tempo de recuperação do trauma quando submetidos a TCE focal (Stahel *et al.*, 2000).

Estes achados, aparentemente contraditórios, refletem resultados encontrados em estudos com outras citocinas e modelos de lesão cerebral, demonstrando a eventual ação das citocinas como pró e anti-inflamatórias, a depender do momento avaliado durante o processo de inflamação (Woodcock e Morganti-Kossmann, 2013).

Estudos em humanos demonstraram aumento de TNF $\alpha$  em LCR e plasma após TCE (Goodman *et al.*, 1990). Em estudo mais recente a concentração de TNF foi medida em LCR e plasma de pacientes vítimas de TCE em intervalos de 24 horas, encontrando se aumento significativo de TNF $\alpha$  em comparação aos controles (Csuka *et al.*, 1999). Em humanos as medidas de TNF $\alpha$  em LCR tendem a subir e se manter aumentadas ao longo de 3 dias a 3 semanas após a agressão do tecido cerebral, comparando se a rápidas flutuações de suas concentrações quando medidas em tecido cerebral de modelos experimentais submetidos a TCE. Isso pode ser reflexo de diferentes mecanismos de metabolismo das citocinas e sua degradação em ambientes distintos. Inclusive estudos demonstraram que mRNA codificador de TNF $\alpha$  podem ser detectados em tecido cerebral de pacientes vítimas de TCE que evoluíram para óbito em até 17 minutos após o trauma (Frugier *et al.*, 2010). Em outro estudo amostras de LCR foram analisados em 23 pacientes vítimas de TCE e encontrou se pico de TNF $\alpha$  de 20 pg/mL a 30 pg/mL em até 24 horas; em seguida os autores tentaram analisar eventuais associações entre concentrações de TNF $\alpha$  com aumento da PIC e desfechos desfavoráveis (GOS < 4 após 6 meses), no entanto não se encontrou correlação (Hayakata *et al.*, 2004). Em estudo subsequente, o mesmo grupo mediu TNF $\alpha$  em LCR e plasma de 35 pacientes vítimas de TCE, com ou sem outras lesões traumáticas em exatamente 6 horas após o trauma (Shiozaki *et al.*, 2005); os resultados mostraram concentrações mais altas de TNF $\alpha$  em amostras de LCR do que nas de plasma, independente da presença de

trauma adicional. Novamente os autores não encontraram correlação entre medidas de TNF $\alpha$  e GCS, PIC ou desfecho neurológico.

Ainda com relação à procura de uma correlação entre variações de citocinas e PIC em humanos, estudo com amostras de plasma e LCR de 24 pacientes, colhidas com intervalo de 12 horas ao longo de 7 dias após TCE grave e monitoração contínua de PIC e PPC demonstrou aumento de concentração plasmática de TNF $\alpha$  e não da concentração em LCR correlacionada a aumento da PIC ou queda da PPC (Stein *et al.*, 2011).

Ao se revisar a literatura pode-se inferir que agressões ao tecido neural, independentemente da causa ser traumática, isquêmica ou hipertensão intracraniana, ativam o sistema imunológico desencadeando uma série de respostas interconectadas, complexas e tempo dependentes, criando um desafio especial ao tentarmos isolar uma relação linear de causa e efeito entre componente de agressão tecidual e citocina específicas.

## **4 MÉTODOS**

O presente estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP) em reunião de 15 de julho de 2015 sob protocolo número 113/15, encontrando-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899 de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA) (Anexo A). Ressalta-se que em nenhuma etapa da experimentação os animais foram submetidos a condições de sofrimento ou dor.

#### **4.1 Animais**

Foram estudados 20 suínos adultos (*Sus domesticus*), híbridos das raças Landrace, Duroc e Pietrain, divididos em dois grupos de 10 animais de gênero masculino e 10 animais de gênero feminino. Os animais selecionados apresentavam ao redor de 60 dias de vida e possuíam entre 17,0 kg e 42,3 kg de peso corporal. Os animais foram transportados para as instalações da FMUSP no dia do experimento. Os experimentos foram realizados entre 25 de fevereiro de 2013 e 10 de novembro de 2015.



#### **4.2 Preparação do animal: anestesia e monitoração**

Os suínos foram inicialmente submetidos a 12 horas de jejum, com livre acesso a água até uma hora antes do experimento.

A técnica anestésica empregada em todos os animais utilizou como medicação pré-anestésica Quetamina (Ketamin-S<sup>®</sup>, Cristália) na dose de 5 mg/kg e Midazolam (Dormire<sup>®</sup>, Cristália) na dose de 0,25 mg/kg, ambos aspirados em mesma seringa e administrados por via intramuscular.

Após decorridos 15 minutos para instalação de efeito sedativo, foi estabelecido acesso venoso por meio da cateterização da veia marginal da orelha utilizando cateter vascular de calibre 20 ou 22 (BD Insyte<sup>®</sup>, Becton Dickinson).

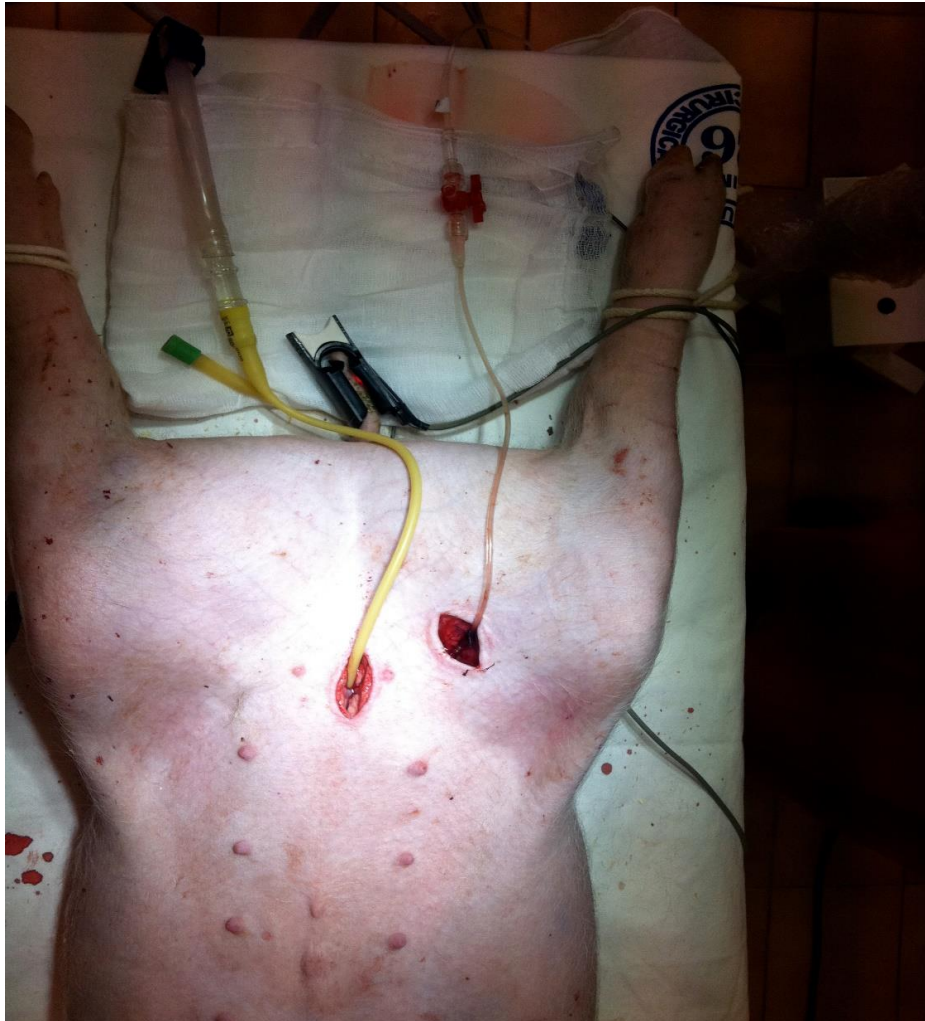
Uma vez estabelecido acesso venoso, a indução anestésica foi realizada com aplicação de Propofol (Provive<sup>®</sup> 1%, Claris) na dose de 5 mg/kg, associado a um volume inicial de 20mL/kg de solução fisiológica (NaCl 0,9%) para compensação da perda volêmica relativa ao jejum.

Induzida a anestesia, os animais foram intubados com sonda endotraqueal de diâmetro 6 mm (Portex<sup>®</sup>), sendo o efeito anestésico mantido com Propofol (Provive<sup>®</sup> 1%, Claris) na dose de 3 mg/kg/h por via intravenosa (IV). A analgesia foi mantida com Fentanil (Fentanest<sup>®</sup>, Cristália) em uma dose inicial de 5 µg/kg, seguida de infusão contínua de 0,4 µg/kg/min, também por via IV.

Os animais foram então conectados a ventilação mecânica controlada, ciclada a volume (Ventilador Dixtal<sup>®</sup> 5010), mantendo volume corrente (VC) de 10mL/kg, fração inspirada de oxigênio (FIO<sub>2</sub>) de 0,50 e

pressão positiva expiratória final (PEEP) de 5 cmH<sub>2</sub>O. Os parâmetros ventilatórios foram ajustados para manutenção da pressão parcial de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) em sangue arterial (PaCO<sub>2</sub>) entre 35 mmHg e 45 mmHg, da pressão parcial de oxigênio (O<sub>2</sub>) em sangue arterial - pressão parcial arterial de oxigênio (PaO<sub>2</sub>) entre 100 mmHg-150 mmHg e do pH entre 7,35-7,45. A adequação da ventilação foi avaliada pela medida contínua da pressão final de dióxido de carbono expirado (EtCO<sub>2</sub>), pela saturação periférica da hemoglobina por meio de oximetria de pulso (SpO<sub>2</sub>) e pela medida dos gases em amostras de sangue arterial.

A artéria femoral direita foi cateterizada para monitoração da pressão arterial média (Figura 3). Os dados hemodinâmicos foram coletados pelo monitor multiparâmetros (Monitor Portal DX 2020, Dixtal®). A partir desse acesso venoso localizado na artéria femoral direita exames de gasometria arterial (amostras com volume de 0,3 mL) foram colhidas, a fim de se monitorar os parâmetros ventilatórios e a manutenção dos parâmetros fisiológicos, totalizando quatro coletas de gasometria arterial durante o procedimento.



**Figura 3 - Animal preparado com cateterização de veia femoral e sondagem vesical**

Ao longo do experimento os animais foram mantidos hidratados com solução fisiológica (NaCl 0,9%) ao ritmo de 5 mL/kg/hora. Foi realizado cateterismo vesical por cistostomia para monitoração de diurese e otimização de balanço hídrico.

A temperatura central foi mantida entre 37 °C-38 °C com a utilização de um colchão térmico e soluções de hidratação previamente aquecidas.

Ao final do preparo, o plano subcutâneo do local da incisão craniana foi anestesiado com lidocaína a 2% (Xylestesin® 2%, 20 mg/mL), de modo a reduzir o uso de anestésicos intravenosos durante o experimento.

### 4.3 Procedimento experimental

Foi simulado um processo expansivo intracerebral conforme descrito em trabalho publicado pelo Laboratório de Cirurgia Experimental (LIM) 26 da FMUSP e pela Divisão de Neurocirurgia da FMUSP (Andrade *et al.*, 2013) e modificado de modo a se adequar às necessidades deste protocolo de pesquisa. Este método, com variações, foi utilizado em outras teses de doutorado (Patriota, 2017) e livre-docência (Paiva, 2014).

O procedimento foi iniciado com uma incisão cutânea frontotemporal com o objetivo de expor o hemicrânio direito do animal. Após rotação do flape cutâneo foi realizada trepanação óssea, localizada 1 cm lateral a sutura sagital e 1 cm anterior a sutura coronal, por onde foi introduzido o cateter intracerebral com multisensor (Neurovent-PTO, Raumedic®, Munchberg, Alemanha) (Figura 4), capaz de analisar PIC, pressão tecidual de oxigênio (Pt*i*O<sub>2</sub>) e temperatura cerebral. A extremidade desse cateter foi posicionada na substância branca do lobo frontal direito a uma profundidade de aproximadamente 10 mm em relação à borda da trepanação.



Figura 4 - Extremidade do cateter Neurovent-PTO Raumedic® utilizado nos experimentos

Uma segunda trepanação óssea localizada 1 cm lateral à sutura sagital e 1 cm posterior à sutura coronária, com diâmetro de 3 mm (Figura 5), permitiu a introdução de uma sonda vesical pediátrica tamanho 8 Fr inclinada junto ao plano lateral em 20 graus (Figura 6), atingindo uma profundidade de 2 cm em relação à borda da trepanação, tendo sua extremidade posicionada junto à substância branca frontal direita.

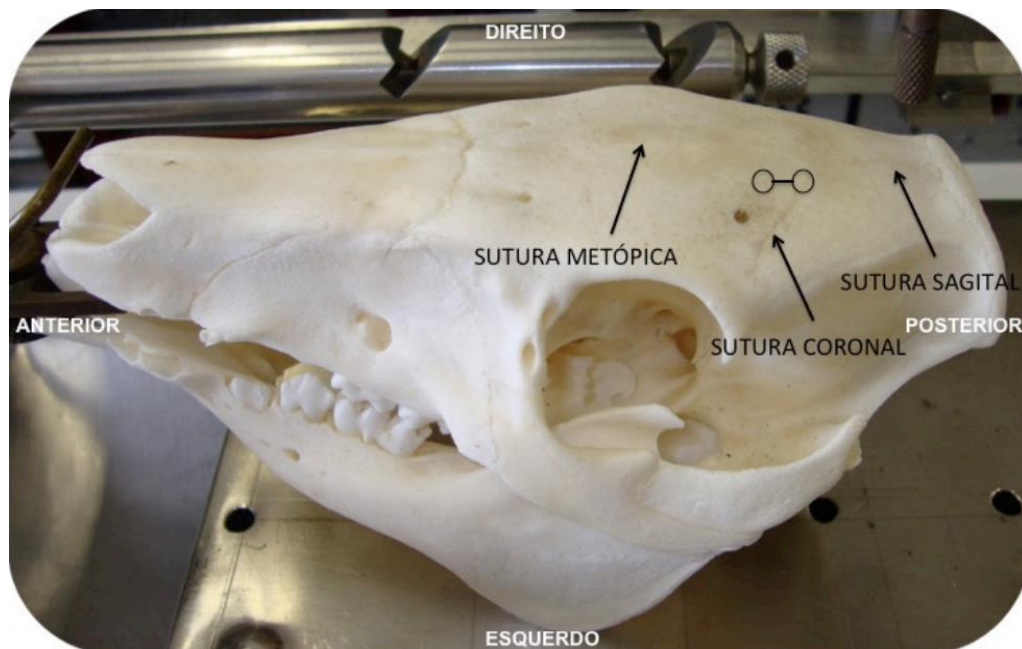
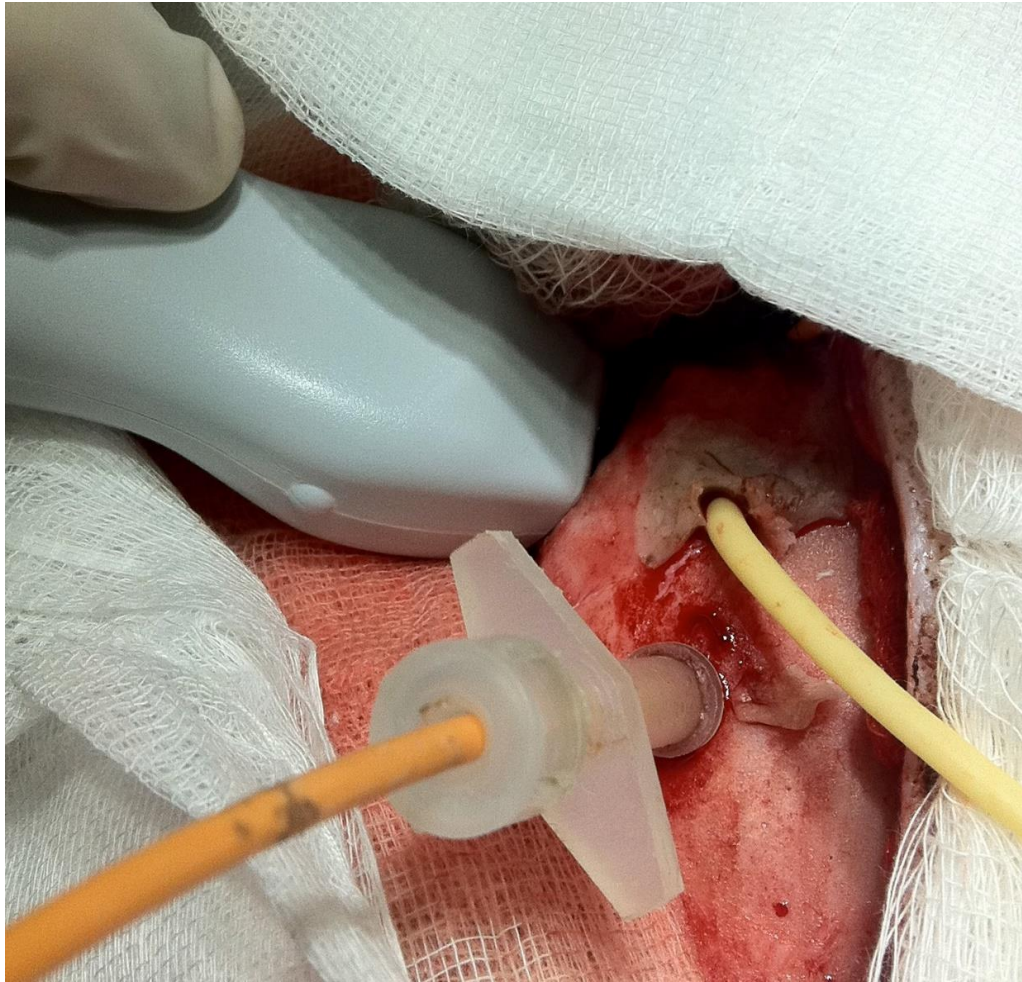
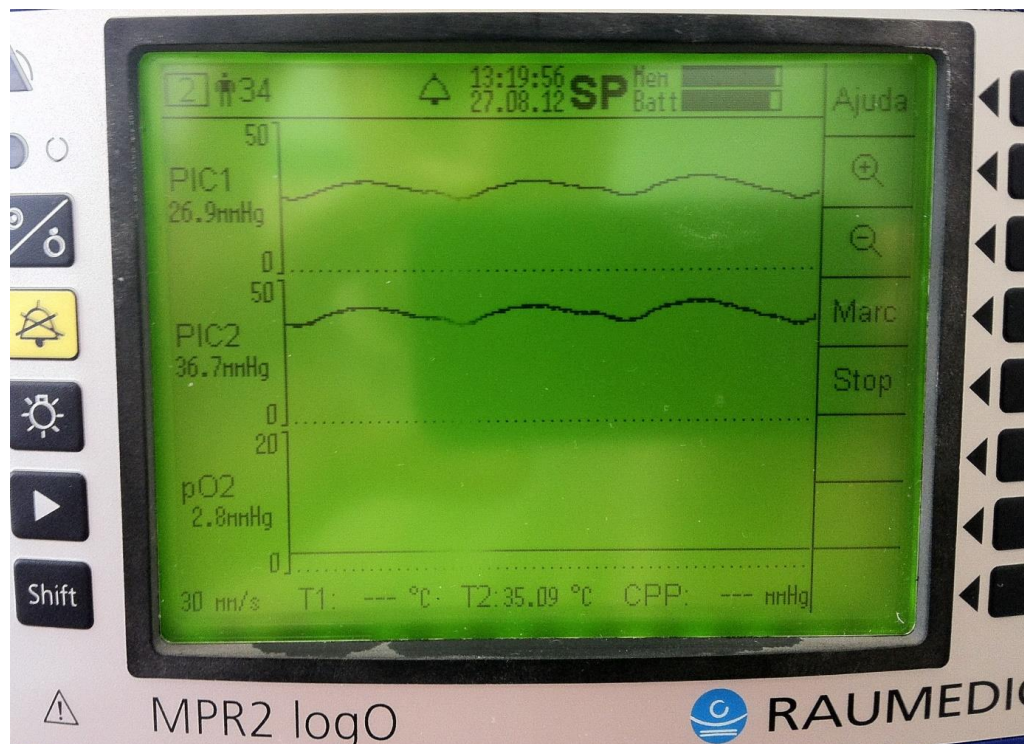


Figura 5 - Crânio de animal com reparos anatômicos [Fonte: Patriota, 2017]



**Figura 6 - Aspecto do crânio do animal preparado com monitor de PIC e sonda vesical**

Em todos os experimentos, na primeira hora após finalizado a monitoração e preparo do animal, foram calibrados os parâmetros normais de pressão parcial de oxigênio atmosférica (150 mmHg) e temperatura do meio ambiente. A instalação intracerebral do cateter multisensor registrou a  $P_{tiO_2}$  e a temperatura cerebrais iniciais, sendo então feita a calibração da PIC (Figura 7). Foram medidos ainda a temperatura corporal, os parâmetros hemodinâmicos sistêmicos de frequência cardíaca (FC), pressão arterial sistólica (PAS), diastólica (PAD) e média (PAM), parâmetros ventilatórios de saturação de oxigênio ( $SO_2$ ) e dióxido de carbono expirado ( $EtCO_2$ ).



**Figura 7 - Tela do monitor de PIC demonstrando curva de pressão durante o experimento e medidas de PtIO<sub>2</sub> e temperatura cerebral**

Decorrida 1 hora após o primeiro registro de todos os parâmetros citados e conferência de bom funcionamento da monitoração, foi coletada a primeira amostra de sangue periférico arterial em tubo contendo o anticoagulante ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA). Os parâmetros laboratoriais de hemoglobina (Hb), hematócrito (Ht), potencial hidrogeniônico (pH), pressão parcial de dióxido de carbono (pCO<sub>2</sub>) e pressão parcial de oxigênio (pO<sub>2</sub>) foram medidos e uma porção da amostra foi reservada para armazenagem em freezer a -80 °C e posterior dosagem de citocinas, conforme será descrito a seguir.

Após a primeira coleta de amostra de sangue, procedeu-se à instalação de uma massa expansiva intracerebral por meio da insuflação de soro fisiológico na sonda vesical inserida na trepanação posterior à sutura

coronária. O preenchimento do balão junto à extremidade da sonda foi controlado com o uso de uma bomba de infusão mecânica automática (B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Alemanha), programada para atingir o volume desejado em 15 minutos. Este sistema de fluidos foi previamente testado antes de sua instalação definitiva. O experimento foi composto por dois grupos contendo 10 suínos cada, nos quais a insuflação do balão para simulação de volume secundário a processo expansivo intracerebral agudo foi de respectivamente, 4 mL (grupo 1) e 7 mL (grupo 2). Ao final da manobra de insuflação do balão, todos os parâmetros analisados foram novamente anotados assim como foram coletadas novas amostras de sangue periférico em tubo contendo o anticoagulante EDTA para dosagem de citocinas e de gasometria arterial (2ª amostra).

Após 2 horas em que o balão foi mantido insuflado, simulando massa expansiva intracerebral, todos os parâmetros descritos foram novamente anotados, sendo coletadas novas amostras de sangue periférico para gasometria arterial e em tubo contendo o anticoagulante EDTA para dosagem de citocinas (3ª amostra). Em seguida, o balão foi desinsuflado no decorrer de 1 minuto, retirando-se o efeito de massa intracerebral artificialmente instalada.

Após 1 hora da desinsuflação do balão houve novo registro de todos os parâmetros descritos e coleta de amostra de sangue periférico para gasometria arterial e em tubo contendo o anticoagulante EDTA para dosagem de citocinas (4ª amostra).



Em resumo, o experimento pode ser dividido em três etapas:

- A primeira etapa (E1) é a de estabilização das condições do animal e monitoração da autorregulação cerebral durante esse período por meio de verificação da PAM e PIC.
- A segunda etapa (E2) é a de monitoração dos parâmetros clínicos e de PIC após a instalação de uma massa intracerebral por meio da insuflação do balão da sonda vesical posicionado na substância branca do cérebro do animal.
- A terceira etapa (E3) é a de estabilização dos parâmetros clínicos e do regime de PIC após a retirada da massa intracerebral por meio de desinsuflação do balão da sonda vesical.

Um fluxograma com os tempos médios entre etapas é ilustrado na Figura 8.

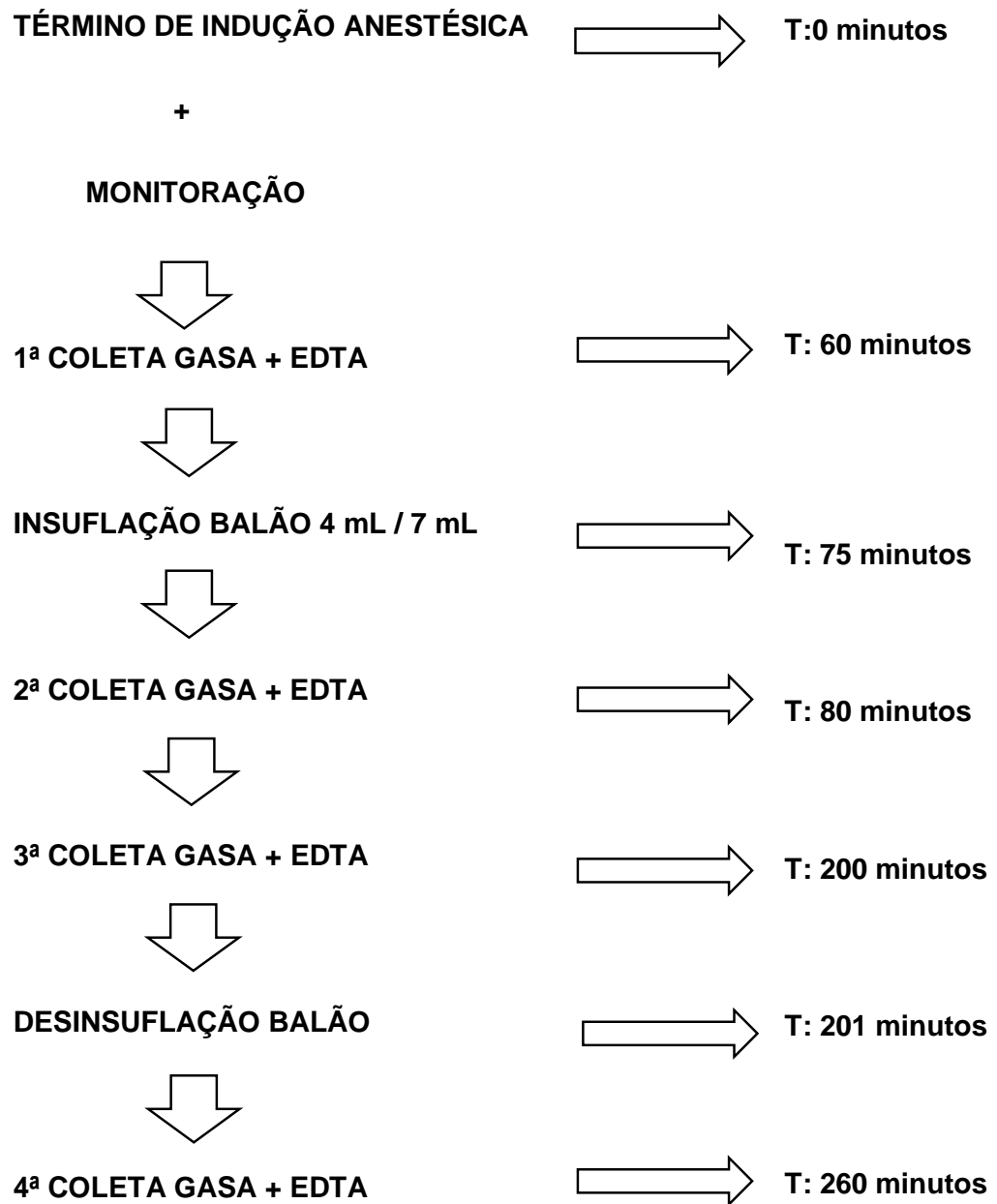


Figura 8 - Fluxograma do experimento

#### 4.4 Dosagem de citocinas

As amostras de sangue periférico coletadas em frascos com anticoagulante EDTA durante quatro momentos do experimento (60, 80, 200 e 260 minutos) foram avaliadas quantitativamente para biomarcadores. Os biomarcadores escolhidos para análise foram citocinas conforme o Quadro 1 (Stein *et al.*, 2011).

**Quadro 1 - Citocinas analisadas durante o experimento**

Citocina	Abreviatura
Interleucina 1 $\alpha$	IL-1 $\alpha$
Interleucina 1 $\beta$	IL-1 $\beta$
Interleucina 1 receptor agonista	IL-1ra
Interleucina 2	IL-2
Interleucina 4	IL-4
Interleucina 6	IL-6
Interleucina 8	IL-8
Interleucina 10	IL-10
Interleucina 12	IL-12
Interleucina 18	IL-18
Fator de Necrose Tumoral $\alpha$	TNF $\alpha$

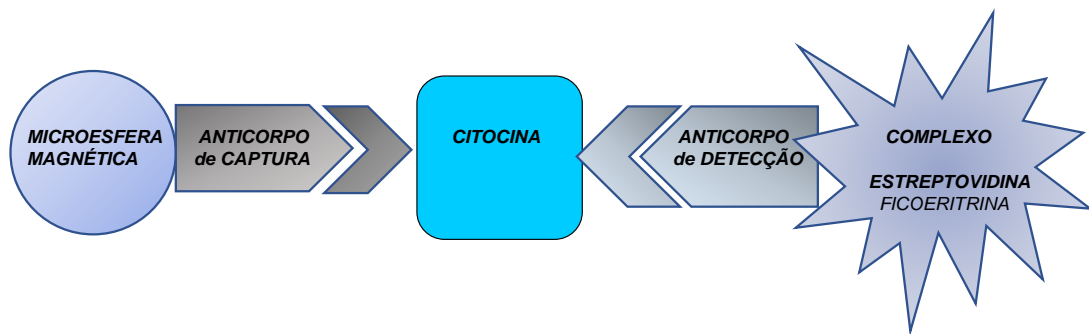
O processo de dosagem das citocinas foi inteiramente realizado no Laboratório de Análises Especiais do Departamento de Patologia da FMUSP (LAE-LIM 3).

As amostras de plasma foram preparadas para análise numa placa de 96 poços, utilizando um painel de esferas de citocinas suínas Milliplex MAP<sup>®</sup> Porcine Cytokine/Chemokine Magnetic Bead<sup>®</sup> personalizado (Millipore Corp., Billerica, EUA) capaz de dosar simultaneamente 11 tipos de citocinas em suínos. Seguindo os protocolos específicos do painel, fornecidos pela Millipore Corporation<sup>®</sup> (Billerica, EUA), as citocinas contidas na amostra

foram em seguida quantificadas usando um instrumento de teste analítico da Magpix® (Luminex Corp., Austin, EUA), que utiliza a tecnologia xMAP® (Luminex Corp., Austin, TX) e o software xPONENT 4.2® (Luminex Corp., Austin, TX). A tecnologia Luminex® (Luminex Corp., Austin, EUA) permite a quantificação e análise simultânea de dezenas de proteínas de baixa concentração em um pequeno volume (50 µL).

#### 4.4.1 Princípio da técnica de dosagem

A técnica de Luminex® - xMAP® (Luminex Corp., Austin, TX) possui o princípio similar ao ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA) sanduíche (Aydin, 2015). Microesferas magnéticas, coloridas e fluorescentes (também chamadas de *beads*), específicas para cada uma das citocinas pesquisada, ligam-se de forma covalente a anticorpos de captura também específicos. Os anticorpos de captura são colocados diretamente contra a citocina desejada. Após uma série de lavagens para remover as proteínas não ligadas, anticorpos de detecção específicos para aquela citocina são adicionados para criar o complexo sanduíche: microesfera – anticorpo de captura – citocina – anticorpo de detecção. A detecção final desse complexo é formada com a adição do conjugado de estreptavidina-ficoeritrina. A ficoeritrina serve como um indicador fluorescente (Figura 9).



**Figura 9 - Esquema ilustrativo da técnica Luminex<sup>®</sup> para captura e detecção de citocinas**

O princípio do LUMINEX<sup>®</sup> (Luminex Corp., Austin, TX) está baseado em três elementos da tecnologia xMAP<sup>®</sup> (Luminex Corp., Austin, TX):

- a) Microesferas magnética que possuem um código de cor distinto ou um endereço espectral que permite discriminação individual para cada biomarcador pesquisado contido na suspensão. Isto permite detecção simultânea de inúmeros tipos diferentes de moléculas em um único poço.
- b) Nos equipamentos Magpix<sup>®</sup> são utilizados diodos emissores de luz (LEDs), e a identificação e quantificação de cada complexo microesfera/citocina é realizado por uma câmera de dispositivo de carga acoplada (CCD).
- c) Processador de sinal digital que administra os dados da fluorescência.

#### **4.4.2 Preparação das amostras**

As amostras de sangue periférico foram coletadas em tubo contendo anticoagulante EDTA e centrifugadas a  $9800 \text{ m/s}^2$  a  $4^\circ \text{C}$  por 15 minutos. O plasma foi separado e congelado a  $-80^\circ \text{C}$ . Para realização do ensaio as amostras foram descongeladas e centrifugadas novamente a  $9800 \text{ m/s}^2$  em temperatura ambiente, por 10 minutos.

#### **4.4.3 Preparação da diluição de solução padrão de citocinas**

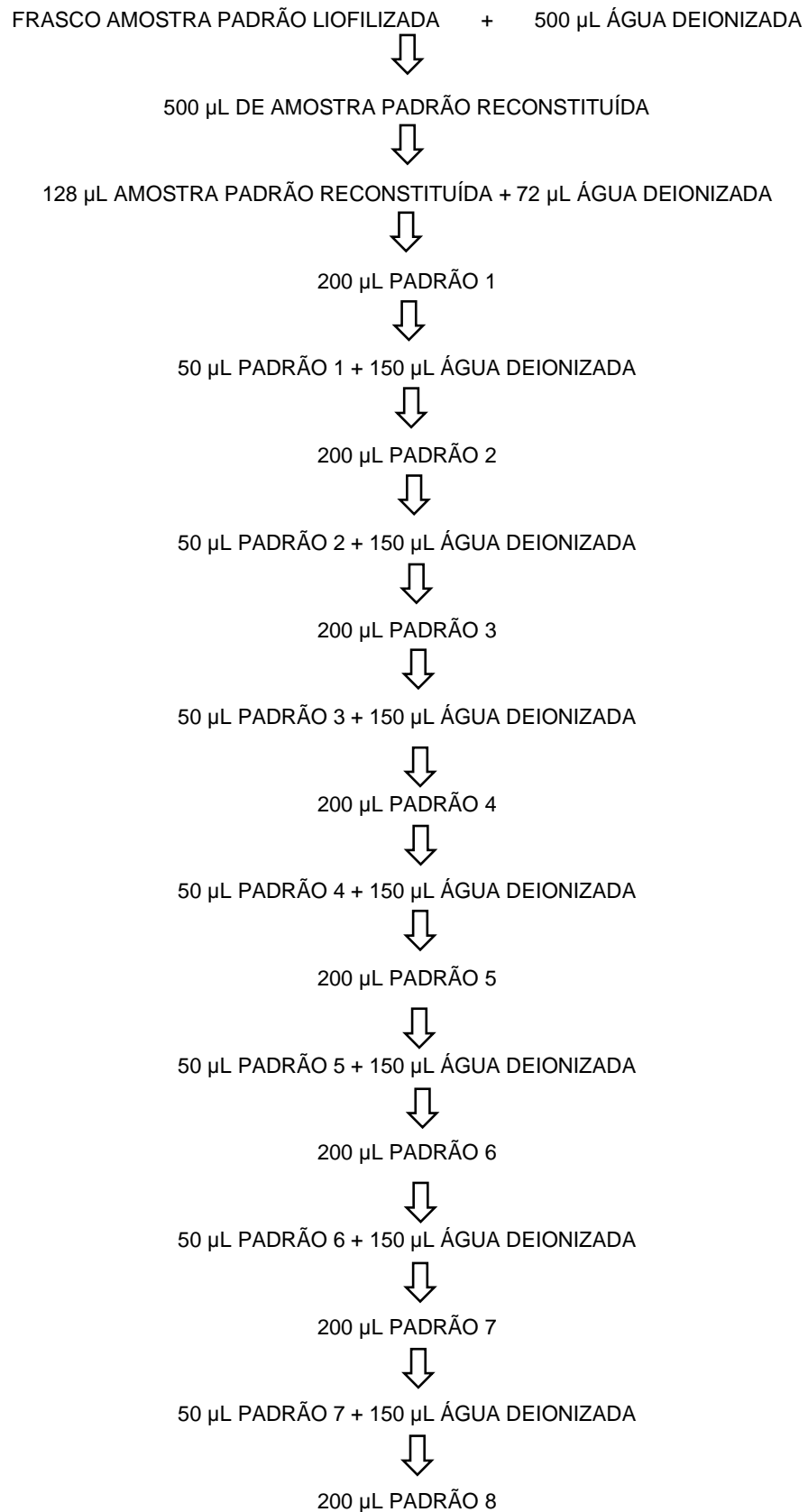
O sistema requer que os complexos ligados às citocinas das amostras sejam comparados a uma amostra padrão do fabricante, cuja concentração de citocinas e consequente gradiente de fluorescência sejam conhecidas.

Para reconstituição das amostras padrão adicionou-se  $500 \mu\text{L}$  de água deionizada ao frasco contendo a amostra padrão do fabricante em formato liofilizado. Em seguida agitou-se gentilmente por 3 segundos, permanecendo a amostra por mais 30 minutos em gelo.

Tubos do tipo Eppendorf de  $1,5 \text{ mL}$  foram marcados com números de 1 a 8, para preparação de uma diluição seriada de fator 1:4 a cada diluição.

Foram então adicionados  $128 \mu\text{L}$  da amostra padrão do fabricante previamente reconstituída, em um tubo de  $1,5 \text{ mL}$  contendo  $72 \mu\text{L}$  de água deionizada, totalizando  $200 \mu\text{L}$  no Frasco Padrão 1.

Continuou-se com a diluição seriada com acréscimo de  $150 \mu\text{L}$  de água deionizada a  $50 \mu\text{L}$  da solução de diluição anterior, totalizando oito frascos de soluções padrão diluídas como descrito na Figura 10.



**Figura 10 - Fluxograma demonstrando a diluição das soluções padrão**

#### 4.4.4 Preparo das amostras em placa multiplex

Todos os tampões e diluentes foram colocados em seus respectivos poços na placa multiplex (Figura 11) e após pipetagem de amostras branco (água deionizada), padrões diluídos e amostras coletadas no experimento, procedeu-se com o preparo dos demais componentes que formarão o complexo sanduíche com as citocinas.

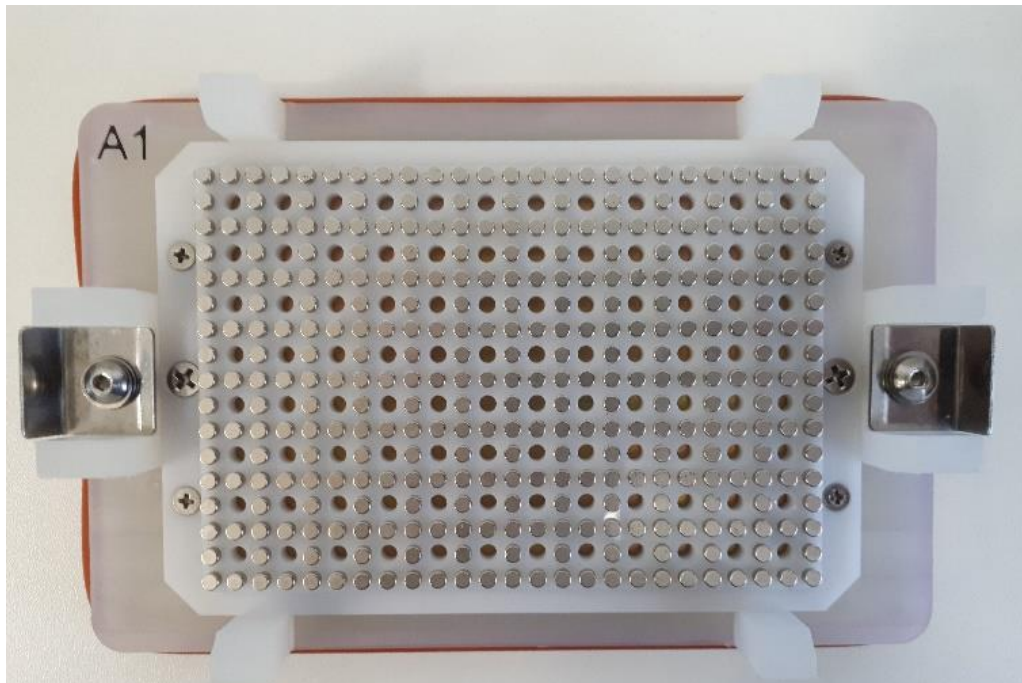


Figura 11 - Placa magnética para agitação do painel de esferas

Manteve-se preparada e protegida da luz a solução de microesferas magnéticas por meio de envelopamento com papel alumínio. Todos os tubos do ensaio foram mantidos no gelo até o seu uso. A solução foi agitada em velocidade média por 30 segundos. O conjugado de microesferas (*beads*) com anticorpos de captura foi preparado diluindo-se em solução tampão do próprio kit (*assay buffer*), com um volume final de 5,750  $\mu\text{L}$ . Em seguida a



solução resultante foi agitada por 15-20 segundos, na velocidade média, sendo pipetado o volume de 50  $\mu$ L em cada poço.

A placa multiplex foi lavada por duas vezes em modo automático com solução tampão de lavagem do próprio kit (*wash buffer*). Toda a placa foi coberta com fita de vedação e papel alumínio e em seguida foi colocada em um agitador de microplacas regulado para 850 rpm por 30 minutos.

Ao final da primeira incubação, a placa foi colocada em uma superfície plana e a fita de vedação retirada. A placa foi lavada por três vezes na lavadora automática com a solução tampão. A placa foi então mantida em ambiente escuro enquanto a solução do anticorpo de detecção foi preparada.

O tubo com anticorpo de detecção foi centrifugado por 30 segundos, seguido de diluição 1x com o diluente do anticorpo de detecção agitado suavemente e o volume de 25  $\mu$ L foi adicionado em cada poço. A placa foi novamente recoberta com a fita de vedação e com papel alumínio. A placa foi então colocada no agitador de microplacas na velocidade de 850 rpm, por 30 minutos. Ao final da incubação, foram removidas a fita e o tampão. A placa foi novamente lavada por três vezes na lavadora automática com a solução tampão de lavagem.

Foi então preparada a solução contendo estreptavidina-peroxidase (*Streptavidin-PE*), 10 minutos antes do seu uso, diluindo-se 1x com o diluente de ensaio e agitando-se vigorosamente, adicionando o volume de 50  $\mu$ L em cada poço. A placa foi coberta com uma nova fita de vedação e com papel alumínio. A placa foi então colocada no agitador de microplacas e

deixado em agitação na velocidade de 850 rpm por 10 minutos. Ao final da incubação a fita de vedação foi retirada e a placa foi lavada por três vezes na lavadora automática com a solução tampão de lavagem.

Após todo o processo para formação dos complexos sanduíche descrito acima, a placa foi recoberta com uma nova fita de vedação e papel alumínio e colocada no agitador de placas na velocidade de 850 rpm por 30 segundos, imediatamente antes da leitura no sistema Magpix<sup>®</sup> (Luminex Corp., Austin, TX).

#### **4.4.5 Preparação do sistema Magpix<sup>®</sup>**

Antes da leitura da placa no equipamento Magpix<sup>®</sup> (Luminex Corp., Austin, TX) procederam-se as rotinas de manutenção *system initialization* e *calibration/verification* do equipamento.

#### **4.4.6 Leitura da placa multiplex com amostras**

Foi selecionado o Passo 1, descrevendo-se o protocolo específico para análise de citocinas suínas e indicados os pontos da curva padrão e analitos com as amostras.

Selecionado o Passo 2: criar a corrida.

Selecionado o Passo 3: formatar a placa.

Selecionado o Passo 4: clicado em *RUN* para efetuar a leitura da placa.

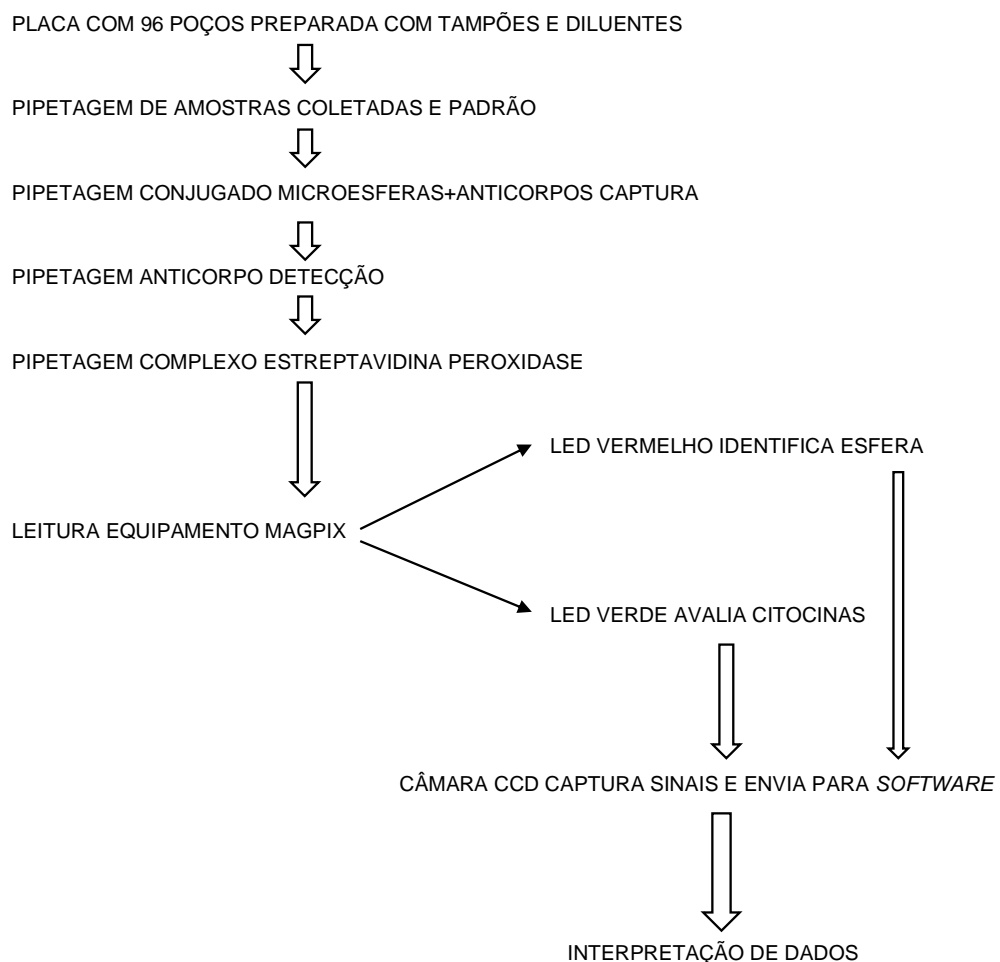
As amostras foram então analisadas no equipamento Magpix® (Luminex Corp., Austin, TX) com tecnologia xMAP® (Luminex Corp., Austin, TX) (Figura 12) e *software* de leitura XPONENT 4.2® (Luminex Corp., Austin, TX).



**Figura 12 - Aparelho Magpix®, que utiliza a tecnologia xMAP® para leitura de microesferas**

A tecnologia xMAP® (Luminex Corp., Austin, TX) utilizada no aparelho Magpix® (Luminex Corp., Austin, TX) consiste em um magneto que inicialmente captura e estabiliza os complexos sanduíche, a partir de seus

componentes de microesferas magnéticas. Após a captura, dois LEDs de comprimentos de onda distintos iluminam os complexos. O LED vermelho (635 nm) identifica as microesferas magnéticas, que possuem um código de cor distinto para cada citocina. O LED verde (511 nm) determina a quantidade de citocinas pela intensidade do sinal que reflete do componente estreptavidina – ficoeritrina dos complexos contidos na amostra. Uma câmera de vídeo CCD capta os sinais de luz vermelho e verde refletidos dos complexos sanduíche e envia ao *software* XPONENT 4.2® (Luminex Corp., Austin, TX), para leitura e interpretação dos sinais (Figura 13).



**Figura 13 - Fluxograma demonstrando os passos de preparo da placa multiplex e leitura pelo sistema Luminex®**

As concentrações de citocinas das amostras, lidas a partir da intensidade do sinal do LED verde refletido pelo componente estreptavidina – ficoeritrina, são estabelecidas a partir de comparação com a curva padrão obtida pelo equipamento junto à amostra padrão de fábrica, cuja concentração de citocinas e consequente fluorescência eram conhecidas Figura 14.

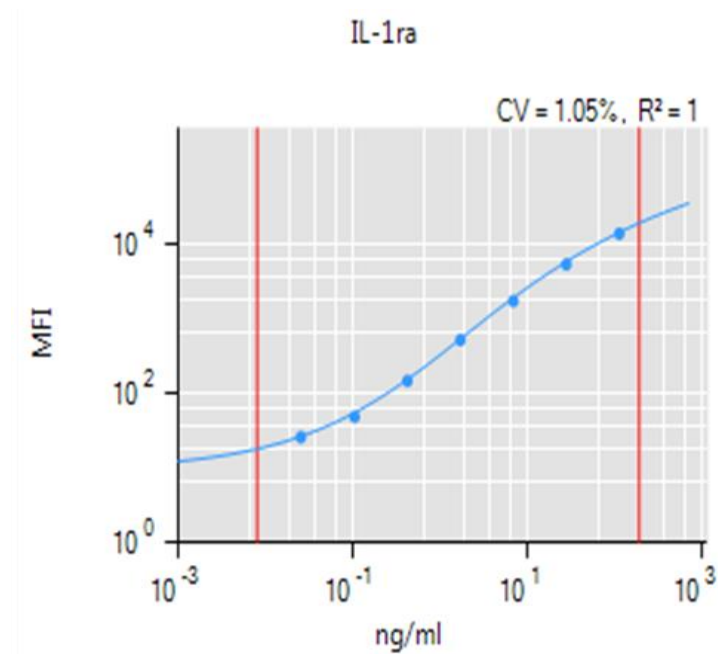


Figura 14 - Exemplo de curva padrão da citocina IL-1ra obtido no ensaio Luminex®

#### 4.5 Análise estatística

Para fins descritivos, as variáveis categóricas foram apresentadas por meio de frequências relativas e absolutas e comparadas por meio do teste qui quadrado ou de Fisher, conforme apropriado. As distribuições das variáveis contínuas foram avaliadas quanto à normalidade por assimetria e curtose e por métodos gráficos. Aquelas com distribuição normal foram apresentadas como média e desvio padrão (DP) e comparados pelo teste T de Student para amostras independentes. Caso contrário, foram apresentados como medianas e quartis e comparados pelo teste não paramétrico de Mann-Whitney. Não houve dados faltantes para as variáveis fisiológicas basais ou qualquer uma das citocinas ou PIC em nenhum momento, exceto para um animal que morreu antes da dosagem final da citocina.

Equações de estimativas generalizadas (EEG) foram modeladas para a comparação dos valores de PIC e citocinas entre os grupos, ao longo do experimento. Para as EEGs foram assumidas uma distribuição marginal normal para a PIC e uma distribuição gama para as citocinas (devido à distribuição não normal da maioria delas), uma função de ligação de identidade para PIC e citocinas e uma matriz autorregressiva com correlação de primeira ordem entre os momentos do experimento. Um termo de interação entre o grupo e o momento foi introduzido como um *proxy* para avaliar uma eventual resposta dependente da dose entre a PIC e a variação das citocinas, assumindo valores de PIC mais altos no grupo de 7 mL em comparação com o grupo de 4 mL. Além disso, a associação entre a PIC e a

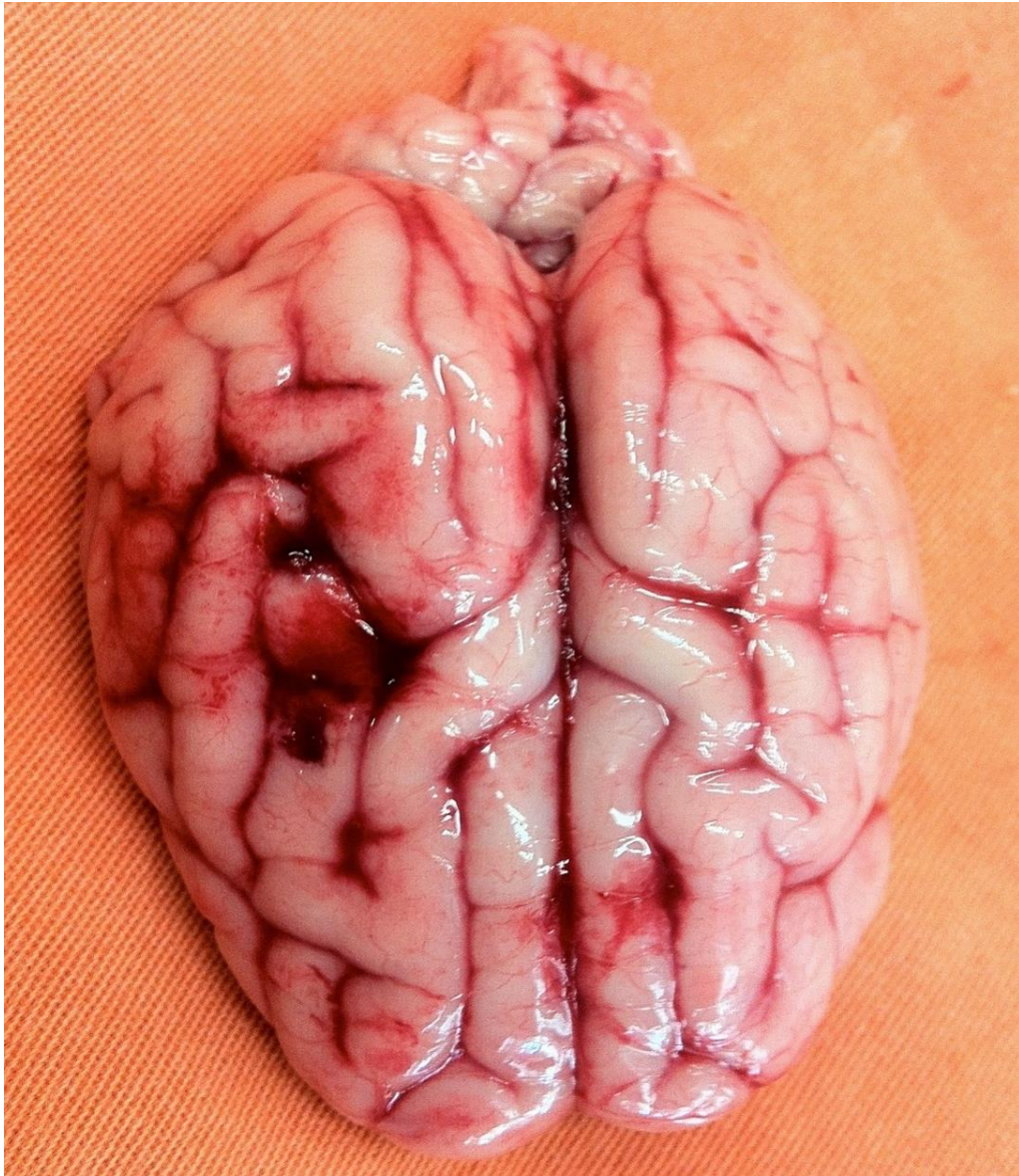
variação das citocinas foi avaliada diretamente em um conjunto diferente de EEGs modelados com cada citocina como variável dependente e a PIC como variável independente. Para avaliar e comparar os tamanhos de efeito da variação das citocinas, seus valores foram transformados em logaritmos e padronizados como escores Z utilizando se a linha de base como referência. Assim, embora cada citocina possa ter uma escala diferente, pode-se compará-las por meio de um parâmetro padronizado.

Todos os testes foram bilaterais e os valores finais de p abaixo de 0,05 foram considerados estatisticamente significantes. Todas as análises foram realizadas com o software SPSS® (IBM Corp. SPSS Statistics para Windows, versão 24.0. Armonk, NY).

#### **4.6 Eutanásia, verificação e descarte de animais**

Após o período de coleta de dados e posteriormente ao término do experimento, os animais foram sacrificados recebendo os anestésicos propofol (20 mg/kg) e fentanil (10 mg/kg), seguido da administração de 20 mL de solução de cloreto de potássio a 19,1%, por via endovenosa.

Após o sacrifício do animal, o encéfalo era extraído da cavidade craniana e examinado a fim de se afastar a possibilidade de acréscimos de volume por hemorragia cerebral ao longo da insuflação com o balão (Figura 15).



**Figura 15 - Encéfalo do animal, destacando se hemorragia subpial nos pontos de entrada do monitor de PIC e sonda vesical**

As carcaças dos animais foram descartadas conforme regras para uso de animais de experimentação da FMUSP.



## **5 RESULTADOS**

Os dados consolidados por momentos e os valores encontrados por citocinas obtidos pelo equipamento Magpix xMAP® (LuminexCorp., Austin, TX) se encontram descritos nos Anexos de B a F.

### 5.1 Dados basais

Ao longo do experimento houve a morte de um animal por arritmia cardíaca (Animal 11), ocorrida durante o período em que o balão se encontrava insuflado.

Entre os 20 animais estudados (10 femininos, 10 masculinos) o peso médio foi de  $22,9 \pm 8,1$  kg, sendo encontrada uma tendência maior para animais do sexo feminino (70%) no grupo 1 (balão com 4 mL) e animais do sexo masculino (70%) no grupo 2 (balão com 7 mL).

**Tabela 1 - Descrição dos grupos de animais de acordo com peso e sexo**

Variável	Grupo		Total (N = 20)	p
	4 mL (N = 10)	7 mL (N = 10)		
<b>Gênero, n (%)</b>				0,074**
Feminino	7 (70,0)	3 (30,0)	10 (50,0)	
Masculino	3 (30,0)	7 (70,0)	10 (50,0)	
<b>Peso (kg)</b>				0,504*
média ± DP	24,1 ± 8,9	21,6 ± 7,4	22,9 ± 8,1	
mediana (mín.; máx.)	19,4 (17; 39)	19,3 (17; 42)	19,3 (17; 42)	

Teste Mann-Whitney; \* Teste t-Student; \*\* Teste qui-quadrado.  
DP: desvio padrão; mín.; mínima; máx.: máxima.

Na Tabela 2, a análise comparativa das medidas de pressão arterial no momento basal, mostra apenas uma tendência discreta a pressão diastólica mais baixa no grupo de 4 mL se comparado ao de 7 mL.

**Tabela 2 - Comparação de valores da PA entre os diferentes grupos no momento basal**

Variável	Grupo		Total (N = 20)	p
	4 mL (N = 10)	7 mL (N =10)		
<b>PAS basal</b>				0,579
Média ± DP	104,2 ± 19,7	108,5 ± 12,7	106,4 ± 16,3	
Mediana (mín.; máx.)	103,5 (78; 136)	109 (92; 135)	105,5 (78; 136)	
<b>PAD basal</b>				0,075
Média ± DP	31,2 ± 12,8	72,6 ± 11,4	66,9 ± 13,1	
Mediana (mín.; máx.)	60,5 (44; 80)	78 (59; 96)	67,5 (44,96)	
<b>PAM basal</b>				0,089
Média ± DP	76,1 ± 15	85,7 ± 10,4	80,9 ± 13,5	
Mediana (mín.; máx.)	38,7 (61; 100)	87 (70; 100,3)	83,5 (61; 100,3)	

PAS: pressão arterial sistólica; DP: desvio padrão; mín.: mínima; máx.: máxima; PAD: pressão arterial diastólica; PAM: pressão arterial média.

Na análise comparativa das medidas de frequência cardíaca contida na Tabela 3, não foi verificada diferença significativa entre os grupos ( $p = 0,481$ ).

**Tabela 3 - Comparação de valores da FC entre os diferentes grupos no momento basal**

Variável	Grupo		Total (N = 20)	p
	4 mL (N = 10)	7 mL (N =10)		
<b>FC basal</b>				0,481
Média ± DP	97,2 ± 32,1	107 ± 24,4	102,1 ± 28,2	
Mediana (mín.; máx.)	88 (57; 149)	112 (74; 146)	91,5 (57; 149)	

FC: frequência cardíaca; DP: desvio padrão; mín.: mínima; máx.: máxima.

A comparação das medidas basais de temperatura corporal e cerebral entre os grupos, conforme demonstradas na Tabela 4, não demonstrou diferença significativa ( $p = 0,684$  e  $p = 0,684$ ), havendo grande proximidade das médias em ambas medidas.

**Tabela 4 - Comparação de valores de temperatura corporal e temperatura cerebral entre os diferentes grupos no momento basal**

Variável	Grupo		Total (N = 20)	p
	4 mL (N = 10)	7 mL (N =10)		
<b>Temperatura corporal basal</b>				
Média ± DP	37,9 ± 1,1	37,7 ± 1,1	37,8 ± 1,1	0,684
Mediana (mín.; máx.)	38 (36,2; 39,7)	38,1 (35,6; 38,7)	38,1 (35,6; 39,7)	
<b>Temperatura cerebral basal</b>				
Média ± DP	37,5 ± 1,1	37,8 ± 0,8	37,7 ± 0,9	0,684
Mediana (mín.; máx.)	37,8 (,5,5; 38,9)	38(36,4; 38,9)	38 (35,5; 38,9)	

DP: desvio padrão; mín.: mínima; máx.: máxima.

Os valores basais dos parâmetros ventilatórios SpO<sub>2</sub> (p = 0,529) e EtCO<sub>2</sub> (p = 0,165) assim como de pressão parcial de oxigênio tecidual cerebral PtiO<sub>2</sub> (p = 0,356), também foram semelhantes entre os grupos do presente estudo, conforme demonstra a Tabela 5.

**Tabela 5 - Comparação de valores de SpO<sub>2</sub>, EtCO<sub>2</sub> e PtiO<sub>2</sub> entre os diferentes grupos no momento basal**

Variável	Grupo		Total (N = 20)	p
	4 mL (N = 10)	7 mL (N =10)		
<b>SpO<sub>2</sub> basal</b>				
Média ± DP	97,8 ± 1,2	97,5 ± 1	97,7 ± 1,1	0,529
Mediana (mín.; máx.)	98 (96; 99)	98 (96; 99)	98 (96; 99)	
<b>EtCO<sub>2</sub> basal</b>				
Média ± DP	43,6 ± 5,2	40,5 ± 4,2	42,1 ± 4,9	0,165
Mediana (mín.; máx.)	42 (37; 54)	40 (34; 50)	41 (34; 54)	
<b>PtiO<sub>2</sub> basal</b>				
Média ± DP	31,9 ± 56,6	7,1 ± 6,5	20,2 ± 42,2	0,356
Mediana (mín.; máx.)	5,1 (0,7; 182,2)	6,3 (0,4; 17,7)	6,3 (0,4; 182,2)	

SpO<sub>2</sub>: saturação periférica de oxigênio; DP: desvio padrão; mín.: mínima; máx.: máxima; EtCO<sub>2</sub>: pressão final de dióxido de carbono expirado; PtiO<sub>2</sub>: pressão parcial de oxigênio tecidual cerebral.

## 5.2 Resultados da PIC

A Tabela 6 mostra os valores absolutos, em mmHg, das medidas da PIC para cada animal, em cada momento do experimento.

**Tabela 6 - Valores da PIC individualizados**

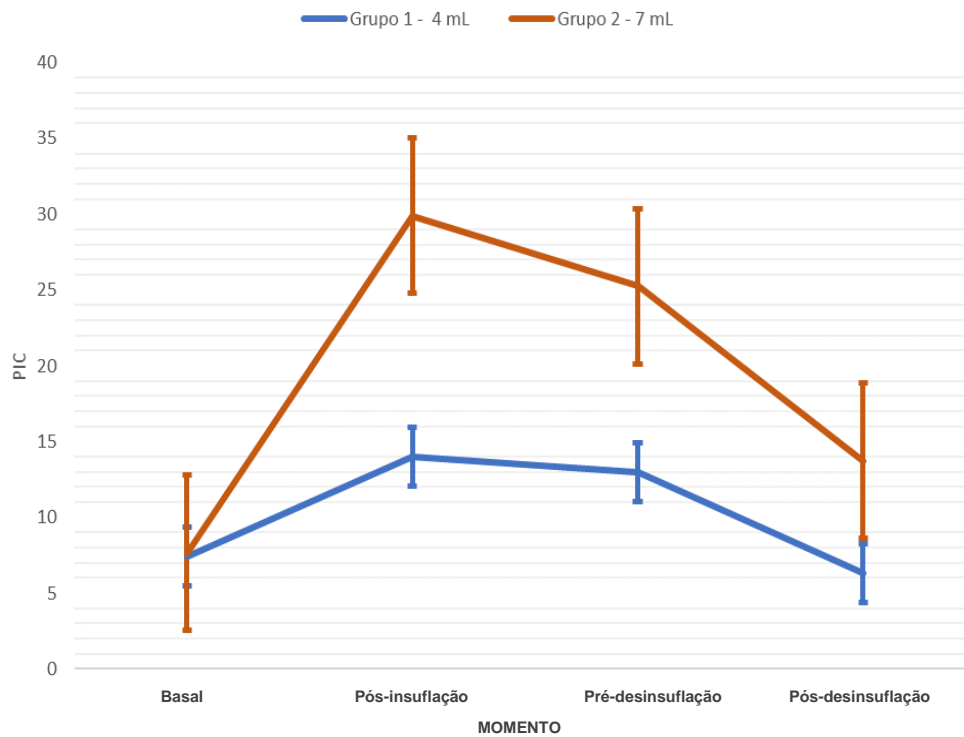
Animal	Grupo	Valores da PIC			
		Basal	Pós-insuflação	Pré-desinsuflação	Pós-desinsuflação
1	1 (4 mL)	5,1	13,7	8,8	5
2	2 (7 mL)	10,3	29,2	44	13
3	1 (4 mL)	10,7	20,5	14,6	7,5
4	2 (7 mL)	1,3	36,2	16,4	3
5	1 (4 mL)	0,7	4,3	4,2	-4
6	2 (7 mL)	13	23,1	19,8	9
7	2 (7 mL)	11,8	49	48	39,3
8	2 (7 mL)	13,7	31,8	35,1	14,4
9	1 (4 mL)	6,1	7,7	13,5	3,1
10	2 (7 mL)	3,6	23	12,2	10,3
11	2 (7 mL)	1,9	27,1	12,6	-
12	2 (7 mL)	4	36,8	24,6	7,7
13	1 (4 mL)	13,7	28,7	28,4	16,2
14	2 (7 mL)	7,3	25,6	23,2	12,4
15	1 (4 mL)	9,7	15,7	10,4	8,6
16	1 (4 mL)	3,3	11,9	11,4	7,8
17	1 (4 mL)	6,5	4,8	7,5	0,4
18	1 (4 mL)	13,8	9	8,8	8,8
19	1 (4 mL)	4,7	24	22,1	10,1
20	2 (7 mL)	9,6	17,2	16,5	14,5

PIC: pressão intracraniana.

Apenas o valor do momento pós-desinsuflação do Animal 11 não foi obtido, devido a morte por arritmia cardíaca antes do fim do experimento.

A PIC apresentou aumento de seus valores após a insuflação do balão, tanto no Grupo 1 (4 mL) quanto no Grupo 2 (7 mL). Seus valores mantiveram se estáveis no período entre pós-insuflação e pré-desinsuflação, seguidos de uma queda após a desinsuflação, conforme se pode visualizar no Gráfico 1.

**Gráfico 1 - Valores médios e respectivos erros padrões da PIC de acordo com grupos**



A Tabela 7 mostra a média de valores, desvio padrão e medianas, com valores máximos e mínimos para os grupos 1 e 2 (4 mL e 7 mL, respectivamente) ao longo dos quatro momentos do experimento, basal, pós-insuflação do balão, pré-desinsuflação e pós-desinsuflação.

**Tabela 7 - Comparação dos valores médios da PIC em diferentes grupos e momentos**

Variável/Grupo	Basal	Pós-insuflação	Pré-desinsuflação	Pós-desinsuflação	p		
					Grupo	Momento	Interação
<b>PIC</b>					<b>0,004</b>	<b>&lt; 0,001</b>	<b>&lt; 0,001</b>
<b>Grupo 4 mL</b>							
Média ± DP	7,4 ± 4,4	14 ± 8,2	13 ± 7,3	6,4 ± 5,6			
Mediana (mín.; máx.)	6,3 (0,7; 13,8)	12,8 (4,3; 28,7)	10,9 (4,2; 28,4)	7,7 (-4; 16,2)			
<b>Grupo 7 mL</b>							
Média ± DP	7,7 ± 4,7	29,9 ± 9,1	25,2 ± 12,8	13,7 ± 10,3			
Mediana (mín.; máx.)	8,5 (1,3; 13,7)	28,2 (17,2; 49)	21,5 (12,2; 48)	12,4 (3; 39,3)			

PIC: pressão intracraniana; DP: desvio padrão; mín.: mínima; máx.: máxima.

Os valores médios da PIC ( $\pm$  desvio padrão) nos momentos basal, pós-insuflação, pré-desinsuflação e pós-desinsuflação foram de respectivamente  $7,4 \pm 4,4$ ;  $14,0 \pm 8,2$ ;  $13,0 \pm 7,3$  e  $6,4 \pm 5,6$  para o Grupo 1 (4 mL) e para o Grupo 2 (7 mL)  $7,7 \pm 4,7$ ;  $29,9 \pm 9,1$ ;  $25,2 \pm 12,8$  e  $13,7 \pm 10,3$ , respectivamente. Desse modo, ao longo dos momentos (valor de  $p < 0,001$ ) o modelo foi bem-sucedido em criar variações da PIC assim como em criar um gradiente entre grupos (valor de  $p = 0,004$ ) na qual a interação (momento *versus* grupo) também alcançou significância estatística (valor de  $p < 0,001$ ).

### 5.3 Resultados das citocinas

#### 5.3.1 Interleucina 1 $\alpha$

A Tabela 8 mostra os valores absolutos em ng/mL, médias e desvio padrão da IL-1 $\alpha$  dosada em amostras colhidas a cada momento do experimento para os animais do Grupo 1 (4 mL).

**Tabela 8 - Valores individualizados de IL-1 $\alpha$  para o Grupo 1 (4 mL)**

Animal	Grupo	Valores de IL-1 $\alpha$ (ng/mL)			
		Basal	Pós-insuflação	Pré-desinsuflação	Pós-desinsuflação
1	1 (4 mL)	0,07	0,13	0,12	0,16
3	1 (4 mL)	0,14	0,18	0,17	0,17
5	1 (4 mL)	0,05	0,04	0,05	0,03
9	1 (4 mL)	0,03	0,03	0,04	0,03
13	1 (4 mL)	0,04	0,05	0,07	0,05
15	1 (4 mL)	0,01	0,05	0,06	0,08
16	1 (4 mL)	0,03	0,06	0,08	0,11
17	1 (4 mL)	0,11	0,2	0,17	0,17
18	1 (4 mL)	0,03	0,03	0,03	0,03
19	1 (4 mL)	0,01	0,03	0,02	0,02
	Média	0,052	0,08	0,081	0,085
	DP $\pm$	0,041	0,062	0,052	0,059

IL-1 $\alpha$ : interleucina 1  $\alpha$ ; DP: desvio padrão.



Os valores médios ( $\pm$  desvio padrão) de IL-1 $\alpha$  para o Grupo 1 (4 mL) nos momentos basal, pós-insuflação, pré-desinsuflação e pós-desinsuflação foram de respectivamente  $0,052 \pm 0,041$ ;  $0,08 \pm 0,062$ ;  $0,081 \pm 0,052$  e  $0,085 \pm 0,059$ , demonstrando uma ascensão dos valores após a insuflação do balão, seguida de uma estabilidade consistente nos demais momentos.

A Tabela 9 mostra os valores absolutos em ng/mL, médias e desvio padrão da IL-1 $\alpha$  dosada em amostras colhidas a cada momento do experimento para os animais do Grupo 2 (7 mL).

**Tabela 9 - Valores individualizados de IL-1 $\alpha$  para o Grupo 2 (7 mL)**

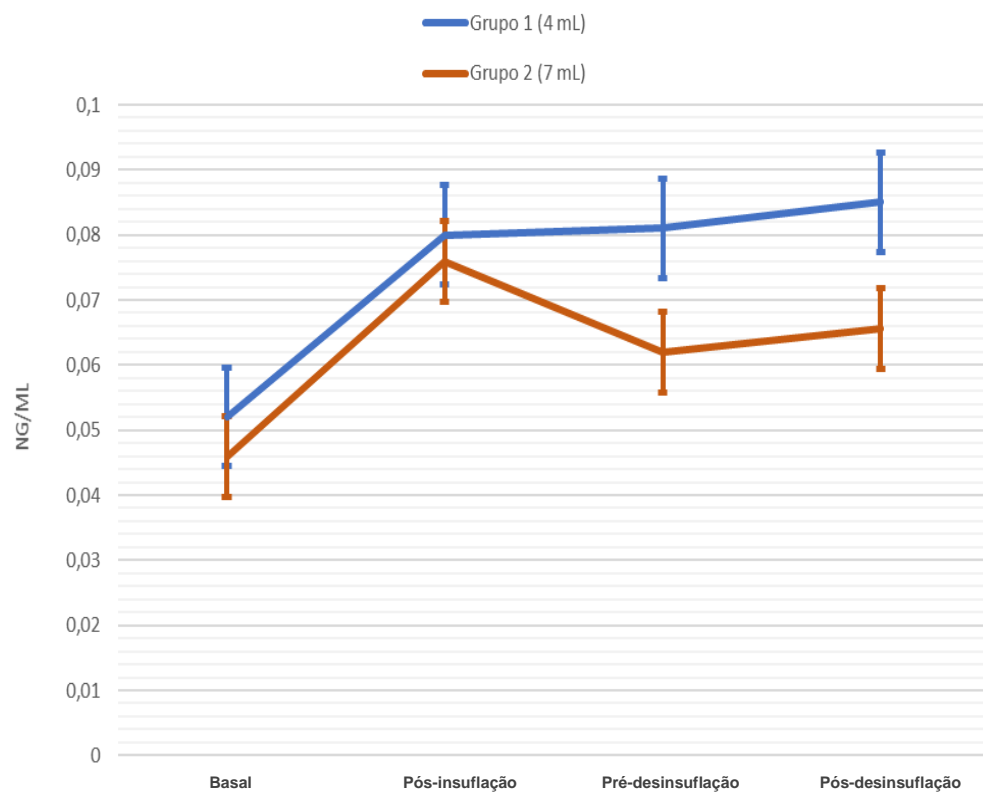
Animal	Grupo	Valores de IL-1 $\alpha$ (ng/mL)			
		Basal	Pós-insuflação	Pré-desinsuflação	Pós-desinsuflação
2	2 (7 mL)	0,13	0,19	0,16	0,16
4	2 (7 mL)	0,04	0,05	0,05	0,04
6	2 (7 mL)	0,02	0,03	0,03	0,05
7	2 (7 mL)	0,06	0,05	0,02	0,03
8	2 (7 mL)	0,06	0,06	0,06	0,03
10	2 (7 mL)	0,02	0,05	0,05	0,04
11	2 (7 mL)	0,04	0,06	0,13	-
12	2 (7 mL)	0,01	0,18	0,06	0,19
14	2 (7 mL)	0,04	0,05	0,04	0,03
20	2 (7 mL)	0,04	0,04	0,02	0,02
	Média	0,05	0,08	0,06	0,07
	DP $\pm$	0,034	0,058	0,047	0,063

IL-1 $\alpha$ : interleucina 1  $\alpha$ ; DP: desvio padrão.

Os valores médios ( $\pm$  desvio padrão) de IL-1 $\alpha$  para o Grupo 2 (7 mL) nos momentos basal, pós-insuflação, pré-desinsuflação e pós-desinsuflação foram de respectivamente  $0,050 \pm 0,034$ ;  $0,08 \pm 0,058$ ;  $0,06 \pm 0,047$  e  $0,07 \pm 0,063$ , demonstrando uma ascensão dos valores após a insuflação do balão, seguida de uma leve queda no pré-desinsuflação e leve ascensão no pós-desinsuflação.

O Gráfico 2 demonstra visualmente o comportamento dos valores da IL-1 $\alpha$  para ambos os grupos pela representação das curvas das médias e erro padrão ao longo dos momentos do experimento.

**Gráfico 2 - Média e erro padrão das medidas de IL-1 $\alpha$**



### 5.3.2 Interleucina 1 $\beta$

A Tabela 10 mostra os valores absolutos em ng/mL, médias e desvio padrão da IL-1 $\beta$  dosada em amostras colhidas a cada momento do experimento para os animais do Grupo 1 (4 mL).

**Tabela 10 - Valores individualizados de IL-1 $\beta$  para o Grupo 1 (4 mL)**

Animal	Grupo	Valores de IL-1 $\beta$ (ng/mL)			
		Basal	Pós-insuflação	Pré-desinsuflação	Pós-desinsuflação
1	1 (4 mL)	0,73	3,63	3,58	5,44
3	1 (4 mL)	5,05	9,74	10,14	11,24
5	1 (4 mL)	0,44	0,37	0,63	0,42
9	1 (4 mL)	0,29	1,18	2,14	2,9
13	1 (4 mL)	0,24	0,39	0,51	0,39
15	1 (4 mL)	0,14	0,56	1,95	5,19
16	1 (4 mL)	0,2	0,74	2,49	4,91
17	1 (4 mL)	0,22	0,95	0,92	1,28
18	1 (4 mL)	0,3	0,22	0,18	0,23
19	1 (4 mL)	0,11	0,12	0,11	0,12
	Média	0,772	1,79	2,265	3,212
	DP $\pm$	1,436	2,820	2,837	3,380

IL-1 $\beta$ : interleucina 1  $\beta$ ; DP: desvio padrão.

Os valores médios ( $\pm$  desvio padrão) de IL-1 $\beta$  para o Grupo 1 (4 mL) nos momentos basal, pós-insuflação, pré-desinsuflação e pós-desinsuflação foram de respectivamente  $0,0772 \pm 1,436$ ;  $1,79 \pm 2,820$ ;  $2,265 \pm 2,837$  e  $3,212 \pm 3,380$ , demonstrando uma ascensão contínua dos valores após a insuflação do balão, que se manteve mesmo após a desinsuflação.

A Tabela 11 mostra os valores absolutos em ng/mL, médias e desvio padrão da IL-1 $\beta$  dosada em amostras colhidas a cada momento do experimento para os animais do Grupo 2 (7 mL).

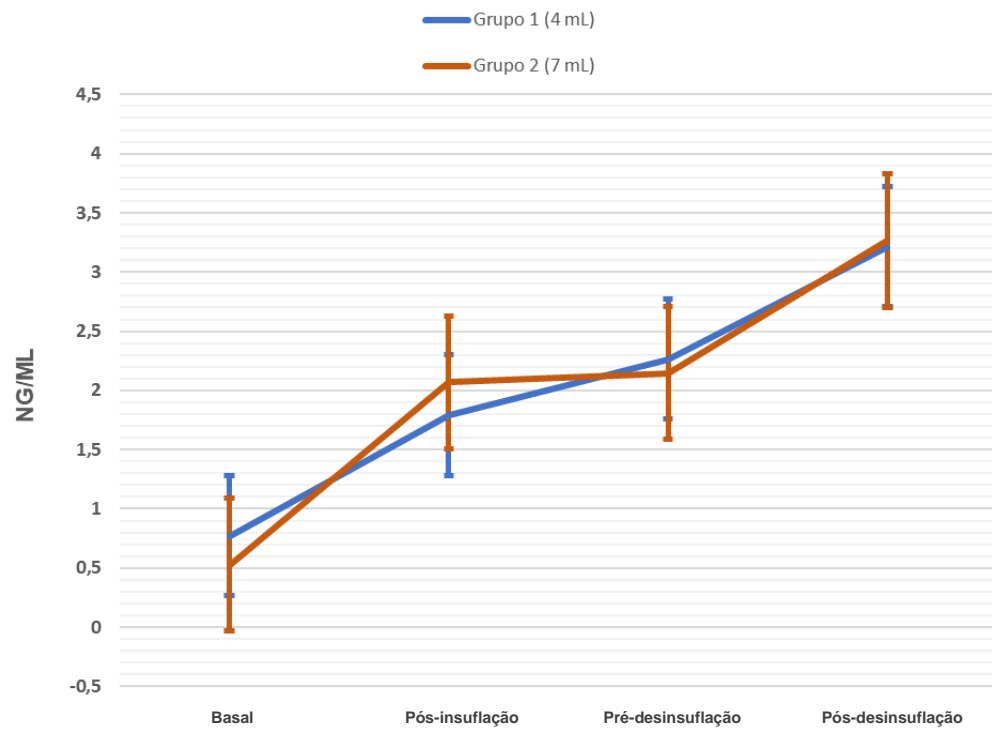
**Tabela 11 - Valores individualizados de IL-1 $\beta$  para o Grupo 2 (7 mL)**

Animal	Grupo	Valores de IL-1 $\beta$ (ng/mL)			
		Basal	Pós-insuflação	Pré-desinsuflação	Pós-desinsuflação
2	2 (7 mL)	1,85	5,41	5,82	6,65
4	2 (7 mL)	0,46	0,92	1,09	1,48
6	2 (7 mL)	0,46	0,92	1,09	1,48
7	2 (7 mL)	0,55	0,39	0,21	0,34
8	2 (7 mL)	0,56	0,94	1,23	0,88
10	2 (7 mL)	0,18	1,39	2,8	3,51
11	2 (7 mL)	0,45	1,1	6,06	
12	2 (7 mL)	0,13	8,3	1,4	13,14
14	2 (7 mL)	0,35	0,99	1,62	1,79
20	2 (7 mL)	0,29	0,31	0,13	0,1
	Média	0,53	2,07	2,15	3,26
	DP $\pm$	0,487	2,633	2,133	4,211

IL-1 $\beta$ : interleucina 1  $\beta$ ; DP: desvio padrão.

Os valores médios ( $\pm$  desvio padrão) de IL-1 $\beta$  para o Grupo 2 (7 mL) nos momentos basal, pós-insuflação, pré-desinsuflação e pós-desinsuflação foram de respectivamente  $0,53 \pm 0,487$ ;  $2,07 \pm 2,633$ ;  $2,15 \pm 2,133$  e  $3,26 \pm 4,211$ , demonstrando uma ascensão dos valores após a insuflação do balão, seguida de estabilidade até a pré-desinsuflação e ascensão no pós-desinsuflação.

O Gráfico 3 demonstra visualmente o comportamento dos valores da IL-1 $\beta$  para ambos os grupos pela representação das curvas das médias e erro padrão ao longo dos momentos do experimento.

**Gráfico 3 - Média e erro padrão das medidas de IL-1 $\beta$** 

### 5.3.3 Interleucina 1ra

A Tabela 12 mostra os valores absolutos em ng/mL, médias e desvio padrão da IL-1ra dosada em amostras colhidas a cada momento do experimento para os animais do Grupo 1 (4 mL).

**Tabela 12 - Valores individualizados de IL-1ra para o Grupo 1 (4 mL)**

Animal	Grupo	Valores de IL-1ra (ng/mL)			
		Basal	Pós-insuflação	Pré-desinsuflação	Pós-desinsuflação
1	1 (4 mL)	8,03	71,94	84,71	76,83
3	1 (4 mL)	86,36	101,43	101,84	99,14
5	1 (4 mL)	1,07	56,34	76,92	67,6
9	1 (4 mL)	0,53	92,19	92,57	92,07
13	1 (4 mL)	0,29	0,35	2,05	1,73
15	1 (4 mL)	0,3	11,19	75,03	86,22
16	1 (4 mL)	0,37	24,71	69,06	74,56
17	1 (4 mL)	0,42	73,31	69,14	50,81
18	1 (4 mL)	0,83	27,63	54,86	45,18
19	1 (4 mL)	0,62	55,76	47,35	40,57
	Média	9,882	51,485	67,353	63,471
	DP	25,591	32,577	26,653	27,852

IL-1ra: Interleucina 1 receptor agonista; DP: desvio padrão.

Os valores médios ( $\pm$  desvio padrão) de IL-1 $\beta$  para o Grupo 1 (4 mL) nos momentos basal, pós-insuflação, pré-desinsuflação e pós-desinsuflação foram de respectivamente  $9,882 \pm 25,591$ ;  $51,485 \pm 32,577$ ;  $67,353 \pm 26,653$  e  $63,471 \pm 27,852$ , demonstrando uma ascensão acentuada e sustentada dos valores após a insuflação do balão, seguida de relativa estabilidade mesmo após a desinsuflação.

A Tabela 13 mostra os valores absolutos em ng/mL, médias e desvio padrão da IL-1ra dosada em amostras colhidas a cada momento do experimento para os animais do Grupo 2 (7 mL).

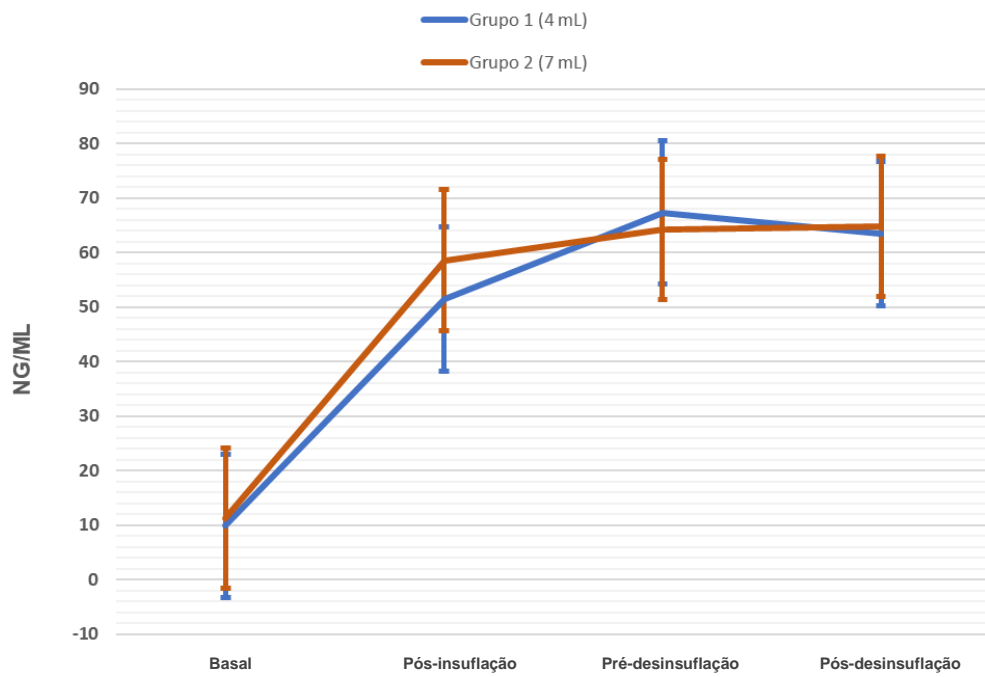
**Tabela 13 - Valores individualizados de IL-1ra para o Grupo 2 (7 mL)**

Animal	Grupo	Valores de IL-1ra (ng/mL)			
		Basal	Pós-insuflação	Pré-desinsuflação	Pós-desinsuflação
2	2 (7 mL)	70,62	93,11	87,64	82
4	2 (7 mL)	35	62	58,04	63,86
6	2 (7 mL)	0,17	51,66	67,79	52,25
7	2 (7 mL)	1,27	3,12	36,76	58,6
8	2 (7 mL)	2,52	52	49,38	56,97
10	2 (7 mL)	0,31	71,04	81,29	91,76
11	2 (7 mL)	2,01	66,21	94,94	
12	2 (7 mL)	0,42	109,37	73,77	94,71
14	2 (7 mL)	0,3	76,66	91,98	82,6
20	2 (7 mL)	0,46	0,51	0,4	0,84
	Média	11,31	58,57	64,20	64,84
	DP	23,443	34,742	29,333	28,686

IL-1ra: interleucina 1 receptor agonista; DP: desvio padrão.

Os valores médios ( $\pm$  desvio padrão) de IL-1ra para o Grupo 2 (7 mL) nos momentos basal, pós-insuflação, pré-desinsuflação e pós-desinsuflação foram de respectivamente  $11,31 \pm 23,443$ ;  $58,57 \pm 34,742$ ;  $64,20 \pm 29,333$  e  $64,84 \pm 28,686$ , demonstrando uma ascensão acentuada e sustentada dos valores após a insuflação do balão, seguida de estabilidade mesmo após a desinsuflação.

O Gráfico 4 demonstra visualmente o comportamento dos valores da IL-1ra para ambos os grupos pela representação das curvas das médias e erro padrão ao longo dos momentos do experimento.

**Gráfico 4 - Média e erro padrão das medidas de IL-1ra**



### 5.3.4 Interleucina 2

A Tabela 14 mostra os valores absolutos em ng/mL, médias e desvio padrão da interleucina 2 (IL-2) dosada em amostras colhidas a cada momento do experimento para os animais do Grupo 1 (4 mL).

**Tabela 14 - Valores individualizados de IL-2 para o Grupo 1 (4 mL)**

Animal	Grupo	Valores de IL-2 (ng/mL)			
		Basal	Pós-insuflação	Pré-desinsuflação	Pós-desinsuflação
1	1 (4 mL)	0,27	0,1	0,07	0,08
3	1 (4 mL)	0,17	0,07	0,06	0,04
5	1 (4 mL)	0,18	0,12	0,16	0,06
9	1 (4 mL)	0,11	0,03	0,05	0,03
13	1 (4 mL)	0,08	0,16	0,19	0,13
15	1 (4 mL)	0,05	0,21	0,11	0,04
16	1 (4 mL)	0,06	0,12	0,12	0,09
17	1 (4 mL)	0,13	0,3	0,24	0,18
18	1 (4 mL)	0,12	0,09	0,05	0,08
19	1 (4 mL)	0,02	0,02	0,02	0,02
	Média	0,119	0,122	0,107	0,075
	DP	0,070	0,080	0,067	0,047

IL-2: interleucina 2; DP: desvio padrão.

Os valores médios ( $\pm$  desvio padrão) de IL-2 para o Grupo 1 (4 mL) nos momentos basal, pós-insuflação, pré-desinsuflação e pós-desinsuflação foram de respectivamente  $0,119 \pm 0,070$ ;  $0,122 \pm 0,080$ ;  $0,107 \pm 0,067$  e  $0,075 \pm 0,047$ , demonstrando uma relativa estabilidade de valores ao longo de todo o experimento, seguida de leve queda após a desinsuflação do balão.

A Tabela 15 mostra os valores absolutos em ng/mL, médias e desvio padrão da IL-2 dosada em amostras colhidas a cada momento do experimento para os animais do Grupo 2 (7 mL).

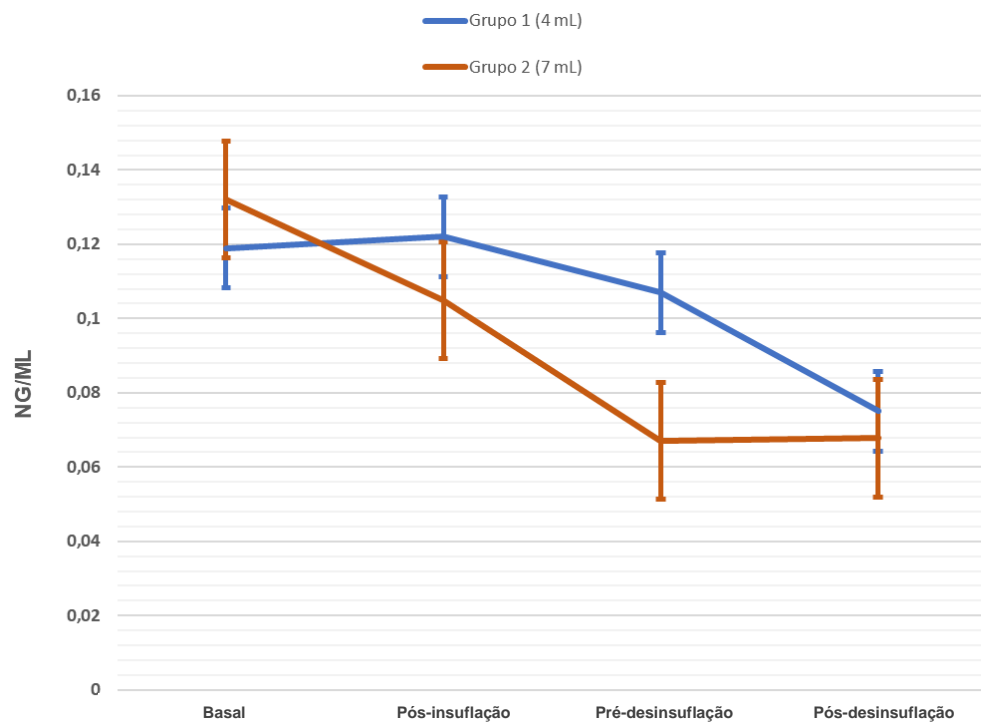
**Tabela 15 - Valores individualizados de IL-2 para o Grupo 2 (7 mL)**

Animal	Grupo	Valores de IL-2 (ng/mL)			
		Basal	Pós-insuflação	Pré-desinsuflação	Pós-desinsuflação
2	2 (7 mL)	0,07	0,06	0,05	0,05
4	2 (7 mL)	0,13	0,09	0,1	0,06
6	2 (7 mL)	0,07	0,11	0,08	0,19
7	2 (7 mL)	0,24	0,14	0,03	0,05
8	2 (7 mL)	0,25	0,17	0,16	0,09
10	2 (7 mL)	0,06	0,04	0,05	0,05
11	2 (7 mL)	0,19	0,13	0,07	-
12	2 (7 mL)	0,03	0,05	0,04	0,06
14	2 (7 mL)	0,16	0,11	0,05	0,04
20	2 (7 mL)	0,12	0,15	0,04	0,02
	Média	0,13	0,11	0,07	0,07
	DP	0,077	0,044	0,039	0,049

IL-2: interleucina 2; DP: desvio padrão.

Os valores médios ( $\pm$  desvio padrão) de IL-2 para o Grupo 2 (7 mL) nos momentos basal, pós-insuflação, pré-desinsuflação e pós-desinsuflação foram de respectivamente  $0,13 \pm 0,077$ ;  $0,11 \pm 0,044$ ;  $0,07 \pm 0,039$  e  $0,07 \pm 0,049$ , demonstrando uma queda leve e sustentada dos valores após a insuflação do balão, seguida de estabilidade após a desinsuflação.

O Gráfico 5 demonstra visualmente o comportamento dos valores da IL-2 para ambos os grupos pela representação das curvas das médias e erro padrão ao longo dos momentos do experimento.

**Gráfico 5 - Média e erro padrão das medidas de IL-2**

### 5.3.5 Interleucina 4

A Tabela 16 mostra os valores absolutos em ng/mL, médias e desvio padrão da interleucina 4 (IL-4) dosada em amostras colhidas a cada momento do experimento para os animais do Grupo 1 (4 mL).

**Tabela 16 - Valores individualizados de IL-4 para o Grupo 1 (4 mL)**

Animal	Grupo	Valores de IL-4 (ng/mL)			
		Basal	Pós-insuflação	Pré-desinsuflação	Pós-desinsuflação
1	1 (4 mL)	1,39	0,49	0,34	0,41
3	1 (4 mL)	0,89	0,36	0,32	0,28
5	1 (4 mL)	1	0,65	0,85	0,39
9	1 (4 mL)	0,71	0,44	0,47	0,4
13	1 (4 mL)	0,44	0,82	0,97	0,64
15	1 (4 mL)	0,3	1,06	0,55	0,27
16	1 (4 mL)	0,32	0,55	0,59	0,43
17	1 (4 mL)	0,59	1,29	1,04	0,78
18	1 (4 mL)	0,59	0,44	0,31	0,4
19	1 (4 mL)	0,16	0,16	0,16	0,16
	Média	0,639	0,626	0,56	0,416
	DP	0,354	0,324	0,286	0,170

IL-4: interleucina 4; DP: desvio padrão.

Os valores médios ( $\pm$  desvio padrão) de IL-4 para o Grupo 1 (4 mL) nos momentos basal, pós-insuflação, pré-desinsuflação e pós-desinsuflação foram de respectivamente  $0,639 \pm 0,354$ ;  $0,626 \pm 0,324$ ;  $0,56 \pm 0,286$  e  $0,416 \pm 0,170$ , demonstrando uma queda lenta de valores ao longo de todo o experimento.

A Tabela 17 mostra os valores absolutos em ng/mL, médias e desvio padrão da IL-4 dosada em amostras colhidas a cada momento do experimento para os animais do Grupo 2 (7 mL).

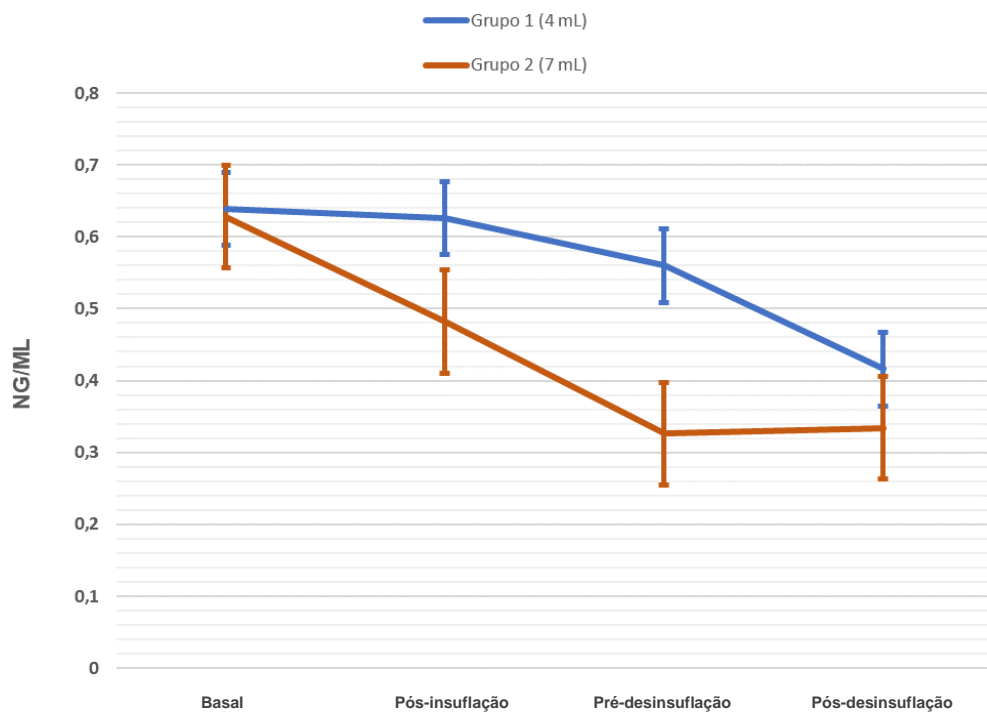
**Tabela 17 - Valores individualizados de IL-4 para o Grupo 2 (7 mL)**

Animal	Grupo	Valores de IL-4 (ng/mL)			
		Basal	Pós-insuflação	Pré-desinsuflação	Pós-desinsuflação
2	2 (7 mL)	0,41	0,35	0,29	0,33
4	2 (7 mL)	0,59	0,42	0,46	0,28
6	2 (7 mL)	0,36	0,52	0,41	0,88
7	2 (7 mL)	1,13	0,68	0,19	0,23
8	2 (7 mL)	1,2	0,71	0,74	0,42
10	2 (7 mL)	0,31	0,18	0,23	0,2
11	2 (7 mL)	0,78	0,53	0,26	-
12	2 (7 mL)	0,18	0,24	0,24	0,29
14	2 (7 mL)	0,72	0,45	0,24	0,22
20	2 (7 mL)	0,6	0,74	0,2	0,16
	Média	0,63	0,48	0,33	0,33
	DP	0,339	0,193	0,170	0,219

IL-4: interleucina 4; DP: desvio padrão.

Os valores médios ( $\pm$  desvio padrão) de IL-4 para o Grupo 2 (7 mL) nos momentos basal, pós-insuflação, pré-desinsuflação e pós-desinsuflação foram de respectivamente  $0,63 \pm 0,339$ ;  $0,48 \pm 0,193$ ;  $0,33 \pm 0,170$  e  $0,33 \pm 0,219$ , demonstrando uma queda leve e sustentada dos valores após a insuflação do balão, seguida de estabilidade após a desinsuflação.

O Gráfico 6 demonstra visualmente o comportamento dos valores da IL-4 para ambos os grupos pela representação das curvas das médias e erro padrão ao longo dos momentos do experimento.

**Gráfico 6 - Média e erro padrão das medidas de IL-4**

### 5.3.6 Interleucina 6

A Tabela 18 mostra os valores absolutos em ng/mL, médias e desvio padrão da IL-6 dosada em amostras colhidas a cada momento do experimento para os animais do Grupo 1 (4 mL).

**Tabela 18 - Valores individualizados de IL-6 para o Grupo 1 (4 mL)**

Animal	Grupo	Valores de IL-6 (ng/mL)			
		Basal	Pós-insuflação	Pré-desinsuflação	Pós-desinsuflação
1	1 (4 mL)	0,64	3,12	3,36	4,31
3	1 (4 mL)	6,39	6,04	5,26	4,93
5	1 (4 mL)	0,43	0,47	0,47	0,16
9	1 (4 mL)	0,12	4,82	2,93	1,81
13	1 (4 mL)	0,08	0,2	0,22	0,15
15	1 (4 mL)	0,16	1,84	7,07	8,22
16	1 (4 mL)	0,11	1,61	5,2	5,02
17	1 (4 mL)	0,12	0,8	0,46	0,57
18	1 (4 mL)	0,16	0,14	0,09	0,11
19	1 (4 mL)	0,03	0,05	0,04	0,04
	Média	0,824	1,909	2,51	2,532
	DP	1,864	1,998	2,491	2,742

IL-6: interleucina 6; DP: desvio padrão.

Os valores médios ( $\pm$  desvio padrão) de IL-6 para o Grupo 1 (4 mL) nos momentos basal, pós-insuflação, pré-desinsuflação e pós-desinsuflação foram de respectivamente  $0,824 \pm 1,864$ ;  $1,909 \pm 1,998$ ;  $2,51 \pm 2,491$  e  $2,532 \pm 2,742$ , demonstrando um aumento de valores ao longo do experimento, seguida de estabilidade após a desinsuflação.

A Tabela 19 mostra os valores absolutos em ng/mL, médias e desvio padrão da IL-6 dosada em amostras colhidas a cada momento do experimento para os animais do Grupo 2 (7 mL).

**Tabela 19 - Valores individualizados de IL-6 para o Grupo 2 (7 mL)**

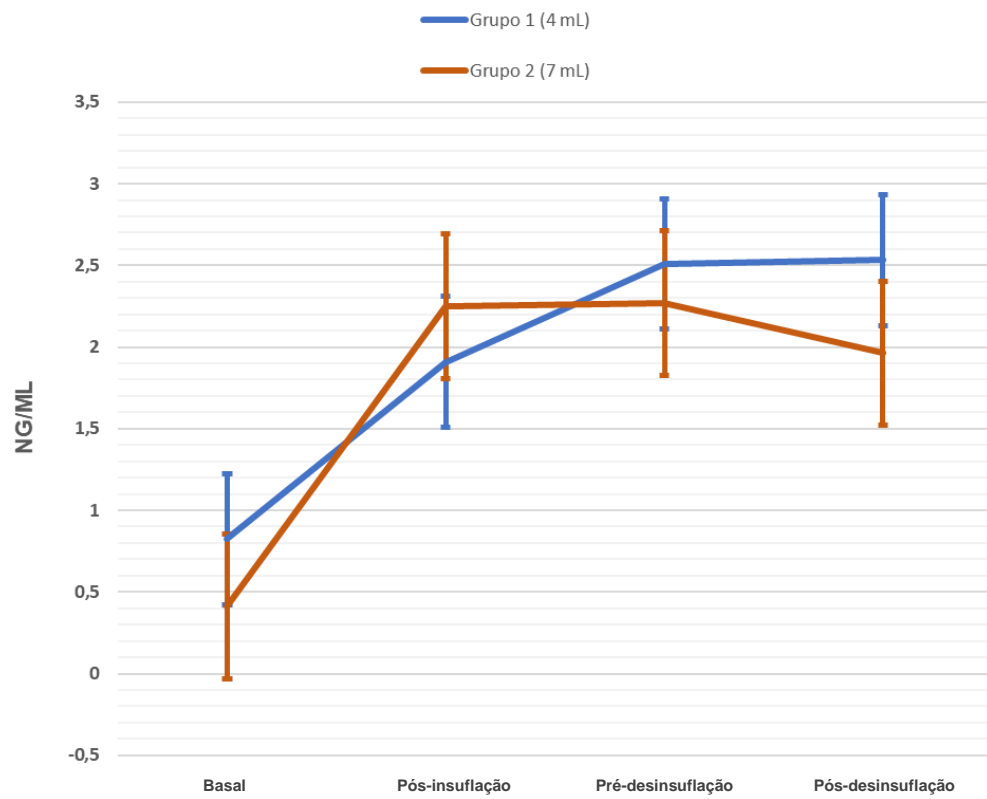
Animal	Grupo	Valores de IL-6 (ng/mL)			
		Basal	Pós-insuflação	Pré-desinsuflação	Pós-desinsuflação
2	2 (7 mL)	1,03	3,43	2,81	2,12
4	2 (7 mL)	0,89	1,75	1,76	1,62
6	2 (7 mL)	0,07	0,49	0,37	0,31
7	2 (7 mL)	0,27	0,34	0,2	0,13
8	2 (7 mL)	0,48	0,83	1,21	0,74
10	2 (7 mL)	0,06	1,61	3,24	2,74
11	2 (7 mL)	0,89	2,18	5,86	-
12	2 (7 mL)	0,17	10,11	4,43	8,85
14	2 (7 mL)	0,16	1,63	2,78	1,11
20	2 (7 mL)	0,11	0,12	0,04	0,04
	Média	0,41	2,25	2,27	1,96
	DP	0,383	2,935	1,923	2,743

IL-6: interleucina 6; DP: desvio padrão.

Os valores médios ( $\pm$  desvio padrão) de IL-6 para o Grupo 2 (7 mL) nos momentos basal, pós-insuflação, pré-desinsuflação e pós-desinsuflação foram de respectivamente  $0,41 \pm 0,383$ ,  $2,25 \pm 2,935$ ,  $2,27 \pm 1,923$  e  $1,96 \pm 2,743$ , demonstrando um aumento dos valores após a insuflação do balão, seguida de leve queda após a desinsuflação.

O Gráfico 7 demonstra visualmente o comportamento dos valores da IL-6 para ambos os grupos pela representação das curvas das médias e erro padrão ao longo dos momentos do experimento.



**Gráfico 7 - Média e erro padrão das medidas de IL-6**

### 5.3.7 Interleucina 8

A Tabela 20 mostra os valores absolutos em ng/mL, médias e desvio padrão da IL-8 dosada em amostras colhidas a cada momento do experimento para os animais do Grupo 1 (4 mL).

**Tabela 20 - Valores individualizados de IL-8 para o Grupo 1 (4 mL)**

Animal	Grupo	Valores de IL-8 (ng/mL)			
		Basal	Pós-insuflação	Pré-desinsuflação	Pós-desinsuflação
1	1 (4 mL)	3,48	40,25	50,55	37,82
3	1 (4 mL)	63,74	14,8	10,36	8,1
5	1 (4 mL)	0,3	0,63	0,35	0,16
9	1 (4 mL)	0,19	14,79	2,4	1,05
13	1 (4 mL)	0,14	0,22	0,2	0,19
15	1 (4 mL)	0,08	6,44	58,24	39,48
16	1 (4 mL)	0,1	18,8	39,57	23,04
17	1 (4 mL)	0,07	0,59	0,24	0,34
18	1 (4 mL)	0,2	0,18	0,13	0,16
19	1 (4 mL)	0,04	0,03	0,04	0,03
	Média	6,834	9,673	16,208	11,037
	DP	18,995	12,320	22,359	15,390

IL-8: interleucina 8; DP: desvio padrão.

Os valores médios ( $\pm$  desvio padrão) de IL-8 para o Grupo 1 (4 mL) nos momentos basal, pós-insuflação, pré-desinsuflação e pós-desinsuflação foram de respectivamente  $6,834 \pm 18,995$ ;  $9,673 \pm 12,320$ ;  $16,208 \pm 22,359$   $11,037 \pm 15,390$ , demonstrando um aumento de valores ao longo do experimento, seguida de queda após a desinsuflação.

A Tabela 21 mostra os valores absolutos em ng/mL, médias e desvio padrão da IL-8 dosada em amostras colhidas a cada momento do experimento para os animais do Grupo 2 (7 mL).

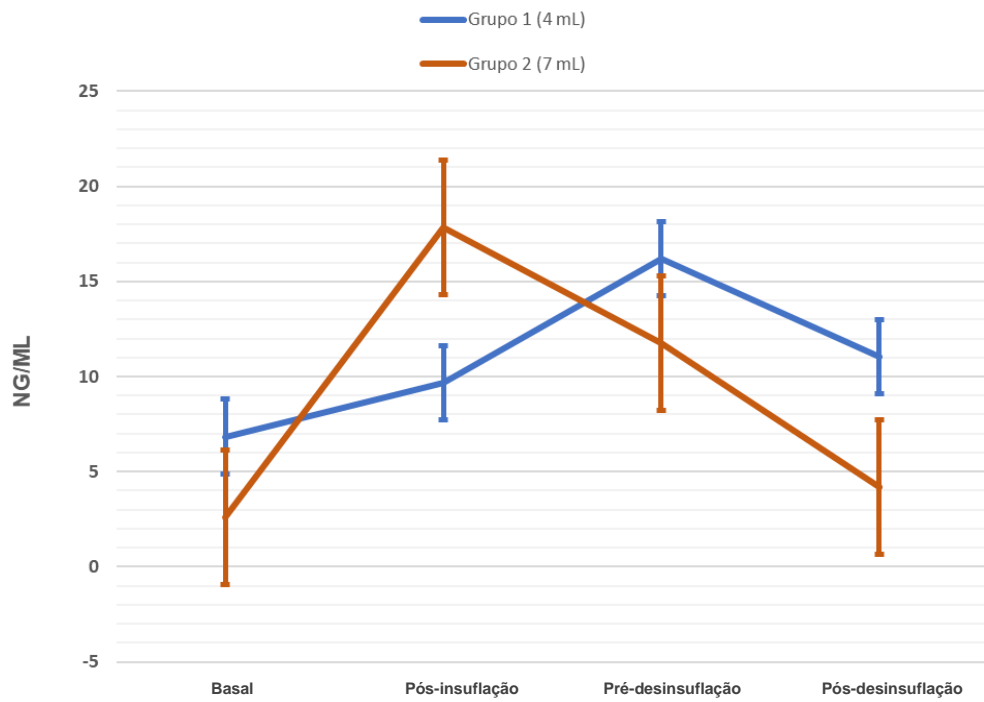
**Tabela 21 - Valores individualizados de IL-8 para o Grupo 2 (7 mL)**

Animal	Grupo	Valores de IL-8 (ng/mL)			
		Basal	Pós-insuflação	Pré-desinsuflação	Pós-desinsuflação
2	2 (7 mL)	16,04	19,52	8,72	4,51
4	2 (7 mL)	6,92	7,66	2,74	2,51
6	2 (7 mL)	0,12	0,82	0,29	0,23
7	2 (7 mL)	0,3	0,45	0,89	0,43
8	2 (7 mL)	0,74	5,67	1,18	0,32
10	2 (7 mL)	0,12	15,21	3,3	1,14
11	2 (7 mL)	1,07	15,52	42,92	-
12	2 (7 mL)	0,18	92,06	35,59	23,65
14	2 (7 mL)	0,5	21,56	21,85	4,71
20	2 (7 mL)	0,16	0,18	0,06	0,05
	Média	2,62	17,87	11,75	4,17
	DP	5,152	27,271	15,991	7,526

IL-8: interleucina 8; DP: desvio padrão.

Os valores médios ( $\pm$  desvio padrão) de IL-8 para o Grupo 2 (7 mL) nos momentos basal, pós-insuflação, pré-desinsuflação e pós-desinsuflação foram de respectivamente  $2,62 \pm 5,152$ ;  $17,87 \pm 27,271$ ;  $11,75 \pm 15,991$  e  $4,17 \pm 7,526$  demonstrando um aumento dos valores logo após a insuflação do balão, seguida de queda progressiva dos valores.

O Gráfico 8 demonstra visualmente o comportamento dos valores da IL-8 para ambos os grupos pela representação das curvas das médias e erro padrão ao longo dos momentos do experimento.

**Gráfico 8 - Média e erro padrão das medidas de IL-8**

### 5.3.8 Interleucina 10

A Tabela 22 mostra os valores absolutos em ng/mL, médias e desvio padrão da IL-10 dosada em amostras colhidas a cada momento do experimento para os animais do Grupo 1 (4 mL).

**Tabela 22 - Valores individualizados de IL-10 para o Grupo 1 (4 mL)**

Animal	Grupo	Valores de IL-10 (ng/mL)			
		Basal	Pós-insuflação	Pré-desinsuflação	Pós-desinsuflação
1	1 (4 mL)	1,48	1,18	0,95	1,29
3	1 (4 mL)	1,02	0,94	0,89	0,9
5	1 (4 mL)	1,37	0,73	0,71	0,41
9	1 (4 mL)	0,71	0,7	0,65	0,68
13	1 (4 mL)	0,41	0,77	0,86	0,59
15	1 (4 mL)	0,27	1,44	1,05	0,92
16	1 (4 mL)	0,5	1,67	1,03	1,06
17	1 (4 mL)	0,7	1,41	1,02	0,84
18	1 (4 mL)	0,54	0,48	0,31	0,38
19	1 (4 mL)	0,18	0,3	0,24	0,24
	Média	0,718	0,962	0,771	0,731
	DP	0,420	0,425	0,278	0,314

IL-10: interleucina 10; DP: desvio padrão.

Os valores médios ( $\pm$  desvio padrão) de IL-10 para o Grupo 1 (4 mL) nos momentos basal, pós-insuflação, pré-desinsuflação e pós-desinsuflação foram de respectivamente  $0,718 \pm 0,420$ ;  $0,962 \pm 0,425$ ;  $0,771 \pm 0,278$   $0,731 \pm 0,314$ , demonstrando um aumento de valores após a insuflação, seguida de queda e mantendo a estabilidade dos valores após a desinsuflação.

A Tabela 23 mostra os valores absolutos em ng/mL, médias e desvio padrão da IL-10 dosada em amostras colhidas a cada momento do experimento para os animais do Grupo 2 (7 mL).

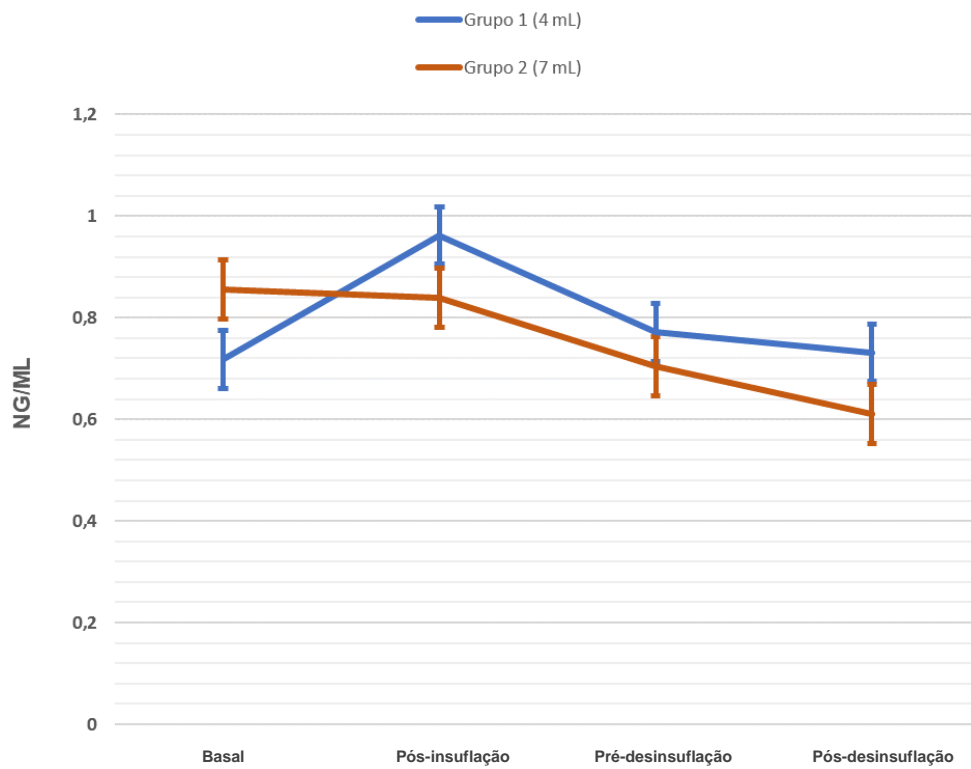
**Tabela 23 - Valores individualizados de IL-10 para o Grupo 2 (7 mL)**

Animal	Grupo	Valores de IL-10 (ng/mL)			
		Basal	Pós-insuflação	Pré-desinsuflação	Pós-desinsuflação
2	2 (7 mL)	0,75	0,73	0,62	0,68
4	2 (7 mL)	1,06	0,69	0,69	0,56
6	2 (7 mL)	0,43	0,63	0,46	0,81
7	2 (7 mL)	1,44	0,82	0,42	0,34
8	2 (7 mL)	1,04	0,83	0,81	0,5
10	2 (7 mL)	0,29	0,75	0,8	0,91
11	2 (7 mL)	1,85	1,23	1,34	-
12	2 (7 mL)	0,61	1,11	1,11	1,03
14	2 (7 mL)	0,6	1,08	0,51	0,43
20	2 (7 mL)	0,49	0,53	0,29	0,24
	Média	0,86	0,84	0,71	0,61
	DP	0,492	0,228	0,324	0,266

IL-10: interleucina 10; DP: desvio padrão.

Os valores médios ( $\pm$  desvio padrão) de IL-10 para o Grupo 2 (7 mL) nos momentos basal, pós-insuflação, pré-desinsuflação e pós-desinsuflação foram de respectivamente  $0,86 \pm 0,492$ ;  $0,84 \pm 0,228$ ;  $0,71 \pm 0,324$  e  $0,61 \pm 0,266$  não demonstrando um aumento dos valores após a insuflação do balão, seguida de queda progressiva dos valores.

O Gráfico 9 demonstra visualmente o comportamento dos valores da IL-10 para ambos os grupos pela representação das curvas das médias e erro padrão ao longo dos momentos do experimento.

**Gráfico 9 - Média e erro padrão das medidas de IL-10**

### 5.3.9 Interleucina 12

A Tabela 24 mostra os valores absolutos em ng/mL, médias e desvio padrão da IL-12 dosada em amostras colhidas a cada momento do experimento para os animais do Grupo 1 (4 mL).

**Tabela 24 - Valores individualizados de IL-12 para o Grupo 1 (4 mL)**

Animal	Grupo	Valores de IL-12 (ng/mL)			
		Basal	Pós-insuflação	Pré-desinsuflação	Pós-desinsuflação
1	1 (4 mL)	1,85	4,41	3,91	5,37
3	1 (4 mL)	2,68	3,23	3,24	3,46
5	1 (4 mL)	1,32	1,16	1,34	1,23
9	1 (4 mL)	1,74	2,64	2,43	2,55
13	1 (4 mL)	1,09	1,06	1,86	1,09
15	1 (4 mL)	2,54	2,22	3,54	3,99
16	1 (4 mL)	1,18	2,62	3,05	3,5
17	1 (4 mL)	1,76	3,19	2,82	3,46
18	1 (4 mL)	1,43	1,1	1,27	1,05
19	1 (4 mL)	0,91	0,99	0,86	1,09
	Média	1,65	2,262	2,432	2,679
	DP	0,561	1,110	0,997	1,438

IL-12: interleucina 12; DP: desvio padrão.

Os valores médios ( $\pm$  desvio padrão) de IL-12 para o Grupo 1 (4 mL) nos momentos basal, pós-insuflação, pré-desinsuflação e pós-desinsuflação foram de respectivamente  $0,91 \pm 1,65$ ;  $0,99 \pm 2,262$ ;  $0,86 \pm 2,432$   $1,09 \pm 2,679$ , demonstrando um aumento de valores após a insuflação, seguida de discreta queda seguida de discreto aumento dos valores após a desinsuflação.

A Tabela 25 mostra os valores absolutos em ng/mL, médias e desvio padrão da IL-12 dosada em amostras colhidas a cada momento do experimento para os animais do Grupo 2 (7 mL).



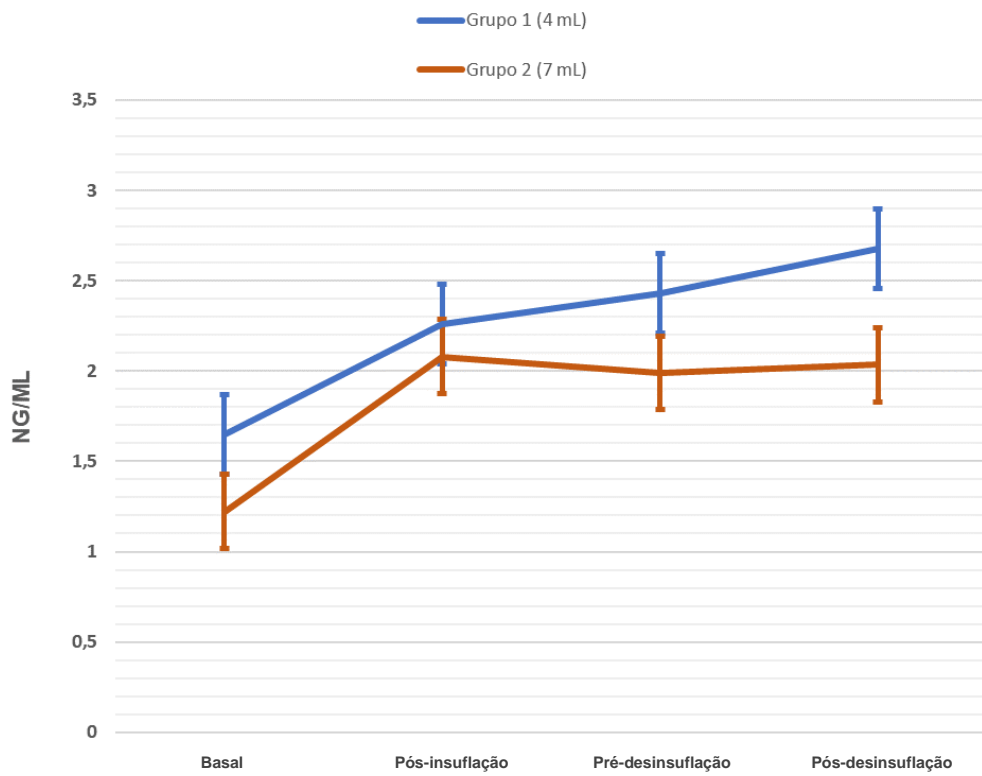
**Tabela 25 - Valores individualizados de IL-12 para o Grupo 2 (7 mL)**

Animal	Grupo	Valores de IL-12 (ng/mL)			
		Basal	Pós-insuflação	Pré-desinsuflação	Pós-desinsuflação
2	2 (7 mL)	1,7	2,4	2,42	2,74
4	2 (7 mL)	1,49	1,6	1,53	1,62
6	2 (7 mL)	0,73	1,01	0,93	1,6
7	2 (7 mL)	1,53	1,16	1,4	1,17
8	2 (7 mL)	1,14	2,14	1,84	1,11
10	2 (7 mL)	1,08	2,29	2,41	2,95
11	2 (7 mL)	1,43	2,09	3,33	-
12	2 (7 mL)	0,96	4,43	2,98	4,39
14	2 (7 mL)	1,39	2,9	2,46	2,21
20	2 (7 mL)	0,77	0,78	0,6	0,52
	Média	1,22	2,08	1,99	2,03
	DP	0,335	1,068	0,882	1,182

IL-12: interleucina 12; DP: desvio padrão.

Os valores médios ( $\pm$  desvio padrão) de IL-12 para o Grupo 2 (7 mL) nos momentos basal, pós-insuflação, pré-desinsuflação e pós-desinsuflação foram de respectivamente  $1,22 \pm 0,335$ ;  $2,08 \pm 1,068$ ;  $1,99 \pm 0,882$  e  $2,03 \pm 1,182$  demonstrando um aumento dos valores após a insuflação do balão, seguida de estabilidade dos valores.

O Gráfico 10 demonstra visualmente o comportamento dos valores da IL-12 para ambos os grupos pela representação das curvas das médias e erro padrão ao longo dos momentos do experimento.

**Gráfico 10 - Média e erro padrão das medidas de IL-12**

### 5.3.10 Interleucina 18

A Tabela 26 mostra os valores absolutos em ng/mL, médias e desvio padrão da IL-18 dosada em amostras colhidas a cada momento do experimento para os animais do Grupo 1 (4 mL).

**Tabela 26 - Valores individualizados de IL-18 para o Grupo 1 (4 mL)**

Animal	Grupo	Valores de IL-18 (ng/mL)			
		Basal	Pós-insuflação	Pré-desinsuflação	Pós-desinsuflação
1	1 (4 mL)	3,05	5,69	4,88	6,89
3	1 (4 mL)	3,96	5,96	6,17	6,48
5	1 (4 mL)	2,46	1,74	2,36	1,85
9	1 (4 mL)	1,39	0,93	1,35	1,41
13	1 (4 mL)	1,23	1,91	2,46	1,78
15	1 (4 mL)	1,04	2,25	1,93	2,31
16	1 (4 mL)	2,33	4,06	4,11	6,74
17	1 (4 mL)	1,48	3,38	3,16	3,73
18	1 (4 mL)	1,41	1,16	0,97	1,23
19	1 (4 mL)	0,71	0,78	0,64	0,78
	Média	1,906	2,786	2,803	3,32
	DP	0,967	1,810	1,694	2,337

IL-18: interleucina 18; DP: desvio padrão.

Os valores médios ( $\pm$  desvio padrão) de IL-18 para o Grupo 1 (4 mL) nos momentos basal, pós-insuflação, pré-desinsuflação e pós-desinsuflação foram de respectivamente  $1,906 \pm 0,967$ ;  $2,786 \pm 1,810$ ;  $2,803 \pm 1,694$  e  $3,32 \pm 2,337$ , demonstrando um aumento progressivo de valores após a insuflação.

A Tabela 27 mostra os valores absolutos em ng/mL, médias e desvio padrão da IL-18 dosada em amostras colhidas a cada momento do experimento para os animais do Grupo 2 (7 mL).

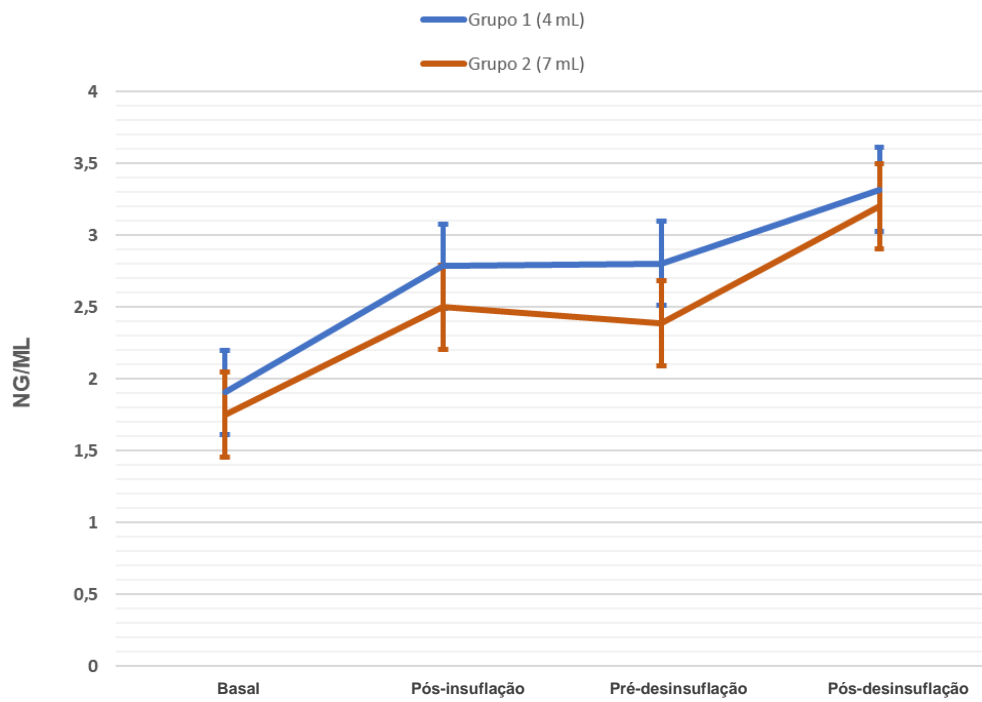
**Tabela 27 - Valores individualizados de IL-18 para o Grupo 2 (7 mL)**

Animal	Grupo	Valores de IL-18 (ng/mL)			
		Basal	Pós-insuflação	Pré-desinsuflação	Pós-desinsuflação
2	2 (7 mL)	1,76	3,71	5,5	6,35
4	2 (7 mL)	1,89	2,1	2,06	2,05
6	2 (7 mL)	0,95	1,34	2,76	3,26
7	2 (7 mL)	2,44	1,76	1,03	1,45
8	2 (7 mL)	3,01	3,38	2,7	2,19
10	2 (7 mL)	1,25	1,98	2,41	3,44
11	2 (7 mL)	2,58	2,38	4,11	-
12	2 (7 mL)	0,74	5,06	1,14	8,07
14	2 (7 mL)	1,7	1,87	1,59	1,56
20	2 (7 mL)	1,23	1,41	0,59	0,45
	Média	1,76	2,50	2,39	3,20
	DP	0,742	1,189	1,501	2,484

IL-18: interleucina 18; DP: desvio padrão.

Os valores médios ( $\pm$  desvio padrão) de IL-12 para o Grupo 2 (7 mL) nos momentos basal, pós-insuflação, pré-desinsuflação e pós-desinsuflação foram de respectivamente  $1,76 \pm 0,742$ ;  $2,50 \pm 1,189$ ;  $2,39 \pm 1,501$  e  $3,20 \pm 2,484$  demonstrando um aumento dos valores após a insuflação do balão, seguida de estabilidade dos valores e novo aumento após a desinsuflação.

O Gráfico 11 demonstra visualmente o comportamento dos valores da IL-18 para ambos os grupos pela representação das curvas das médias e erro padrão ao longo dos momentos do experimento.

**Gráfico 11 - Média e erro padrão das medidas de IL-18**

### 5.3.11 TNF $\alpha$

A Tabela 28 mostra os valores absolutos em ng/mL, médias e desvio padrão do TNF $\alpha$  dosado em amostras colhidas a cada momento do experimento para os animais do Grupo 1 (4 mL).

**Tabela 28 - Valores individualizados de TNF $\alpha$  para o Grupo 1 (4 mL)**

Animal	Grupo	Valores de TNF $\alpha$ (ng/mL)			
		Basal	Pós-insuflação	Pré-desinsuflação	Pós-desinsuflação
1	1 (4 mL)	16,95	2,86	1,87	1,47
3	1 (4 mL)	5,13	2,01	1,65	1,42
5	1 (4 mL)	12,81	2,41	0,47	0,22
9	1 (4 mL)	0,85	3,01	0,86	0,5
13	1 (4 mL)	0,11	0,22	0,18	0,17
15	1 (4 mL)	0,17	42,67	7,91	2,09
16	1 (4 mL)	2,18	28,5	7,74	2,4
17	1 (4 mL)	1,12	0,44	0,16	0,12
18	1 (4 mL)	0,1	0,08	0,04	0,08
19	1 (4 mL)	0,03	0,02	0,03	0,02
	Média	3,945	8,222	2,091	0,849
	DP	5,735	14,087	2,932	0,863

TNF $\alpha$ : fator de necrose tumoral  $\alpha$ ; DP: desvio padrão.

Os valores médios ( $\pm$  desvio padrão) de TNF $\alpha$  para o Grupo 1 (4 mL) nos momentos basal, pós-insuflação, pré-desinsuflação e pós-desinsuflação foram de respectivamente  $3,945 \pm 5,735$ ;  $8,222 \pm 14,087$ ;  $2,091 \pm 2,932$  e  $0,849 \pm 0,863$ , demonstrando um aumento de valores após a insuflação, seguido de queda abaixo das concentrações basais.

A Tabela 29 mostra os valores absolutos em ng/mL, médias e desvio padrão do TNF $\alpha$  dosado em amostras colhidas a cada momento do experimento para os animais do Grupo 2 (7 mL).

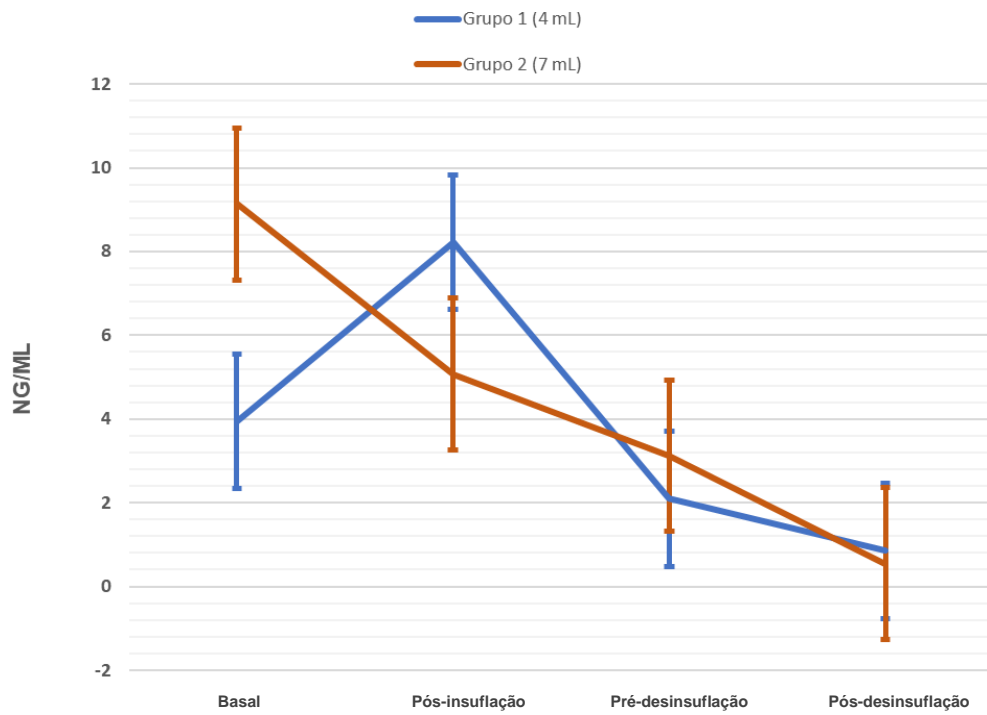
**Tabela 29 - Valores individualizados de TNF $\alpha$  para o Grupo 2 (7 mL)**

Animal	Grupo	Valores de TNF $\alpha$ (ng/mL)			
		Basal	Pós-insuflação	Pré-desinsuflação	Pós-desinsuflação
2	2 (7 mL)	2,79	0,74	0,5	0,45
4	2 (7 mL)	17,58	2,89	1,39	0,9
6	2 (7 mL)	1,1	2,71	0,46	0,27
7	2 (7 mL)	0,57	0,31	0,15	0,09
8	2 (7 mL)	10,71	1,85	0,66	0,27
10	2 (7 mL)	0,1	7,84	1,2	0,85
11	2 (7 mL)	35,76	17,13	3,11	-
12	2 (7 mL)	22,41	2,46	22,65	1,48
14	2 (7 mL)	0,15	14,61	0,88	0,37
20	2 (7 mL)	0,14	0,15	0,19	0,2
	Média	9,13	5,07	3,12	0,54
	DP	12,384	6,121	6,916	0,449

TNF $\alpha$ : fator de necrose tumoral  $\alpha$ ; DP: desvio padrão.

Os valores médios ( $\pm$  desvio padrão) de TNF $\alpha$  para o Grupo 2 (7 mL) nos momentos basal, pós-insuflação, pré-desinsuflação e pós-desinsuflação foram de respectivamente  $9,13 \pm 12,384$ ;  $5,07 \pm 6,121$ ;  $3,12 \pm 6,916$  e  $0,54 \pm 0,449$  demonstrando uma queda dos valores após a insuflação do balão, mantida até o fim do experimento.

O Gráfico 12 demonstra visualmente o comportamento dos valores da TNF $\alpha$  para ambos os grupos pela representação das curvas das médias e erro padrão ao longo dos momentos do experimento.

**Gráfico 12 - Média e erro padrão das medidas de TNF $\alpha$** 



#### 5.4 Significância estatística das concentrações de citocinas

A Tabela 30 demonstra os valores de significância estatística p para variações nos valores de concentrações de citocinas entre grupos, entre momentos do experimento e de interação momento/grupos.

**Tabela 30 - Valor de p para variações de valores de concentração de citocinas**

Citocina	Valor de p		
	Grupos	Momentos	Interação
IL-1 $\alpha$	0,617	<b>0,006</b>	0,848
IL-1 $\beta$	0,934	<b>0,014</b>	0,889
IL-1ra	0,919	<b>&lt;0,001</b>	0,996
IL-2	0,543	<b>0,022</b>	0,327
IL-4	0,166	<b>0,015</b>	0,397
IL-6	0,837	<b>0,01</b>	0,922
IL-8	0,766	0,257	0,679
IL-10	0,765	0,203	0,505
IL-12	0,281	<b>&lt;0,001</b>	0,793
IL-18	0,732	<b>0,002</b>	0,913
TNF $\alpha$	0,747	<b>0,008</b>	0,306

Valores estatisticamente significantes para  $p < 0,05$ .

IL-1 $\alpha$ : interleucina 1  $\alpha$ ; IL-1  $\beta$ : interleucina 1  $\beta$ ; IL-1ra: interleucina 1 receptor agonista; IL-2: interleucina 2; IL-4: interleucina 4; IL-6: interleucina 6; IL-8: interleucina 8; IL-10: interleucina 10; IL-12: interleucina 12; IL-18: interleucina 18; TNF $\alpha$ : fator de necrose tumoral  $\alpha$ .

Avaliando as variações médias nas concentrações séricas de citocinas entre os dois grupos de hipertensão intracraniana não foi verificada uma diferença estatisticamente significativa entre grupos, assim como na interação momento *versus* grupo (comportamento médio dos grupos ao longo dos momentos), para nenhuma das citocinas dosadas. Contudo na avaliação entre momentos do experimento a variação média de dosagens séricas foi estatisticamente significativa para todas as citocinas dosadas, à exceção de IL-8 e IL-10.

## 5.5 Escore Z

De modo a comparar o tamanho das variações das dosagens de citocinas, uma vez que essas medidas apresentavam escalas diferentes para cada uma delas, seus valores foram transformados para escalas logarítmicas e padronizados como escores Z tendo os valores basais como referência. Assim, embora cada citocina tenha suas medidas dentro de uma escala própria, pode-se compará-las por meio de uma escala padronizada.

**Tabela 31 - Variação média padronizada (escore Z) das citocinas ao longo do tempo**

Citocina	Momento		
	Pós-insuflação	Pré-desinsuflação	Pós-desinsuflação
IL-1 $\alpha$	0,65 $\pm$ 0,84	0,54 $\pm$ 0,90	0,51 $\pm$ 1,02
IL-1 $\beta$	1,03 $\pm$ 1,30	1,26 $\pm$ 1,42	1,49 $\pm$ 1,64
IL-1ra	1,67 $\pm$ 0,89	1,89 $\pm$ 0,74	1,89 $\pm$ 0,69
IL-2	-0,12 $\pm$ 0,95	-0,52 $\pm$ 0,92	-0,78 $\pm$ 0,89
IL-4	-0,17 $\pm$ 0,88	-0,59 $\pm$ 0,93	-0,78 $\pm$ 0,79
IL-6	1,15 $\pm$ 1,13	1,17 $\pm$ 1,35	0,97 $\pm$ 1,41
IL-8	1,03 $\pm$ 1,15	0,85 $\pm$ 1,24	0,53 $\pm$ 1,15
IL-10	0,37 $\pm$ 0,67	0,01 $\pm$ 0,78	-0,15 $\pm$ 0,80
IL-12	0,99 $\pm$ 1,51	1,08 $\pm$ 1,50	1,11 $\pm$ 1,82
IL-18	0,66 $\pm$ 1,22	0,53 $\pm$ 1,43	0,85 $\pm$ 1,66
TNF $\alpha$	0,13 $\pm$ 0,91	-0,25 $\pm$ 0,77	-0,54 $\pm$ 0,58

Valores apresentados em escore Z médio  $\pm$  desvio padrão.

IL-1 $\alpha$ : interleucina 1  $\alpha$ ; IL-1 $\beta$ : interleucina 1  $\beta$ ; IL-1ra: interleucina 1 receptor agonista; IL-2: interleucina 2; IL-4: interleucina 4; IL-6: interleucina 6; IL-8: interleucina 8; IL-10: interleucina 10; IL-12: interleucina 12; IL-18: interleucina 18; TNF $\alpha$ : fator de necrose tumoral  $\alpha$ .

As citocinas que apresentaram as maiores variações em relação ao desvio padrão após padronização (escore Z) foram IL-1 $\beta$ , IL-1ra, IL-6 e IL-12.

## 5.6 Equações de estimativas generalizadas

Equações de estimativas generalizadas foram calculadas para correlação entre valores de PIC e citocinas entre os grupos, ao longo do experimento.

**Tabela 32 - Resultados de EEGs para relação citocinas versus PIC**

Variável	Fator (variação 1 mmHg)	Coefficiente	Erro padrão	Teste (Wald)	p
IL-1 $\alpha$	Intercepto	0,058	0,010	34,678	<0,001
	PIC	0,001	0,000	2,537	0,111
IL-1 $\beta$	Intercepto	1,779	0,528	11,359	0,001
	PIC	0,016	0,029	0,319	0,572
IL-1ra	Intercepto	32,753	6,393	26,250	<0,001
	PIC	1,073	0,466	5,297	<b>0,021</b>
IL-2	Intercepto	0,105	0,013	62,949	<0,001
	PIC	0,000	0,001	0,721	0,396
IL-4	Intercepto	0,542	0,059	84,230	<0,001
	PIC	-0,003	0,003	1,445	0,229
IL-6	Intercepto	1,166	0,373	9,800	0,002
	PIC	0,049	0,029	2,860	0,091
IL-8	Intercepto	2,640	0,821	10,349	0,001
	PIC	0,584	0,181	10,397	<b>0,001</b>
IL-10	Intercepto	0,785	0,073	117,009	<0,001
	PIC	-0,001	0,003	0,155	0,694
IL-12	Intercepto	1,811	0,207	76,780	<0,001
	PIC	0,016	0,010	2,723	0,099
IL-18	Intercepto	2,485	0,340	53,322	<0,001
	PIC	0,007	0,016	0,202	0,653
TNF $\alpha$	Intercepto	5,815	1,531	14,431	<0,001
	PIC	-0,112	0,035	10,429	<b>0,001</b>

EEG com distribuição Gama e função de ligação identidade.

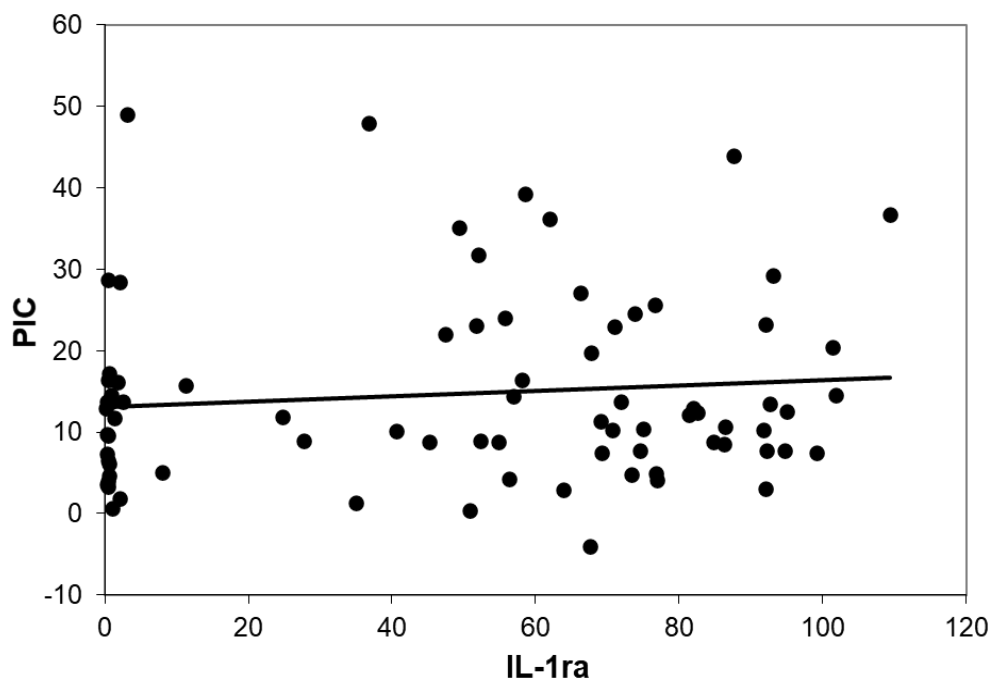
IL-1 $\alpha$ : interleucina 1  $\alpha$ ; PIC: pressão intracraniana; IL-1 $\beta$ : interleucina 1  $\beta$ ; IL-1ra: interleucina 1 receptor agonista; IL-2: interleucina 2; IL-4: interleucina 4; IL-6: interleucina 6; IL-8: interleucina 8; IL-10: interleucina 10; IL-12: interleucina 12; IL-18: interleucina 18; TNF $\alpha$ : fator de necrose tumoral  $\alpha$ .

De acordo com a Tabela 32, apenas os valores de IL-1ra, IL-8 e TNF $\alpha$  apresentaram relação estatisticamente significativa com os valores da PIC (valor de  $p < 0,05$ ), com valores de  $p$ : 0,021; 0,001 e 0,001, respectivamente. Os valores das demais citocinas não apresentaram relação estatisticamente significativa com os valores da PIC (valor de  $p > 0,05$ ).

O aumento de uma unidade da PIC (1 mmHg) levou a aumento de 1,07 da IL-1ra, 0,58 da IL-8 e redução de 0,112 do TNF $\alpha$ .

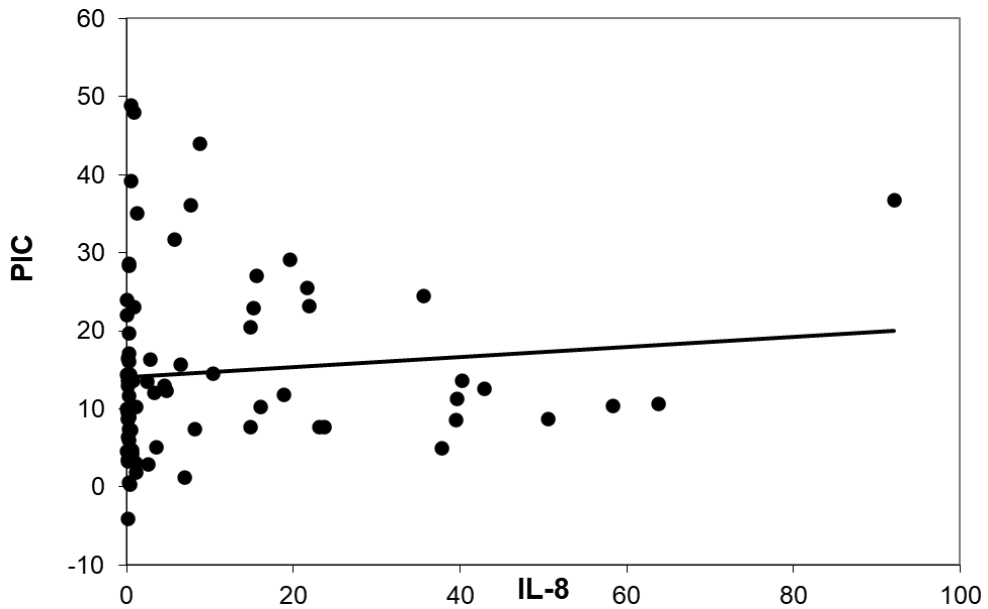
Os Gráficos 13, 14 e 15 apresentam os diagramas de dispersão da PIC em função das citocinas IL-1ra, IL-8 e TNF $\alpha$ .

**Gráfico 13 - Diagrama de dispersão da PIC em função de IL-1ra e linha de tendência**



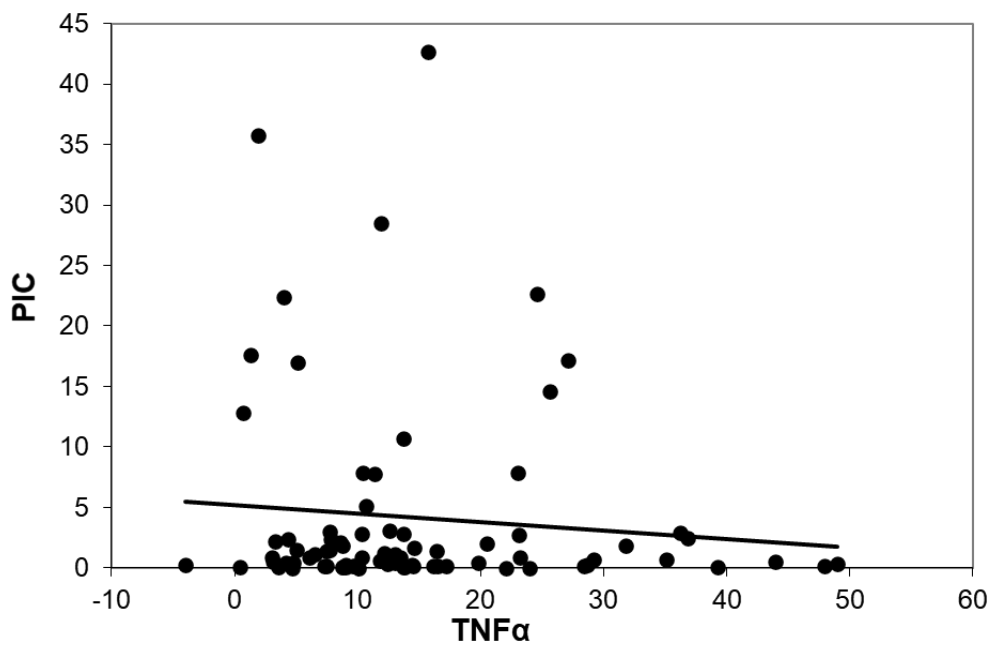
IL-1ra: interleucina 1 receptor agonista.

**Gráfico 14 - Diagrama de dispersão da PIC em função de IL-8 e linha de tendência**



IL-8: interleucina 8.

**Gráfico 15 - Diagrama de dispersão da PIC em função de TNF $\alpha$  e linha de tendência**



TNF $\alpha$ : fator de necrose tumoral  $\alpha$ .

Embora as EEGs demonstrem que os valores de IL-1ra, IL-8 e TNF $\alpha$  apresentam associação estatisticamente significativa com os valores da PIC (valor de  $p < 0,05$ ), o padrão de dispersão dos pontos nos diagramas de dispersão sugere uma relação fraca entre valores de PIC e citocinas.

Considerando que, com exceção da IL-8 e IL-10, todas as citocinas demonstraram uma relação estatisticamente significativa entre variações de suas concentrações e os momentos do experimento, formulou-se a hipótese de que, a ausência de relação estatisticamente significativa entre os valores da PIC e citocinas obtida nas EEGs, pudesse ser por conta de interferência do último momento do experimento (pós-desinsuflação), onde se observou nos gráficos um comportamento de manutenção da progressão de valores das citocinas, apesar de remissão da HIC. Sendo assim, essa hipótese foi explorada calculando novas EEGs em que foram excluídas as medidas das citocinas do último momento do experimento (pós-desinsuflação), conforme demonstrado na Tabela 33.

**Tabela 33 - Resultados de EEGs para relação citocinas versus PIC excluindo o momento de pós-desinsuflação**

Variável	Fator (variação 1 mmHg)	Coefficiente	Erro padrão	Teste (Wald)	p
IL-1 $\alpha$	Intercepto	0,043	0,009	24,809	<0,001
	PIC	0,001	0,000	9,677	<b>0,002</b>
IL-1 $\beta$	Intercepto	0,360	0,210	2,942	0,086
	PIC	0,082	0,028	8,483	<b>0,004</b>
IL-1ra	Intercepto	12,639	6,217	4,134	0,042
	PIC	2,178	0,651	11,182	<b>0,001</b>
IL-2	Intercepto	0,122	0,016	56,100	<0,001
	PIC	-0,001	0,001	2,471	0,116
IL-4	Intercepto	0,619	0,073	72,227	<0,001
	PIC	-0,005	0,003	3,339	0,068
IL-6	Intercepto	0,508	0,308	2,713	0,100
	PIC	0,082	0,032	6,578	<b>0,010</b>
IL-8	Intercepto	1,258	1,888	0,444	0,505
	PIC	0,694	0,274	6,429	<b>0,011</b>
IL-10	Intercepto	0,837	0,089	89,340	<0,001
	PIC	-0,003	0,004	0,493	0,483
IL-12	Intercepto	1,436	0,185	60,311	<0,001
	PIC	0,032	0,010	10,629	<b>0,001</b>
IL-18	Intercepto	1,778	0,268	44,173	<0,001
	PIC	0,036	0,014	6,793	<b>0,009</b>
TNF $\alpha$	Intercepto	7,651	1,881	16,551	<0,001
	PIC	-0,151	0,040	14,191	<b>&lt;0,001</b>

EEG com distribuição Gama e função de ligação identidade.

IL-1 $\alpha$ : interleucina 1  $\alpha$ ; PIC: pressão intracraniana; IL-1 $\beta$ : interleucina 1  $\beta$ ; IL-1ra: interleucina 1 receptor agonista; IL-2: interleucina 2; IL-4: interleucina 4; IL-6: interleucina 6; IL-8: interleucina 8; IL-10: interleucina 10; IL-12: interleucina 12; IL-18: interleucina 18; TNF $\alpha$ : fator de necrose tumoral  $\alpha$ .

Após a retirada do momento pós-desinsuflação, a variação da PIC foi associada estatisticamente com 8 das 11 citocinas avaliadas, exceção a IL-2, IL-4 e IL-10. O aumento da PIC levou a aumento estatisticamente significativo de IL-1 $\alpha$ , IL- $\beta$ , IL-1ra, IL-6, IL-8, IL-12 E IL-18, e a uma diminuição nas concentrações de TNF $\alpha$ .

## **6 DISCUSSÃO**



## 6.1 Discussão de resultados

A PIC tem a HIC como a via final comum de diversos processos patológicos intracranianos, sendo uma importante variável a ser monitorada na prática clínica. A monitoração intensiva da PIC, visando a prevenção e tratamento da HIC e da hipoperfusão cerebral, permanece inclusive como a principal forma de manuseio da patologia neurocirúrgica mais prevalente, o TCE grave. O imediato reconhecimento e tratamento desses, que são considerados insultos secundários ao tecido cerebral, demonstraram desfechos melhores em inúmeros trabalhos (Lazaridis e Robertson, 2016; Carney *et al.*, 2017).

Atualmente, métodos de monitoração invasiva da PIC continuam sendo os mais utilizados no dia a dia das unidades de terapia intensiva. Desvantagens do uso desses métodos incluem a necessidade de recursos intensivos para sua utilização, potencial de complicações graves e variados graus de imprecisão de medida; o desenvolvimento de métodos não invasivos, de alta precisão, com baixo índice de complicações e facilidade de aplicação, vêm sendo buscado por diversos grupos de pesquisa.

Uma dificuldade constante nessa linha de pesquisa é de se desenhar estudos capazes de estabelecer uma correlação o mais linear possível entre a variável a ser testada e a PIC. Tendo isso em vista, utilizou-se um modelo

experimental em que a PIC pode ser submetida a variações pelo experimentador, podendo ser aumentada ou diminuída conforme a necessidade, durante o experimento. A escolha da variável a ser relacionada à PIC recaiu sobre as citocinas por serem biomarcadores passíveis de dosagem em sangue periférico, pela extensa literatura existente no assunto e por haver métodos de dosagem bem estabelecidos e acessíveis em suínos, o animal atualmente de escolha para modelos de estudo de HIC e TCE por conta de giros corticais e substância branca semelhantes às do cérebro humano, possibilidade de injeção de volumes intracranianos 20 a 30 vezes maiores comparativamente aos modelos murinos, e custo relativamente baixo. Por ser um modelo animal experimental, fatores como hipotensão, hipóxia e trauma a outros órgãos, presentes em estudos clínicos, e que podem desencadear respostas inflamatórias capazes de influenciar as concentrações séricas de citocinas e dificultar a interpretação dos resultados, foram minimizados. A maioria dos modelos experimentais publicados utiliza a injeção intracerebral de sangue, sendo útil para estudar os efeitos fisiopatológicos do hematoma intracerebral espontâneo associado à PIC elevada; outros modelos experimentais tentam reproduzir diferentes subtipos de lesão de TCE, como contusão cerebral; essas abordagens apresentam a desvantagem de iniciar inexoravelmente um processo inflamatório secundário à presença de sangue no parênquima ou ao próprio trauma no tecido encefálico, levando à liberação de citocinas. Além disso, esses modelos não permitem a reversão do processo causador da HIC, o que impede a avaliação da dinâmica da variação das citocinas ao longo das variações da PIC.

Os resultados do presente experimento demonstram que ao longo dos momentos de insuflação e desinsuflação do balão, obteve-se variações da PIC significantes (valor de  $p < 0,001$ ), estabelecendo-se um gradiente entre os grupos com insuflação de 4 mL e 7 mL estatisticamente significativa (valor de  $p = 0,004$ ). Esses resultados validam este modelo para a criação de variações da PIC controladas pelo experimentador ao longo do tempo, estabelecendo assim as condições necessárias para eventuais variações nas dosagens de citocinas.

Quando analisadas as dosagens de citocinas, os achados do presente estudo mostram uma variabilidade significativa nas curvas de concentrações ao longo do experimento. A visualização dos dados obtidos, quando utilizados os gráficos de média e erro padrão para cada citocina demonstram padrões bastante diversos, com IL-8 por exemplo, obedecendo o padrão de subida de concentrações séricas após a insuflação do balão, seguida de queda após a desinsuflação; por outro lado, quando observado apenas o padrão gráfico, IL-10 praticamente não apresenta variação de concentrações ao longo do experimento, contrastando ainda com IL-2 e IL-4, que tendem a queda de concentrações após a insuflação do balão.

Outro aspecto na análise dos resultados que chama a atenção é que, quando comparados os grupos 1 e 2 (4 mL e 7 mL de insuflação do balão, respectivamente), apesar de obter-se um gradiente de PIC entre grupos ao longo do experimento (valor de  $p = 0,004$ ), com interação entre grupos e momentos também estatisticamente significativa (valor de  $p < 0,001$ ), o mesmo não ocorreu para nenhuma das citocinas. Esse achado sugere a

ausência de uma relação quantitativa significativa entre variação da PIC e concentração sérica de citocinas. Essa sugestão foi confirmada pelo estudo de regressão linear, cujas EEGs não mostraram relação estatisticamente significativa entre a medida da PIC e a dosagem de citocinas, a não ser da IL-1ra, IL-8 e TNF- $\alpha$ , e mesmo dessas, obtendo-se uma relação fraca com a PIC quando analisados os diagramas de dispersão. **Isso sugere uma ausência de relação** entre PIC e dosagem sérica de citocinas. Estudos prévios apontavam para resultados semelhantes (Perez-Barcena *et al.*, 2011) embora a variabilidade individual da dosagem das citocinas pudesse ser resultado da variedade de patologias e desenhos desses estudos (Hillman *et al.*, 2007).

No entanto percebe-se ao longo do experimento que, com exceção de IL-8 e IL-10, todas as citocinas apresentaram variações médias de concentrações séricas em relação ao momento do experimento, estatisticamente significantes (valor de  $p < 0,05$ ), tanto para o grupo 1 quanto para o grupo 2. De modo a explorar esse achado, propôs-se retirar da análise de regressão a dosagem de citocinas obtida no momento pós-desinsuflação. Com a exclusão do momento pós-desinsuflação as EEGs demonstraram que a variação na PIC passou a ser estatisticamente relacionada com a variação nas dosagens de praticamente todas as citocinas avaliadas, exceção apenas de IL-2, IL-4 e IL-10 (valor de  $p > 0,05$ ). O aumento da PIC acarretou aumento estatisticamente significativo de IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-1ra, IL-6, IL-8, IL-12 e IL-18 enquanto no TNF- $\alpha$  o aumento da PIC acarretou redução de dosagens.

Assim, pode-se afirmar que a relação entre a PIC e as concentrações de citocinas é estatisticamente significativa até o momento em que o balão é desinsuflado. A partir daí, existe um desacoplamento da relação estatística entre PIC e dosagem de citocinas. Levantou-se a possibilidade, no entanto, de que a variação das concentrações de citocinas ocorra não por conta do aumento da PIC mas sim **em paralelo** com a variação da PIC. A principal hipótese é que a variação das concentrações das citocinas ocorra devido a um mecanismo de inflamação desencadeado pela lesão mecânica do tecido cerebral, ou mesmo secundária à HIC, o qual se mantém mesmo após a desinsuflação do balão e redução da PIC. Outra hipótese para esse comportamento seria de que a curva de concentração das citocinas tem um tempo de resposta diferente da curva de variação da PIC e que, se houvesse obtido dosagens de citocinas mais tardias, haveria uma manutenção da correlação estatística entre ambas de forma fidedigna.

Considerando-se a complexidade das interações entre as diversas citocinas, as quais podem ter efeito benéfico ou deletério dentro do processo de agressão secundária ao tecido encefálico, a heterogeneidade das curvas temporais de concentrações em relação aos diversos eventos secundários ocorrendo no tecido encefálico durante o processo inflamatório e a possível variabilidade em suas concentrações a depender do material em que são dosadas, LCR ou sangue, é razoável afirmar que a utilização da dosagem de citocinas como marcadores de eventos clínicos agudos, de forma geral, e no caso específico das variações de PIC, não oferece a agilidade e precisão suficientes que a intervenção nesse tipo de evento necessita. No entanto, o

estabelecimento de padrões de curvas para citocinas isoladas ou grupo delas, como padrões preditores de prognóstico e como marcadores de injúrias secundárias durante condições clínicas de agressão ao tecido encefálico, permanece como uma linha de investigação promissora. Em estudo prospectivo com 87 pacientes vítimas de TCE grave, e sete controles Kumar *et al.*, (2015b) verificaram que concentrações séricas de IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IL-10 e TNF- $\alpha$  se mantinham elevadas 3 meses após o TCE. Análise multivariada demonstrou que o aumento dessas citocinas estava relacionado a um aumento significativo da chance de pior prognóstico neurológico 6 e 12 meses após o TCE; do mesmo modo, níveis aumentados da relação das concentrações IL-6/IL-10, estavam relacionados a mau prognóstico neurológico, essa relação sendo explicada pela maior concentração da citocina pró-inflamatória IL-6 sobre a anti-inflamatória IL-10 nesses pacientes.

Sendo assim, pode-se afirmar que a principal limitação em estudos sobre neuroinflamação é o fato de que os autores investigam principalmente a relação entre citocinas selecionadas previamente e variáveis clínicas pontuais ao longo do tempo, como PIC e hipoxemia. Nesses estudos, correlações univariadas entre um determinado biomarcador e uma variável clínica são aplicadas para extrair inferências quanto à ação biológica das citocinas selecionadas. Essa abordagem pode ser falha porque, como se viu no presente estudo, a lesão primária é o gatilho comum para a cascata de produção de citocinas. Desse modo pode-se sugerir que, mais do que estudos de variáveis clínicas pontuais e seu impacto na concentração de citocinas ao longo do tempo, sejam desenhados estudos que explorem

padrões de variação das citocinas junto a variáveis clínicas menos dinâmicas, como por exemplo tipo de lesão secundária predominante ou prognósticos clínicos.

A hipótese de padrões de curvas de citocinas para estabelecimento de prognóstico e insultos secundários é analisada em estudo prospectivo com 29 pacientes vítimas de TCE grave, no qual foi demonstrado que pacientes que evoluíram para morte encefálica exibiam concentrações maiores de citocinas se comparados a pacientes com prognósticos neurológicos favoráveis e desfavoráveis após 6 meses do evento. Além disso, também demonstrou padrões de curva distintos para a presença de diferentes insultos secundários (Mazzeo *et al.*, 2016). O presente modelo experimental, por ser capaz de manter variáveis sistêmicas como pressão arterial e oximetria constantes, diferencia-se dos trabalhos clínicos que utilizam principalmente pacientes vítimas de TCE. Esses pacientes apresentam frequentemente mecanismos secundários de agressão ao tecido encefálico como hipoxemia e hipotensão, podendo gerar padrões de curvas de citocinas contaminados por esses mecanismos. Sendo assim, ao se assumir que o modelo deste estudo estabelece um padrão de curva de citocinas decorrente do processo inflamatório produzido apenas pela introdução e insuflação do cateter e HIC resultante, pode-se acrescentar a ele mecanismos secundários de agressão tecidual ao encéfalo, como por exemplo a própria hipóxia, e se comparar as curvas. Tais experimentos poderiam gerar padrões de curvas capazes de diagnosticar na prática clínica, o predomínio de mecanismos de lesão secundária a tempo de serem corrigidos.

Outra abordagem seria a pesquisa de eventos que antecedem e sinalizam a produção das citocinas, em uma tentativa de compreensão da cascata inflamatória responsável por lesão secundária do tecido encefálico em estágios muito precoces do processo. Nesse sentido, o estudo dos inflamossomas é bastante promissor. Inflamossomas são complexos proteicos oligoméricos intracelulares, presentes no sistema imune inato. A primeira descrição de um inflamossoma foi do complexo responsável pela ativação da proteína caspase-1, responsável pela quebra da proforma da IL-1 $\beta$  (Martinon *et al.*, 2002). Os inflamossomas NLRP1 e NLRP3 foram recentemente identificados como importantes atores nos mecanismos de neuroinflamação responsáveis por lesões secundárias no TCE (Mortezaee *et al.*, 2018).

## **6.2 Limitações do estudo**

Apesar das informações relevantes contidas no estudo, cabe pontuar que, embora fatores de lesão tecidual tenham sido minimizados, a passagem e insuflação de um cateter pelo tecido cerebral são aparentemente suficientes para causar lesão mecânica ao tecido encefálico e iniciar um processo inflamatório com desencadeamento da cascata de citocinas. Uma sugestão de aperfeiçoamento ao modelo é a modificação no posicionamento do cateter para insuflação em posição epidural ao invés de intracerebral, minimizando assim a possibilidade de lesão mecânica do tecido encefálico por insuflação do balão. Outra crítica cabe à ausência de um grupo controle; fatores como o custo dos animais de experimentação e possíveis questões éticas cabem como justificativa para a ausência de grupo



controle, no entanto, sugerindo se como possível solução, o acréscimo de medida de citocina antes da manipulação do crânio do animal e uso dessa medida como controle. Do mesmo modo, outra crítica se dá quanto ao estabelecimento da curva temporal de coleta das amostras, em que um momento de coleta mais tardio poderia ser estabelecido com a intenção de se obter um padrão de curva de citocinas mais preciso e fidedigno, o que ajudaria a concluir quanto à hipótese de persistência das alterações das curvas de citocinas como secundárias a processo inflamatório e não a variação da PIC.

## **7 CONCLUSÕES**

Verificou-se que o experimento foi capaz de induzir hipertensão intracraniana.

Verificou-se variação nas dosagens séricas de citocinas nos diferentes momentos do experimento.

Não se verificou relação entre as variações das medidas de pressão intracraniana nos diferentes grupos e momentos e variações da dosagem sérica de citocinas no modelo experimental do presente estudo.

## **8 ANEXOS**

## Anexo A - Autorização da Comissão de Ética no Uso de Animais para realização do experimento



Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo  
Avenida Dr. Arnaldo, 455  
Pacaembu – São Paulo – SP

### COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

Certificamos que o projeto intitulado “Avaliação de Marcadores de Neuroinflamação em Modelo Animal de Hipertensão Intracraniana” protocolo nº 113/15 sob a responsabilidade de Wellingson Silva Paiva e Marcelo Prudente do Espírito Santo, apresentado pelo Departamento de Neurologia - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSAO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) da Faculdade de Medicina da USP em reunião de 15.07.2015

Vigência do Projeto	Setembro/2017
Espécie/linhagem	suíno
Nº de animais	30
Peso/Idade	20 kg
Sexo	Macho/fêmea
Origem	Granja RG

CEUA-FMUSP, 15 de Julho de 2015

Dr. Eduardo Pompeu  
Coordenador  
Comissão de Ética no Uso de Animais

## Anexo B - Resultados de dosagens de citocinas por amostra obtidos no equipamento Magpix xMAP® (LuminexCorp., Austin, TX)

### MILLIPLEX Analyst Detail Report Summary

Analyte Sample	IL-1alfa ng/mL	IL-1beta ng/mL	IL-1ra ng/mL	IL-2 ng/mL	IL-4 ng/mL	IL-6 ng/mL	IL-8 ng/mL	IL-10 ng/mL	IL-12 ng/mL	IL-18 ng/mL	TNFalfa ng/mL
A1 P29 AM1 25/2/13	0,07	0,73	8,03	0,27	1,39	0,64	3,48	1,48	1,85	3,05	16,95
A1 P29 AM2 25/2/13	0,13	3,63	71,94	0,1	0,49	3,12	40,25	1,18	4,41	5,69	2,86
A1 P29 AM3 25/2/13	0,12	3,58	84,71	0,07	0,34	3,36	50,55	0,95	3,91	4,88	1,87
A1 P29 AM4 25/2/13	0,16	5,44	76,83	0,08	0,41	4,31	37,82	1,29	5,37	6,89	1,47
A2 P31 AM 1 11/3/13	0,13	1,85	70,62	0,07	0,41	1,03	16,04	0,75	1,7	1,76	2,79
A2 P31 AM2 11/3/13	0,19	5,41	93,11	0,06	0,35	3,43	19,52	0,73	2,4	3,71	0,74
A2 P31 AM3 11/3/13	0,16	5,82	87,64	0,05	0,29	2,81	8,72	0,62	2,42	5,5	0,5
A2 P31 AM4 11/3/13	0,16	6,65	82	0,05	0,33	2,12	4,51	0,68	2,74	6,35	0,45
A3 P32 AM1 26/3/13	0,14	5,05	86,36	0,17	0,89	6,39	63,74	1,02	2,68	3,96	5,13
A3 P32 AM2 26/3/13	0,18	9,74	101,43	0,07	0,36	6,04	14,8	0,94	3,23	5,96	2,01
A3 P32 AM3 26/3/13	0,17	10,14	101,84	0,06	0,32	5,26	10,36	0,89	3,24	6,17	1,65
A3 P32 AM4 26/3/13	0,17	11,24	99,14	0,04	0,28	4,93	8,1	0,9	3,46	6,48	1,42
A4 P34 AM1 16/4/13	0,04	0,46	35	0,13	0,59	0,89	6,92	1,06	1,49	1,89	17,58
A4 P34 AM2 16/4/13	0,05	0,92	62	0,09	0,42	1,75	7,66	0,69	1,6	2,1	2,89
A4 P34 AM3 16/4/13	0,05	1,09	58,04	0,1	0,46	1,76	2,74	0,69	1,53	2,06	1,39
A4 P34 AM4 16/4/13	0,04	1,48	63,86	0,06	0,28	1,62	2,51	0,56	1,62	2,05	0,9
A5 P7 AM1 10/9/13	0,05	0,44	1,07	0,18	1	0,43	0,3	1,37	1,32	2,46	12,81
A5 P7 AM2 10/9/13	0,04	0,37	56,34	0,12	0,65	0,47	0,63	0,73	1,16	1,74	2,41
A5 P7 AM3 10/9/13	0,05	0,63	76,92	0,16	0,85	0,47	0,35	0,71	1,34	2,36	0,47
A5 P7 AM4 10/9/13	0,03	0,42	67,6	0,06	0,39	0,16	0,16	0,41	1,23	1,85	0,22
A6 P8 AM1 22/10/13	0,02	0,2	0,17	0,07	0,36	0,07	0,12	0,43	0,73	0,95	1,1
A6 P8 AM2 22/10/13	0,03	0,36	51,66	0,11	0,52	0,49	0,82	0,63	1,01	1,34	2,71
A6 P8 AM3 22/10/13	0,03	0,59	67,79	0,08	0,41	0,37	0,29	0,46	0,93	2,76	0,46
A6 P8 AM4 22/10/13	0,05	0,86	52,25	0,19	0,88	0,31	0,23	0,81	1,6	3,26	0,27
A7 P9 AM1 29/10/13	0,06	0,55	1,27	0,24	1,13	0,27	0,3	1,44	1,53	2,44	0,57
A7 P9 AM2 29/10/13	0,05	0,39	3,12	0,14	0,68	0,34	0,45	0,82	1,16	1,76	0,31
A7 P9 AM3 29/10/13	0,02	0,21	36,76	0,03	0,19	0,2	0,89	0,42	1,4	1,03	0,15
A7 P9 AM4 29/10/13	0,03	0,34	58,6	0,05	0,23	0,13	0,43	0,34	1,17	1,45	0,09
A8 P11 AM1 28/11/13	0,06	0,56	2,52	0,25	1,2	0,48	0,74	1,04	1,14	3,01	10,71
A8 P11 AM2 28/11/13	0,06	0,94	52	0,17	0,71	0,83	5,67	0,83	2,14	3,38	1,85
A8 P11 AM3 28/11/13	0,06	1,23	49,38	0,16	0,74	1,21	1,18	0,81	1,84	2,7	0,66
A8 P11 AM4 28/11/13	0,03	0,88	56,97	0,09	0,42	0,74	0,32	0,5	1,11	2,19	0,27
A9 P28 AM1 26/8/14	0,03	0,29	0,53	0,11	0,71	0,12	0,19	0,71	1,74	1,39	0,85
A9 P28 AM2 26/8/14	0,03	1,18	92,19	0,03	0,44	4,82	14,79	0,7	2,64	0,93	3,01
A9 P28 AM3 26/8/14	0,04	2,14	92,57	0,05	0,47	2,93	2,4	0,65	2,43	1,35	0,86
A9 P28 AM4 26/8/14	0,03	2,9	92,07	0,03	0,4	1,81	1,05	0,68	2,55	1,41	0,5
A10P29 AM1 02/9/14	0,02	0,18	0,31	0,06	0,31	0,06	0,12	0,29	1,08	1,25	0,1
A10 P29 AM2 02/9/14	0,05	1,39	71,04	0,04	0,18	1,61	15,21	0,75	2,29	1,98	7,84
A10 P29 AM3 02/9/14	0,05	2,8	81,29	0,05	0,23	3,24	3,3	0,8	2,41	2,41	1,2
A10 P29 AM4 02/9/14	0,04	3,51	91,76	0,05	0,2	2,74	1,14	0,91	2,95	3,44	0,85
A11 P17 AM1 25/4/14	0,04	0,45	2,01	0,19	0,78	0,89	1,07	1,85	1,43	2,58	35,76
A11 P17 AM2 25/4/14	0,06	1,1	66,21	0,13	0,53	2,18	15,52	1,23	2,09	2,38	17,13
A11 P17 AM3 25/4/14	0,13	6,06	94,94	0,07	0,26	5,86	42,92	1,34	3,33	4,11	3,11
A12 P20 AM1 29/4/14	0,01	0,13	0,42	0,03	0,18	0,17	0,18	0,61	0,96	0,74	22,41
A12 P20 AM2 29/4/14	0,18	8,3	109,37	0,05	0,24	10,11	92,06	1,11	4,43	5,06	2,46
A12 P20 AM3 29/4/14	0,06	1,4	73,77	0,04	0,24	4,43	35,59	1,11	2,98	1,14	22,65
A12 P20 AM4 29/4/14	0,19	13,14	94,71	0,06	0,29	8,85	23,65	1,03	4,39	8,07	1,48
A13 P22 AM1 15/7/14	0,04	0,24	0,29	0,08	0,44	0,08	0,14	0,41	1,09	1,23	0,11
A13 P22 AM2 15/7/14	0,05	0,39	0,35	0,16	0,82	0,2	0,22	0,77	1,06	1,91	0,22
A13 P22 AM3 15/7/14	0,07	0,51	2,05	0,19	0,97	0,22	0,2	0,86	1,86	2,46	0,18
A13 P22 AM4 15/7/14	0,05	0,39	1,73	0,13	0,64	0,15	0,19	0,59	1,09	1,78	0,17
A14 P23 AM1 22/7/14	0,04	0,35	0,3	0,16	0,72	0,16	0,5	0,6	1,39	1,7	0,15
A14 P23 AM2 22/7/14	0,05	0,99	76,66	0,11	0,45	1,63	21,56	1,08	2,9	1,87	14,61
A14 P23 AM3 22/7/14	0,04	1,62	91,98	0,05	0,24	2,78	21,85	0,51	2,46	1,59	0,88
A14 P23 AM4 22/7/14	0,03	1,79	82,6	0,04	0,22	1,11	4,71	0,43	2,21	1,56	0,37
A15 P25 AM1 05/8/14	0,01	0,14	0,3	0,05	0,3	0,16	0,08	0,27	2,54	1,04	0,17
A15 P25 AM2 5/8/14	0,05	0,56	11,19	0,21	1,06	1,84	6,44	1,44	2,22	2,25	42,67
A15 P25 AM3 5/8/14	0,06	1,95	75,03	0,11	0,55	7,07	58,24	1,05	3,54	1,93	7,91
A15 P25 AM4 5/8/14	0,08	5,19	86,22	0,04	0,27	8,22	39,48	0,92	3,99	2,31	2,09
A16 P19 AM1 22/4/14	0,03	0,2	0,37	0,06	0,32	0,11	0,1	0,5	1,18	2,33	2,18
A16 P19 AM2 22/4/14	0,06	0,74	24,71	0,12	0,55	1,61	18,8	1,67	2,62	4,06	28,5
A16 P19 AM3 22/4/14	0,08	2,49	69,06	0,12	0,59	5,2	39,57	1,03	3,05	4,11	7,74
A16 P19 AM4 22/4/14	0,11	4,91	74,56	0,09	0,43	5,02	23,04	1,06	3,5	6,74	2,4
A17 P14 AM1 31/3/15	0,11	0,22	0,42	0,13	0,59	0,12	0,07	0,7	1,76	1,48	1,12
A17 P14 AM2 31/3/15	0,2	0,95	73,31	0,3	1,29	0,8	0,59	1,41	3,19	3,38	0,44
A17 P14 AM3 31/3/15	0,17	0,92	69,14	0,24	1,04	0,46	0,24	1,02	2,82	3,16	0,16
A17 P14 AM4 31/3/15	0,17	1,28	50,81	0,18	0,78	0,57	0,34	0,84	3,46	3,73	0,12
A18 P17 AM1 26/5/15	0,03	0,3	0,83	0,12	0,59	0,16	0,2	0,54	1,43	1,41	0,1
A18 P17 AM2 26/5/15	0,03	0,22	27,63	0,09	0,44	0,14	0,18	0,48	1,1	1,16	0,08
A18 P17 AM3 26/5/15	0,03	0,18	54,86	0,05	0,31	0,09	0,13	0,31	1,27	0,97	0,04
A18 P17 AM4 26/5/15	0,03	0,23	45,18	0,08	0,4	0,11	0,16	0,38	1,05	1,23	0,08
A19 P20 AM1 16/6/15	0,01	0,11	0,62	0,02	0,16	0,03	0,04	0,18	0,91	0,71	0,03
A19 P20 AM1 16/6/15	0,03	0,12	55,76	0,02	0,16	0,05	0,03	0,3	0,99	0,78	0,02
A19 P20 AM1 16/6/15	0,02	0,11	47,35	0,02	0,16	0,04	0,04	0,24	0,86	0,64	0,03
A19 P20 AM1 16/6/15	0,02	0,12	40,57	0,02	0,16	0,04	0,03	0,24	1,09	0,78	0,02
A20 P39 AM1 10/11/15	0,04	0,29	0,46	0,12	0,6	0,11	0,16	0,49	0,77	1,23	0,14
A20 P39 AM2 10/11/15	0,04	0,31	0,51	0,15	0,74	0,12	0,18	0,53	0,78	1,41	0,15
A20 P39 AM3 10/11/15	0,02	0,13	0,4	0,04	0,2	0,04	0,06	0,29	0,6	0,59	0,19
A20 P39 AM4 10/11/15	0,02	0,1	0,84	0,02	0,16	0,04	0,05	0,24	0,52	0,45	0,2

Notes:

Red-higher than maxDC, Black-Lower than minDC, Blue-between maxDC and minDC;  
 NAN-Curve Fitting Failed; N/A-Data marked out; ND-missing original data

## Anexo C - Dados consolidados obtidos no momento Basal

DATA	ANIMAL	GRUPO	GÊNERO	PESO	HORA	VOLUME BALÃO	FC	PAM	TEMPERATURA	SAT O2	EtCO2	TEMP CEREBRAL	PtiO2 CEREBRAL	PiC	IL-1alfa ng/mL	IL-1beta ng/mL	IL-1ra ng/mL	IL-2 ng/mL	IL-4 ng/mL	IL-6 ng/mL	IL-8 ng/mL	IL-10 ng/mL	IL-12 ng/mL	IL-18 ng/mL	TNFalfa ng/mL
25/02/2013	1	1 (4ML)	F	17	11:50	0	66	87,33	37,4	99	40	35,46	2,3	5,1	0,07	0,73	8,03	0,27	1,39	0,64	3,48	1,48	1,85	3,05	16,95
11/03/2013	2	3 (7ML)	M	17,3	11:41	0	146	70	37,8	96	44	36,89	10,7	10,3	0,13	1,85	70,62	0,07	0,41	1,03	16,04	0,75	1,7	1,76	2,79
26/03/2013	3	1 (4ML)	M	18	11:40	0	130	68,33	38,8	99	54	38,1	2,3	10,7	0,14	5,05	86,36	0,17	0,89	6,39	63,74	1,02	2,68	3,96	5,13
16/04/2013	4	3 (7ML)	M	18,4	11:15	0	81	100,33	37,3	97	40	37,8	xxx	1,3	0,04	0,46	35	0,13	0,59	0,89	6,92	1,06	1,49	1,89	17,58
10/09/2013	5	1 (4ML)	M	20	09:54	0	102	86	38,8	96	42	38,89	2,4	0,7	0,05	0,44	1,07	0,18	1	0,43	0,3	1,37	1,32	2,46	12,81
22/10/2013	6	3 (7ML)	M	19,6	11:15	0	115	73	36,5	98	34	37,88	0,4	13	0,02	0,2	0,17	0,07	0,36	0,07	0,12	0,43	0,73	0,95	1,1
29/10/2013	7	3(7ML)	M	21	09:54	0	74	88	36,7	96	41	36,98	0,6	11,8	0,06	0,55	1,27	0,24	1,13	0,27	0,3	1,44	1,53	2,44	0,57
26/11/2013	8	3(7ML)	F	22	11:30	0	85	92	38,7	98	40	38,44	13,2	13,7	0,06	0,56	2,52	0,25	1,2	0,48	0,74	1,04	1,14	3,01	10,71
26/08/2014	9	1(4ML)	M	18	09:30	0	140	69	38,3	99	44	38,49	0,7	6,1	0,03	0,29	0,53	0,11	0,71	0,12	0,19	0,71	1,74	1,39	0,85
02/09/2014	10	3(7ML)	M	18,5	09:26	0	131	86	38,7	99	41	38,93	1,5	3,6	0,02	0,18	0,31	0,06	0,31	0,06	0,12	0,29	1,08	1,25	0,1
25/02/2014	11	3(7ML)	M	19	10:34	0	110	81	38,4	98	38	38,4	1,4	1,9	0,04	0,45	2,01	0,19	0,78	0,89	1,07	1,85	1,43	2,58	35,76
29/04/2014	12	3 (7ML)	M	18	09:40	0	128	95	35,6	98	38	36,43	12,3	4	0,01	0,13	0,42	0,03	0,18	0,17	0,18	0,61	0,96	0,74	22,41
15/07/2014	13	1(4ML)	F	18,6	09:44	0	79	97	36,9	96	42	37,38	182,2	13,7	0,04	0,24	0,29	0,08	0,44	0,08	0,14	0,41	1,09	1,23	0,11
22/07/2014	14	3(7ML)	F	20	09:19	0	114	96	38,7	98	50	38,03	17,7	7,3	0,04	0,35	0,3	0,16	0,72	0,16	0,5	0,6	1,39	1,7	0,15
05/08/2014	15	1(4ML)	F	18,8	09:11	0	87	67	36,9	99	48	37,53	26,8	9,7	0,01	0,14	0,3	0,05	0,3	0,16	0,08	0,27	2,54	1,04	0,17
22/04/2014	16	1(4ML)	F	20	09:27	0	149	61	38,4	97	39	38,05	64	3,3	0,03	0,2	0,37	0,06	0,32	0,11	0,1	0,5	1,18	2,33	2,18
31/03/2015	17	1 (4ML)	F	34,5	09:20	0	89	100	39,7	98	49	38,3	0,9	6,5	0,11	0,22	0,42	0,13	0,59	0,12	0,07	0,7	1,76	1,48	1,12
26/05/2015	18	1 (4ML)	F	38,7	09:00	0	57	62	37,7	97	41	36,55	7,7	13,8	0,03	0,3	0,83	0,12	0,59	0,16	0,2	0,54	1,43	1,41	0,1
16/06/2015	19	1 (4ML)	F	37,5	08:51	0	73	63	36,2	98	37	36,45	30	4,7	0,01	0,11	0,62	0,02	0,16	0,03	0,04	0,18	0,91	0,71	0,03
10/11/2015	20	3 (7ML)	F	42,3	08:53	0	86	76	38,4	97	39	38,46	6,3	9,6	0,04	0,29	0,46	0,12	0,6	0,11	0,16	0,49	0,77	1,23	0,14

## Anexo D - Dados consolidados obtidos no momento pós-insuflação

DATA	ANIMAL	GRUPO	GÊNERO	PESO	HORA	VOLUME BALÃO	FC	PAM	TEMPERATURA	SAT O2	EtCO2	TEMP CEREBRAL	PtiO2 CEREBRAL	PIC	IL-1alfa	IL-1beta	IL-1ra	IL-2	IL-4	IL-6	IL-8	IL-10	IL-12	IL-18	TNFalfa
															ng/mL	ng/mL	ng/mL	ng/mL	ng/mL	ng/mL	ng/mL	ng/mL	ng/mL	ng/mL	ng/mL
25/02/2013	1	1 (4ML)	F	17	12:15	4,0	79	103,7	36,2	95	44	36,8	3,7	14	0,13	3,63	71,94	0,1	0,49	3,12	40,25	1,18	4,41	5,69	2,86
11/03/2013	2	3 (7ML)	M	17,3	12:06	7,0	163	87,66	39,3	99	46	37,39	0,6	29	0,19	5,41	93,11	0,06	0,35	3,43	19,52	0,73	2,4	3,71	0,74
26/03/2013	3	1 (4ML)	M	18	12:01	4,0	104	68,66	39,4	99	54	39,02	2,3	21	0,18	9,74	101,4	0,07	0,36	6,04	14,8	0,94	3,23	5,96	2,01
16/04/2013	4	3 (7ML)	M	18,4	11:41	7,0	174	74	38,5	96	45	38	1,4	36	0,05	0,92	62	0,09	0,42	1,75	7,66	0,69	1,6	2,1	2,89
10/09/2013	5	1 (4ML)	M	20	10:20	4,0	94	75	39,9	96	41	39,6	1,1	4,3	0,04	0,37	56,34	0,12	0,65	0,47	0,63	0,73	1,16	1,74	2,41
22/10/2013	6	3 (7ML)	M	19,6	11:37	7,0	144	65	37,3	97	42	38,23	0,3	23	0,03	0,36	51,66	0,11	0,52	0,49	0,82	0,63	1,01	1,34	2,71
29/10/2013	7	3(7ML)	M	21	10:14	7,0	107	96	37,6	97	44	37,46	0,2	49	0,05	0,39	3,12	0,14	0,68	0,34	0,45	0,82	1,16	1,76	0,31
26/11/2013	8	3(7ML)	F	22	11:52	7,0	218	55	38,9	97	43	38,3	1,4	32	0,06	0,94	52	0,17	0,71	0,83	5,67	0,83	2,14	3,38	1,85
26/08/2014	9	1(4ML)	M	18	09:50	4,0	119	82	37,3	97	41	37,48	5,4	7,7	0,03	1,18	92,19	0,03	0,44	4,82	14,79	0,7	2,64	0,93	3,01
02/09/2014	10	3(7ML)	M	18,5	09:48	7,0	129	67	39	97	45	38,99	2,1	23	0,05	1,39	71,04	0,04	0,18	1,61	15,21	0,75	2,29	1,98	7,84
25/02/2014	11	3(7ML)	M	19	10:57	7,0	132	60	38,4	96	41	37,3	1,4	27	0,06	1,1	66,21	0,13	0,53	2,18	15,52	1,23	2,09	2,38	17,13
29/04/2014	12	3 (7ML)	M	18	10:01	7,0	160	43	36,9	97	33	34,57	1,4	37	0,18	8,3	109,4	0,05	0,24	10,11	92,06	1,11	4,43	5,06	2,46
15/07/2014	13	1(4ML)	F	18,6	10:06	4,0	88	86	36,8	96	44	36,85	10,8	29	0,05	0,39	0,35	0,16	0,82	0,2	0,22	0,77	1,06	1,91	0,22
22/07/2014	14	3(7ML)	F	20	09:39	7,0	130	94	39,4	99	48	38,32	3,3	26	0,05	0,99	76,66	0,11	0,45	1,63	21,56	1,08	2,9	1,87	14,61
05/08/2014	15	1(4ML)	F	18,8	09:31	4,0	104	63	36,9	95	50	37,25	0,3	16	0,05	0,56	11,19	0,21	1,06	1,84	6,44	1,44	2,22	2,25	42,67
22/04/2014	16	1(4ML)	F	20	09:50	4,0	122	68	38,5	97	39	37,9	48,2	12	0,06	0,74	24,71	0,12	0,55	1,61	18,8	1,67	2,62	4,06	28,5
31/03/2015	17	1 (4ML)	F	34,5	09:42	4,0	98	111	39,9	98	55	38,6	1,2	4,8	0,2	0,95	73,31	0,3	1,29	0,8	0,59	1,41	3,19	3,38	0,44
26/05/2015	18	1 (4ML)	F	38,7	09:22	4,0	40	86	37,8	97	43	36,8	6,5	9	0,03	0,22	27,63	0,09	0,44	0,14	0,18	0,48	1,1	1,16	0,08
16/06/2015	19	1 (4ML)	F	37,5	09:15	4,0	74	64	36,2	98	44	36,36	21	24	0,03	0,12	55,76	0,02	0,16	0,05	0,03	0,3	0,99	0,78	0,02
10/11/2015	20	3 (7ML)	F	42,3	09:14	7,0	82	97	38,4	98	41	38,22	3	17	0,04	0,31	0,51	0,15	0,74	0,12	0,18	0,53	0,78	1,41	0,15



## Anexo E - Dados consolidados obtidos no momento pré-desinsuflação

DATA	ANIMAL	GRUPO	GÊNERO	PESO	HORA	VOLUME BALÃO	FC	PAM	TEMPERATURA	SAT O2	EtCO2	TEMP CEREBRAL	PtiO2 CEREBRAL	PIC	IL-1alfa	IL-1beta	IL-1ra	IL-2	IL-4	IL-6	IL-8	IL-10	IL-12	IL-18	TNFalfa
															ng/mL	ng/mL	ng/mL	ng/mL	ng/mL	ng/mL	ng/mL	ng/mL	ng/mL	ng/mL	ng/mL
25/02/2013	1	1 (4ML)	F	17	14:16	3,9	84	123,3	37,3	97	47	38	6,5	8,8	0,12	3,58	84,71	0,07	0,34	3,36	50,55	0,95	3,91	4,88	1,87
11/03/2013	2	3 (7ML)	M	17,3	14:00	6,8	135	121	39	99	40	38,82	1,4	44	0,16	5,82	87,64	0,05	0,29	2,81	8,72	0,62	2,42	5,5	0,5
26/03/2013	3	1 (4ML)	M	18	14:05	3,9	100	70,66	39,2	98	52	38,9	3,8	15	0,17	10,14	101,8	0,06	0,32	5,26	10,36	0,89	3,24	6,17	1,65
16/04/2013	4	3 (7ML)	M	18,4	13:50	7,0	160	107,3	38,1	98	44	37,5	3,5	16	0,05	1,09	58,04	0,1	0,46	1,76	2,74	0,69	1,53	2,06	1,39
10/09/2013	5	1 (4ML)	M	20	12:24	4,0	93	75	40	94	39	39,72	1,3	4,2	0,05	0,63	76,92	0,16	0,85	0,47	0,35	0,71	1,34	2,36	0,47
22/10/2013	6	3 (7ML)	M	19,6	13:51	7,0	104	64	37,1	96	44	38,33	0,7	20	0,03	0,59	67,79	0,08	0,41	0,37	0,29	0,46	0,93	2,76	0,46
29/10/2013	7	3(7ML)	M	21	12:27	6,9	138	86	39,9	96	47	39,36	0,3	48	0,02	0,21	36,76	0,03	0,19	0,2	0,89	0,42	1,4	1,03	0,15
26/11/2013	8	3(7ML)	F	22	13:57	6,9	188	64	39,6	97	43	38,92	1,1	35	0,06	1,23	49,38	0,16	0,74	1,21	1,18	0,81	1,84	2,7	0,66
26/08/2014	9	1(4ML)	M	18	12:01	3,8	112	90	36,8	97	39	37,08	0,8	14	0,04	2,14	92,57	0,05	0,47	2,93	2,4	0,65	2,43	1,35	0,86
02/09/2014	10	3(7ML)	M	18,5	12:05	6,9	115	90	38,9	96	47	39,48	14,7	12	0,05	2,8	81,29	0,05	0,23	3,24	3,3	0,8	2,41	2,41	1,2
25/02/2014	11	3(7ML)	M	19	13:09	6,7	31	11	37,5	97	0	35,06	1,4	13	0,13	6,06	94,94	0,07	0,26	5,86	42,92	1,34	3,33	4,11	3,11
29/04/2014	12	3 (7ML)	M	18	12:08	7,0	122	34	38,5	98	43	34,88	0,6	25	0,06	1,4	73,77	0,04	0,24	4,43	35,59	1,11	2,98	1,14	22,65
15/07/2014	13	1(4ML)	F	18,6	12:14	3,8	85	107	37,1	96	39	37,07	9,4	28	0,07	0,51	2,05	0,19	0,97	0,22	0,2	0,86	1,86	2,46	0,18
22/07/2014	14	3(7ML)	F	20	11:49	6,5	118	105	40	95	54	39,63	5,5	23	0,04	1,62	91,98	0,05	0,24	2,78	21,85	0,51	2,46	1,59	0,88
05/08/2014	15	1(4ML)	F	18,8	11:47	4,0	139	57	38,2	98	45	38,17	0,9	10	0,06	1,95	75,03	0,11	0,55	7,07	58,24	1,05	3,54	1,93	7,91
22/04/2014	16	1(4ML)	F	20	12:18	4,0	157	85	38,7	95	39	38,23	58,4	11	0,08	2,49	69,06	0,12	0,59	5,2	39,57	1,03	3,05	4,11	7,74
31/03/2015	17	1 (4ML)	F	34,5	11:35	3,9	165	68	42,1	98	54	41,09	2,2	7,5	0,17	0,92	69,14	0,24	1,04	0,46	0,24	1,02	2,82	3,16	0,16
26/05/2015	18	1 (4ML)	F	38,7	11:34	3,7	58	90	37,8	97	47	36,8	15,9	8,8	0,03	0,18	54,86	0,05	0,31	0,09	0,13	0,31	1,27	0,97	0,04
16/06/2015	19	1 (4ML)	F	37,5	11:22	3,7	98	90	36,3	96	47	36,33	20,7	22	0,02	0,11	47,35	0,02	0,16	0,04	0,04	0,24	0,86	0,64	0,03
10/11/2015	20	3 (7ML)	F	42,3	11:18	7,0	81	92	38,7	98,7	44	38,58	3,1	17	0,02	0,13	0,4	0,04	0,2	0,04	0,06	0,29	0,6	0,59	0,19

## Anexo F - Dados consolidados obtidos no momento pós-desinsuflação

DATA	ANIMAL	GRUPO	GÊNERO	PESO	HORA	VOLUME BALÃO	FC	PAM	TEMPERATURA	SAT O2	EtCO2	TEMP CEREBRAL	PtiO2 CEREBRAL	PiC	IL-1alfa ng/mL	IL-1beta ng/mL	IL-1ra ng/mL	IL-2 ng/mL	IL-4 ng/mL	IL-6 ng/mL	IL-8 ng/mL	IL-10 ng/mL	IL-12 ng/mL	IL-18 ng/mL	TNFalfa ng/mL	
25/02/2013	1	1 (4ML)	F	17	15:02	0	99	117,7	38,2	99	47	39,2	11,2	5	0,16	5,44	76,83	0,08	0,41	4,31	37,82	1,29	5,37	6,89	1,47	
11/03/2013	2	3 (7ML)	M	17,3	15:06	0	130	129,3	40,5	99	44	39,65	7	13	0,16	6,65	82	0,05	0,33	2,12	4,51	0,68	2,74	6,35	0,45	
26/03/2013	3	1 (4ML)	M	18	15:07	0	130	66,66	39,4	99	60	38,9	7,8	7,5	0,17	11,24	99,14	0,04	0,28	4,93	8,1	0,9	3,46	6,48	1,42	
16/04/2013	4	3 (7ML)	M	18,4	14:48	0	107	118,7	38	98	43	37,5	12,5	3	0,04	1,48	63,86	0,06	0,28	1,62	2,51	0,56	1,62	2,05	0,9	
10/09/2013	5	1 (4ML)	M	20	13:30	0	100	63	40,2	90	38	39,75	1,5	-4	0,03	0,42	67,6	0,06	0,39	0,16	0,16	0,41	1,23	1,85	0,22	
22/10/2013	6	3 (7ML)	M	19,6	14:45	0	94	53	36	97	42	38,2	0,9	9	0,05	0,86	52,25	0,19	0,88	0,31	0,23	0,81	1,6	3,26	0,27	
29/10/2013	7	3(7ML)	M	21	13:27	0	136	63	41,6	97	46	40,9	0,9	39	0,03	0,34	58,6	0,05	0,23	0,13	0,43	0,34	1,17	1,45	0,09	
26/11/2013	8	3(7ML)	F	22	14:55	0	170	72	39,8	97	41	39,63	14	14	0,03	0,88	56,97	0,09	0,42	0,74	0,32	0,5	1,11	2,19	0,27	
26/08/2014	9	1(4ML)	M	18	13:05	0	115	78	37	98	39	37,1	0,6	3,1	0,03	2,9	92,07	0,03	0,4	1,81	1,05	0,68	2,55	1,41	0,5	
02/09/2014	10	3(7ML)	M	18,5	13:07	0	121	90	38,9	98	48	39,62	19	10	0,04	3,51	91,76	0,05	0,2	2,74	1,14	0,91	2,95	3,44	0,85	
25/02/2014	11	3(7ML)	M	19	14:15	0	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
29/04/2014	12	3 (7ML)	M	18	13:17	0	140	30	37,2	97	46	37,48	1,3	7,7	0,19	13,14	94,71	0,06	0,29	8,85	23,65	1,03	4,39	8,07	1,48	
15/07/2014	13	1(4ML)	F	18,6	13:18	0	83	99	37,6	95	40	37,8	30,2	16	0,05	0,39	1,73	0,13	0,64	0,15	0,19	0,59	1,09	1,78	0,17	
22/07/2014	14	3(7ML)	F	20	12:56	0	123	90	40,4	97	50	40,25	12,6	12	0,03	1,79	82,6	0,04	0,22	1,11	4,71	0,43	2,21	1,56	0,37	
05/08/2014	15	1(4ML)	F	18,8	12:51	0	166	74	38,1	96	46	38,77	1,4	8,6	0,08	5,19	86,22	0,04	0,27	8,22	39,48	0,92	3,99	2,31	2,09	
22/04/2014	16	1(4ML)	F	20	13:14	0	144	91	38,8	96	39	38,65	67,6	7,8	0,11	4,91	74,56	0,09	0,43	5,02	23,04	1,06	3,5	6,74	2,4	
31/03/2015	17	1 (4ML)	F	34,5	12:24	0	115	68	42	97	59	42	12	0,4	0,17	1,28	50,81	0,18	0,78	0,57	0,34	0,84	3,46	3,73	0,12	
26/05/2015	18	1 (4ML)	F	38,7	13:31	0	60	87	37,8	97	48	36,88	17,8	8,8	0,03	0,23	45,18	0,08	0,4	0,11	0,16	0,38	1,05	1,23	0,08	
16/06/2015	19	1 (4ML)	F	37,5	12:27	0	112	85	36,3	92	48	36,84	60,7	10	0,02	0,12	40,57	0,02	0,16	0,04	0,03	0,24	1,09	0,78	0,02	
10/11/2015	20	3 (7ML)	F	42,3	12:18	0	79	70	38,9	96	44	38,9	1,8	15	0,02	0,1	0,84	0,02	0,16	0,04	0,05	0,24	0,52	0,45	0,2	

## **9 REFERÊNCIAS**

ultrasound recording of flow velocity in basal cerebral arteries. *J Neurosurg.* 1982;57(6):769-74.

Andrade AF, Soares MS, Patriota GC, Belon AR, Paiva WS, Bor-Seng-Shu E, Oliveira M de L, Nascimento CN, Noleto GS, Alves Junior AC, Figueiredo EG, Otoch JP, Teixeira MJ. Experimental model of intracranial hypertension with continuous multiparametric monitoring in swine. *Arq Neuropsiquiatr.* 2013;71(10):802-6.

Aydin S. A short history, principles, and types of ELISA, and our laboratory experience with peptide/protein analyses using ELISA. *Peptides.* 2015;72:4-15.

Balestreri M, Czosnyka M, Hutchinson P, Steiner LA, Hiler M, Smielewski P, Pickard JD. Impact of intracranial pressure and cerebral perfusion pressure on severe disability and mortality after head injury. *Neurocrit Care.* 2006;4(1):8-13.

Bäuerle J, Lochner P, Kaps M, Nedelmann M. Intra- and interobserver reliability of sonographic assessment of the optic nerve sheath diameter in healthy adults. *J Neuroimaging.* 2012;22(1):42-5.

Bellner J, Romner B, Reinstrup P, Kristiansson KA, Ryding E, Brandt L. Transcranial Doppler sonography pulsatility index (PI) reflects intracranial pressure (ICP). *Surg Neurol.* 2004;62(1):45-51.

Benveniste EN. Cytokine actions in the central nervous system. *Cytokine Growth Factor Rev.* 1998;9(3-4):259-75.

Brain Trauma Foundation; American Association of Neurological Surgeons; Congress of Neurological Surgeons; Joint Section on Neurotrauma and Critical Care, AANS/CNS, Bratton SL, Chestnut RM, Ghajar J, McConnell Hammond FF, Harris OA, Hartl R, Manley GT, Nemecek A, Newell DW, Rosenthal G, Schouten J, Shutter L, Timmons SD, Ullman JS, Videtta W, Wilberger JE, Wright DW. Guidelines for the management of severe traumatic brain injury. VII. Intracranial pressure monitoring technology. *J Neurotrauma.* 2007;24 Suppl 1:S45-54.

Brough D, Rothwell NJ, Allan SM. Interleukin-1 as a pharmacological target in acute brain injury. *Exp Physiol.* 2015;100(12):1488-94.

Bye N, Habgood MD, Callaway JK, Malakooti N, Potter A, Kossmann T, Morganti-Kossmann MC. Transient neuroprotection by minocycline following traumatic brain injury is associated with attenuated microglial activation but no changes in cell apoptosis or neutrophil infiltration. *Exp Neurol.* 2007;204(1):220-33.

Carney N, Totten AM, O'Reilly C, Ullman JS, Hawryluk GW, Bell MJ, Bratton SL, Chesnut R, Harris OA, Kisson N, Rubiano AM, Shutter L, Tasker RC, Vavilala MS, Wilberger J, Wright DW, Ghajar J. Guidelines for the Management of Severe Traumatic Brain Injury, Fourth Edition. *Neurosurgery*. 2017;80(1):6-15.

Chesnut RM, Temkin N, Carney N, Dikmen S, Rondina C, Videtta W, Petroni G, Lujan S, Pridgeon J, Barber J, Machamer J, Chaddock K, Celix JM, Cherner M, Hendrix T; Global Neurotrauma Research Group. A trial of intracranial-pressure monitoring in traumatic brain injury. *N Engl J Med*. 2012;367(26):2471-81.

Crack PJ, Gould J, Bye N, Ross S, Ali U, Habgood MD, Morganti-Kossmann C, Saunders NR, Hertzog PJ; Victorian Neurotrauma Research Group. The genomic profile of the cerebral cortex after closed head injury in mice: effects of minocycline. *J Neural Transm (Vienna)*. 2009;116(1):1-12.

Csuka E, Morganti-Kossmann MC, Lenzlinger PM, Joller H, Trentz O, Kossmann T. IL-10 levels in cerebrospinal fluid and serum of patients with severe traumatic brain injury: relationship to IL-6, TNF-alpha, TGF-beta1 and blood-brain barrier function. *J Neuroimmunol*. 1999;101(2):211-21.

Di Battista AP, Rhind SG, Hutchison MG, Hassan S, Shiu MY, Inaba K, Topolovec-Vranic J, Neto AC, Rizoli SB, Baker AJ. Inflammatory cytokine and chemokine profiles are associated with patient outcome and the hyperadrenergic state following acute brain injury. *J Neuroinflammation*. 2016;13:40.

Dinarello CA. Interleukin-1 in the pathogenesis and treatment of inflammatory diseases. *Blood*. 2011;117(14):3720-32.

Edwards LJ, Sharrack B, Ismail A, Tench CR, Gran B, Dhungana S, Brettschneider J, Tumani H, Constantinescu CS. Increased levels of interleukins 2 and 17 in the cerebrospinal fluid of patients with idiopathic intracranial hypertension. *Am J Clin Exp Immunol*. 2013;2(3):234-44.

FDA-NIH Biomarker Working Group. *BEST (Biomarkers, EndpointS, and other Tools) Resource* [internet]. Silver Spring (MD). Food and Drug Administration (US); 2016. Monitoring Biomarker. 2016. Dec. 22. Co-publisher by National Institutes of Health (US), Bethesda (MD).

Ferreira LC, Regner A, Miotto KD, Moura Sd, Ikuta N, Vargas AE, Chies JA, Simon D. Increased levels of interleukin-6, -8 and -10 are associated with fatal outcome following severe traumatic brain injury. *Brain Inj*. 2014;28(10):1311-6.

Figaji AA, Zwane E, Fieggen AG, Siesjo P, Peter JC. Transcranial Doppler pulsatility index is not a reliable indicator of intracranial pressure in children with severe traumatic brain injury. *Surg Neurol*. 2009;72(4):389-94.

Frugier T, Morganti-Kossmann MC, O'Reilly D, McLean CA. In situ detection of inflammatory mediators in post mortem human brain tissue after traumatic injury. *J Neurotrauma*. 2010;27(3):497-507.

Geeraerts T, Launey Y, Martin L, Pottecher J, Vigué B, Duranteau J, Benhamou D. Ultrasonography of the optic nerve sheath may be useful for detecting raised intracranial pressure after severe brain injury. *Intensive Care Med.* 2007;33(10):1704-11.

Goodman JC, Robertson CS, Grossman RG, Narayan RK. Elevation of tumor necrosis factor in head injury. *J Neuroimmunol.* 1990;30(2-3):213-7.

Gosling RG, King DH. Arterial assessment by Doppler-shift ultrasound. *Proc R Soc Med.* 1974;67(6 Pt 1):447-9.

Hayakata T, Shiozaki T, Tasaki O, Ikegawa H, Inoue Y, Toshiyuki F, Hosotubo H, Kieko F, Yamashita T, Tanaka H, Shimazu T, Sugimoto H. Changes in CSF S100B and cytokine concentrations in early-phase severe traumatic brain injury. *Shock.* 2004;22(2):102-7.

Hergenroeder GW, Moore AN, McCoy JP Jr, Samsel L, Ward NH 3rd, Clifton GL, Dash PK. Serum IL-6: a candidate biomarker for intracranial pressure elevation following isolated traumatic brain injury. *J Neuroinflammation.* 2010;7:19.

Hillman J, Aneman O, Persson M, Andersson C, Dabrosin C, Mellergård P. Variations in the response of interleukins in neurosurgical intensive care patients monitored using intracerebral microdialysis. *J Neurosurg.* 2007;106(5):820-5.

Homburg AM, Jakobsen M, Enevoldsen E. Transcranial Doppler recordings in raised intracranial pressure. *Acta Neurol Scand.* 1993;87(6):488-93.



Hu X, Glenn T, Scalzo F, Bergsneider M, Sarkiss C, Martin N, Vespa P. Intracranial pressure pulse morphological features improved detection of decreased cerebral blood flow. *Physiol Meas*. 2010;31(5):679-95.

Hutchinson PJ, O'Connell MT, Rothwell NJ, Hopkins SJ, Nortje J, Carpenter KL, Timofeev I, Al-Rawi PG, Menon DK, Pickard JD. Inflammation in human brain injury: intracerebral concentrations of IL-1alpha, IL-1beta, and their endogenous inhibitor IL-1ra. *J Neurotrauma*. 2007;24(10):1545-57.

Jeng BCP. *Avaliação da pressão intracraniana pelo ultrassom da bainha do nervo óptico em modelo animal de hipertensão intracraniana* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2019.

Kiening KL, Schoening WN, Stover JF, Unterberg AW. Continuous monitoring of intracranial compliance after severe head injury: relation to data quality, intracranial pressure and brain tissue PO<sub>2</sub>. *Br J Neurosurg*. 2003;17(4):311-8.

Kirchhoff C, Buhmann S, Bogner V, Stegmaier J, Leidel BA, Braunstein V, Mutschler W, Biberthaler P. Cerebrospinal IL-10 concentration is elevated in non-survivors as compared to survivors after severe traumatic brain injury. *Eur J Med Res*. 2008;13(10):464-8.

Knoblach SM, Fan L, Faden AI. Early neuronal expression of tumor necrosis factor-alpha after experimental brain injury contributes to neurological impairment. *J Neuroimmunol*. 1999;95(1-2):115-25.

Kremlev SG, Palmer C. Interleukin-10 inhibits endotoxin-induced pro-inflammatory cytokines in microglial cell cultures. *J Neuroimmunol.* 2005;162(1-2):71-80.

Kristiansson H, Nissborg E, Bartek J Jr, Andresen M, Reinstrup P, Romner B. Measuring elevated intracranial pressure through noninvasive methods: a review of the literature. *J Neurosurg Anesthesiol.* 2013 Oct;25(4):372-85.

Kubes P, Ward PA. Leukocyte recruitment and the acute inflammatory response. *Brain Pathol.* 2000;10(1):127-35.

Kumar RG, Boles JA, Wagner AK. Chronic inflammation after severe traumatic brain injury: characterization and associations with outcome at 6 and 12 months postinjury. *J Head Trauma Rehabil.* 2015a;30(6):369-81.

Kumar RG, Diamond ML, Boles JA, Berger RP, Tisherman SA, Kochanek PM, Wagner AK. Acute CSF interleukin-6 trajectories after TBI: associations with neuroinflammation, polytrauma, and outcome. *Brain Behav Immun.* 2015b;45:253-62.

Kushima Y, Hatanaka H. Interleukin-6 and leukemia inhibitory factor promote the survival of acetylcholinesterase-positive neurons in culture from embryonic rat spinal cord. *Neurosci Lett.* 1992;143(1-2):110-4.

Lazaridis C, Robertson CS. The Role of Multimodal Invasive Monitoring in Acute Traumatic Brain Injury. *Neurosurg Clin N Am.* 2016;27(4):509-17.

Le Roux P. Intracranial pressure after the BEST TRIP trial: a call for more monitoring. *Curr Opin Crit Care*. 2014;20(2):141-7

Lee HF, Lee TS, Kou YR. Anti-inflammatory and neuroprotective effects of triptolide on traumatic brain injury in rats. *Respir Physiol Neurobiol*. 2012;182(1):1-8.

Lo TY, Jones PA, Minns RA. Combining coma score and serum biomarker levels to predict unfavorable outcome following childhood brain trauma. *J Neurotrauma*. 2010;27(12):2139-45.

Lozier AP, Sciacca RR, Romagnoli MF, Connolly ES Jr. Ventriculostomy-related infections: a critical review of the literature. *Neurosurgery*. 2008;62 Suppl 2:688-700.

Lundberg N, Troupp H, Lorin H. Continuous recording of the ventricular-fluid pressure in patients with severe acute traumatic brain injury. A preliminary report. *J Neurosurg*. 1965;22(6):581-90.

Lustenberger T, Kern M, Relja B, Wutzler S, Störmann P, Marzi I. The effect of brain injury on the inflammatory response following severe trauma. *Immunobiology*. 2016;221(3):427-31.

Maeda H, Etani H, Handa N, Tagaya M, Oku N, Kim BH, Naka M, Kinoshita N, Nukada T, Fukunaga R, et al. A validation study on the reproducibility of transcranial Doppler velocimetry. *Ultrasound Med Biol*. 1990;16(1):9-14.

Maier B, Schwerdtfeger K, Mautes A, Holanda M, Müller M, Steudel WI, Marzi I. Differential release of interleukines 6, 8, and 10 in cerebrospinal fluid and plasma after traumatic brain injury. *Shock*. 2001;15(6):421-6.

Major R, Girling S, Boyle A. Ultrasound measurement of optic nerve sheath diameter in patients with a clinical suspicion of raised intracranial pressure. *Emerg Med J*. 2011;28(8):679-81.

Marchbanks RJ, Reid A, Martin AM, Brightwell AP, Bateman D. The effect of raised intracranial pressure on intracochlear fluid pressure: three case studies. *Br J Audiol*. 1987;21(2):127-30.

Martinon F, Burns K, Tschopp J. The inflammasome: a molecular platform triggering activation of inflammatory caspases and processing of proIL-beta. *Mol Cell*. 2002 Aug;10(2):417-26.

Mazzeo AT, Filippini C, Rosato R, Fanelli V, Assenzio B, Piper I, Howells T, Mastromauro I, Berardino M, Ducati A, Mascia L. Multivariate projection method to investigate inflammation associated with secondary insults and outcome after human traumatic brain injury: a pilot study. *J Neuroinflammation*. 2016;13(1):157.

McMahon CJ, McDermott P, Horsfall D, Selvarajah JR, King AT, Vail A. The reproducibility of transcranial Doppler middle cerebral artery velocity measurements: implications for clinical practice. *Br J Neurosurg*. 2007;21(1):21-7.

Montgomery SL, Bowers WJ. Tumor necrosis factor-alpha and the roles it plays in homeostatic and degenerative processes within the central nervous system. *J Neuroimmune Pharmacol*. 2012;7(1):42-59.

Morganti-Kossmann MC, Rancan M, Otto VI, Stahel PF, Kossmann T. Role of cerebral inflammation after traumatic brain injury: a revisited concept. *Shock*. 2001;16(3):165-77.

Mortezaee K, Khanlarkhani N, Beyer C, Zendedel A. Inflammasome: Its role in traumatic brain and spinal cord injury. *J Cell Physiol*. 2018;233(7):5160-9.

Mussack T, Biberthaler P, Kanz KG, Wiedemann E, Gippner-Steppert C, Mutschler W, Jochum M. Serum S-100B and interleukin-8 as predictive markers for comparative neurologic outcome analysis of patients after cardiac arrest and severe traumatic brain injury. *Crit Care Med*. 2002;30(12):2669-74.

Nwachuku EL, Puccio AM, Adeboye A, Chang YF, Kim J, Okonkwo DO. Time course of cerebrospinal fluid inflammatory biomarkers and relationship to 6-month neurologic outcome in adult severe traumatic brain injury. *Clin Neurol Neurosurg*. 2016;149:1-5.

Paiva WS. *Considerações sobre o modelo experimental de hipertensão intracraniana e avaliação do sistema de microchip para monitoração de pressão epidural* [tese livre-docência]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2014.

Patel HC, Boutin H, Allan SM. Interleukin-1 in the brain: mechanisms of action in acute neurodegeneration. *Ann N Y Acad Sci.* 2003;992:39-47.

Patriota GC. *Avaliação da autorregulação cerebral dinâmica através da reatividade cerebrovascular em suíno com volume expansivo por balão simulando aumento de hematoma intracerebral* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2017.

Pelinka LE, Kroepfl A, Leixnering M, Buchinger W, Raabe A, Redl H. GFAP versus S100B in serum after traumatic brain injury: relationship to brain damage and outcome. *J Neurotrauma.* 2004;21(11):1553-61.

Perez-Barcena J, Ibáñez J, Brell M, Crespí C, Frontera G, Llompart-Pou JA, Homar J, Abadal JM. Lack of correlation among intracerebral cytokines, intracranial pressure, and brain tissue oxygenation in patients with traumatic brain injury and diffuse lesions. *Crit Care Med.* 2011;39(3):533-40.

Raboel PH, Bartek J Jr, Andresen M, Bellander BM, Romner B. Intracranial Pressure Monitoring: Invasive versus Non-Invasive Methods-A Review. *Crit Care Res Pract.* 2012;2012:950393.

Ragauskas A, Matijosaitis V, Zakelis R, Petrikonis K, Rastenyte D, Piper I, Daubaris G. Clinical assessment of noninvasive intracranial pressure absolute value measurement method. *Neurology.* 2012;78(21):1684-91.

Rajajee V, Vanaman M, Fletcher JJ, Jacobs TL. Optic nerve ultrasound for the detection of raised intracranial pressure. *Neurocrit Care.* 2011;15(3):506-15.

Reid A, Marchbanks RJ, Burge DM, Martin AM, Bateman DE, Pickard JD, Brightwell AP. The relationship between intracranial pressure and tympanic membrane displacement. *Br J Audiol.* 1990;24(2):123-9.

Saladino A, White JB, Wijdicks EF, Lanzino G. Malplacement of ventricular catheters by neurosurgeons: a single institution experience. *Neurocrit Care.* 2009;10(2):248-52.

Saqqur M, Zygun D, Demchuk A. Role of transcranial Doppler in neurocritical care. *Crit Care Med.* 2007;35(5 Suppl):S216-23.

Saunders RL. Intracranial pressure monitoring survey. *Neurosurgery.* 1978;3(1):130.

Schneider Soares FM, Menezes de Souza N, Libório Schwarzbald M, Paim Diaz A, Costa Nunes J, Hohl A, Nunes Abreu da Silva P, Vieira J, Lisboa de Souza R, Moré Bertotti M, Schoder Prediger RD, Neves Linhares M, Bafica A, Walz R. Interleukin-10 is an independent biomarker of severe traumatic brain injury prognosis. *Neuroimmunomodulation.* 2012;19(6):377-85.

Shimbles S, Dodd C, Banister K, Mendelow AD, Chambers IR. Clinical comparison of tympanic membrane displacement with invasive ICP measurements. *Acta Neurochir Suppl.* 2005;95:197-9.

Shiozaki T, Hayakata T, Tasaki O, Hosotubo H, Fujita K, Mouri T, Tajima G, Kajino K, Nakae H, Tanaka H, Shimazu T, Sugimoto H. Cerebrospinal fluid concentrations of anti-inflammatory mediators in early-phase severe traumatic brain injury. *Shock.* 2005;23(5):406-10.

Shohami E, Bass R, Wallach D, Yamin A, Gallily R. Inhibition of tumor necrosis factor alpha (TNFalpha) activity in rat brain is associated with cerebroprotection after closed head injury. *J Cereb Blood Flow Metab.* 1996 May;16(3):378-84.

Soldatos T, Chatzimichail K, Papathanasiou M, Gouliamos A. Optic nerve sonography: a new window for the non-invasive evaluation of intracranial pressure in brain injury. *Emerg Med J.* 2009;26(9):630-4.

Sonig A, Jumah F, Raju B, Patel NV, Gupta G, Nanda A. The Historical Evolution of Intracranial Pressure Monitoring. *World Neurosurg.* 2020;138:491-7.

Stahel PF, Shohami E, Younis FM, Kariya K, Otto VI, Lenzlinger PM, Grosjean MB, Eugster HP, Trentz O, Kossmann T, Morganti-Kossmann MC. Experimental closed head injury: analysis of neurological outcome, blood-brain barrier dysfunction, intracranial neutrophil infiltration, and neuronal cell death in mice deficient in genes for pro-inflammatory cytokines. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2000;20(2):369-80.

Stein DM, Lindell A, Murdock KR, Kufera JA, Menaker J, Keledjian K, Bochicchio GV, Aarabi B, Scalea TM. Relationship of serum and cerebrospinal fluid biomarkers with intracranial hypertension and cerebral hypoperfusion after severe traumatic brain injury. *J Trauma.* 2011;70(5):1096-103.



Strumwasser A, Kwan RO, Yeung L, Miraflor E, Ereso A, Castro-Moure F, Patel A, Sadjadi J, Victorino GP. Sonographic optic nerve sheath diameter as an estimate of intracranial pressure in adult trauma. *J Surg Res.* 2011;170(2):265-71.

Sullivan PG, Bruce-Keller AJ, Rabchevsky AG, Christakos S, Clair DK, Mattson MP, Scheff SW. Exacerbation of damage and altered NF-kappaB activation in mice lacking tumor necrosis factor receptors after traumatic brain injury. *J Neurosci.* 1999;19(15):6248-56.

Taşçi A, Okay O, Gezici AR, Ergün R, Ergüngör F. Prognostic value of interleukin-1 beta levels after acute brain injury. *Neurol Res.* 2003;25(8):871-4.

Taupin V, Toulmond S, Serrano A, Benavides J, Zavala F. Increase in IL-6, IL-1 and TNF levels in rat brain following traumatic lesion. Influence of pre- and post-traumatic treatment with Ro5 4864, a peripheral-type (p site) benzodiazepine ligand. *J Neuroimmunol.* 1993;42(2):177-85.

Tekdemir I, Aslan A, Ersoy M, Karahan ST, Tellioglu C. A radiologico-anatomical comparative study of the cochlear aqueduct. *Clin Radiol.* 2000;55(4):288-91.

Trembovler V, Beit-Yannai E, Younis F, Gallily R, Horowitz M, Shohami E. Antioxidants attenuate acute toxicity of tumor necrosis factor-alpha induced by brain injury in rat. *J Interferon Cytokine Res.* 1999;19(7):791-5.

Vries JK, Becker DP, Young HF. A subarachnoid screw for monitoring intracranial pressure. Technical note. *J Neurosurg.* 1973;39(3):416-9.

Whalen MJ, Carlos TM, Kochanek PM, Wisniewski SR, Bell MJ, Clark RS, DeKosky ST, Marion DW, Adelson PD. Interleukin-8 is increased in cerebrospinal fluid of children with severe head injury. *Crit Care Med.* 2000;28(4):929-34.

Winter CD, Iannotti F, Pringle AK, Trikkas C, Clough GF, Church MK. A microdialysis method for the recovery of IL-1beta, IL-6 and nerve growth factor from human brain in vivo. *J Neurosci Methods.* 2002;119(1):45-50.

Woodcock T, Morganti-Kossmann MC. The role of markers of inflammation in traumatic brain injury. *Front Neurol.* 2013;4:18.

Yan EB, Hellewell SC, Bellander BM, Agyapomaa DA, Morganti-Kossmann MC. Post-traumatic hypoxia exacerbates neurological deficit, neuroinflammation and cerebral metabolism in rats with diffuse traumatic brain injury. *J Neuroinflammation.* 2011;8:147.

Yan EB, Satgunaseelan L, Paul E, Bye N, Nguyen P, Agyapomaa D, Kossmann T, Rosenfeld JV, Morganti-Kossmann MC. Post-traumatic hypoxia is associated with prolonged cerebral cytokine production, higher serum biomarker levels, and poor outcome in patients with severe traumatic brain injury. *J Neurotrauma.* 2014;31(7):618-29.

Yousefzadeh-Chabok S, Dehnadi Moghaddam A, Kazemnejad-Leili E, Saneei Z, Hosseinpour M, Kouchakinejad-Eramsadati L, Razzaghi A, Mohtasham-Amiri Z. The relationship between serum levels of interleukins 6, 8, 10 and clinical outcome in patients with severe traumatic brain injury. *Arch Trauma Res.* 2015;4(1):e18357.

Zacchetti L, Magnoni S, Di Corte F, Zanier ER, Stocchetti N. Accuracy of intracranial pressure monitoring: systematic review and meta-analysis. *Crit Care.* 2015;19:420.

Zhang JM, An J. Cytokines, inflammation, and pain. *Int Anesthesiol Clin.* 2007;45(2):27-37.


Zweifel C, Czosnyka M, Carrera E, de Riva N, Pickard JD, Smielewski P. Reliability of the blood flow velocity pulsatility index for assessment of intracranial and cerebral perfusion pressures in head-injured patients. *Neurosurgery.* 2012;71(4):853-61.


## **APÊNDICES**

**Apêndice A - Certificado de apresentação e premiação em 1º Lugar no 5º Congresso Brasileiro de Abordagens Neurocirúrgicas (apresentado pelo coautor, Dr. Davi Solla)**



## Apêndice B - Artigo publicado


National Library of Medicine  
National Center for Biotechnology Information
Log in



Search

Advanced
User Guide

Save
Email
Send to
Display options

Intensive Care Med Exp. 2021 Aug 23;9(1):42. doi: 10.1186/s40635-021-00408-5.

### Inflammatory markers assessment in an animal model of intracranial hypertension: a randomized trial

Marcelo Prudente do Espírito Santo<sup>1</sup>, Caroline Silvério Faria<sup>1</sup>, Davi Jorge Fontoura Solla<sup>1</sup>, Leonardo Zumerkorn Pipek<sup>2</sup>, Alessandro Rodrigo Belon<sup>1</sup>, Brasil Ping Jeng<sup>1</sup>, Almir Ferreira de Andrade<sup>1</sup>, Manoel Jacobsen Teixeira<sup>1</sup>, Wellingson Silva Paiva<sup>1</sup>

Affiliations + expand

PMID: 34423394 DOI: 10.1186/s40635-021-00408-5

#### Abstract

**Background:** Intracranial hypertension (ICH) is a common final pathway of most neurosurgical pathologies and leads to poor prognosis if not detected and treated properly. Inflammatory markers have been assessed in clinical scenarios of neurological injuries, in which systemic and brain tissue aggressions may introduce bias. There is a lack of studies under controlled settings to isolate the ICH effect on inflammation. This study aims to evaluate the effects of ICH on the serum concentration of cytokines as biomarkers of neuroinflammation in an experimental model which isolates ICH from potential confounding variables.

**Methods:** An established model of ICH using an intracerebral pediatric bladder catheter and a multisensor intraparenchymal catheter was used in adult pigs (*Sus domesticus*). The animals were randomly allocated to 2 groups based on the catheter balloon volume used to simulate the ICP increase (4 ml or 7 ml). Cytokines were measured in 4 timepoints during the experiment: (1) 15 min before balloon insufflation; (2) 5 min after insufflation; (3) 125 min after insufflation; (4) 60 min after deflation. The following cytokines were measured IL-1 $\alpha$ ; IL-1 $\beta$ ; IL-1ra; IL-2; IL-4; IL-6; IL-8; IL-10; IL-12; IL-18; TNF $\alpha$ . Generalized estimating equations were modeled to compare the ICP and cytokines values between the groups along the experiment. The study sample size was powered to detect interactions between the groups and the study moments with an effect size (f) of at least 0.3. The ARRIVE checklist was followed.

**Results:** A total of 20 animals were studied (10 in each group, 4 ml or 7 ml balloon volume insufflation). The animal model was successful in increasing the ICP along the moments of the experiment ( $p < 0,001$ ) and in creating an ICP gradient between the groups ( $p = 0,004$ ). The interaction term (moment  $\times$  group) was also significant ( $p < 0,001$ ). There was a significant association between ICP elevation and most cytokines variation. The cytokines IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL1-ra, IL-6, IL-12, and IL-18 increased, whereas IL-2, IL-4, and TNF- $\alpha$  decreased. IL-10 did not vary significantly in response to the ICP elevation.

**Conclusion:** The serum concentration of cytokines varied in response to intracranial hypertension. The study demonstrated the specific changes in each cytokine after intracranial hypertension and provides key information to guide neuroinflammation clinical research. The proposed experiment was successful as an animal model to the study of neuroinflammation biomarkers.

#### FULL TEXT LINKS



#### ACTIONS



#### SHARE



#### PAGE NAVIGATION

#### FULL TEXT LINKS



#### ACTIONS



#### SHARE



#### PAGE NAVIGATION

Title & authors

< Abstract

References

LinkOut - more resources