

AVALIAÇÃO DE ALTERAÇÕES INTESTINAIS EM MODELO ANIMAL DE TRAUMATISMO CRANIOENCEFÁLICO LEVE

Alterações intestinais e TCE em modelo animal

Gustavo T. Maximiano¹, Vitor Crepaldi-Brito^{*1}, Cristiano Julio Faller¹, Fabrícia Petronilho¹,Jaqueline Generoso^{1#}

¹Faculdade de Medicina, Universidade do Extremo Sul Catarinense, Criciúma - SC, Brasil.

Contribuição dos autores

*Todos os autores declaram que o segundo autor contribuiu de igual forma com o primeiro autor para a elaboração e desenvolvimento do estudo

#Autor correspondente: Jaqueline S. Generoso.

Curso de Medicina, Universidade do Extremo Sul Catarinense.

Av. Universitária, 1105 - Universitário, Criciúma - SC

CEP: 88806-000

Tel: (+55 48) 3433-1278 E-mail: jsg@unesc.net

Resumo: O Traumatismo cranioencefálico (TCE) pode ser definido como a abrupta interrupção da função cerebral, causada por uma variante externa. Diante disso, o TCE causa alterações no eixo intestino-cérebro, tendo como consequência a liberação de moléculas importantes que são responsáveis pela modulação de funções entéricas. **Objetivos:** Avaliar as alterações intestinais e inflamatórias em modelo animal após a indução de TCE leve. **Métodos:** Foram utilizados 35 Ratos Wistar, divididos em 2 grupos: grupo controle e grupo TCE em período de 10 dias (protocolo tardio). As amostras de hipocampo, córtex pré-frontal, cerebelo e soro foram removidas para análise de citocinas (TNF- α , IL-1 β , IL-6 e IL-10), bem como amostras ileais para análise das criptas intestinais. As análises foram realizadas utilizando *software Statistical Package for the Social Science* (SPSS) versão 20.0. Evidenciou-se que o grupo TCE após 10 dias do evento primário apresentou níveis elevados de TNF- α , IL-1 β , IL-6 e IL-10, sendo que TNF- α , IL-1 β aumentaram nas quatro regiões analisadas, IL-6 aumentou em hipocampo, cerebelo e soro e a IL-10 aumentou em região de hipocampo. Somado a isso, ficaram evidentes alterações importantes no comprimento das vilosidades e a profundidade das criptas e cristas do íleo, resultando decorrente do processo inflamatório sistêmico. Dessa forma, os resultados obtidos auxiliaram a compreensão desta relação, eixo intestino-cérebro, permitindo a visualização da relação do TCE e da neuroinflamação com as alterações intestinais, evidenciando uma via importante entre os dois sistemas.

Palavras-chave: Eixo Encéfalo-Intestino, Citocinas, Lesões Encefálicas Traumáticas e Sistema Nervoso Central.

Introdução

O traumatismo cranioencefálico (TCE) é definido como a abrupta interrupção da função cerebral causada por uma variante externa¹. O TCE é uma das principais causas de morbimortalidade em todo o planeta e como consequência, gera sequelas em longo prazo na maioria dos pacientes, fator que contribui para o aumento anual dos custos das despesas com o cuidado à

saúde². No Brasil, entre os anos de 2008-2019, verificou-se que o número total de admissões hospitalares foi de 1,57 milhão de pacientes³. Nesse sentido, a média de gastos hospitalares anuais gerais em relação ao TCE no território brasileiro foi de aproximadamente US\$43.238.319,90, tendo esses valores aumentados de 2008 a 2019³. Ressalta-se que, as regiões brasileiras possuem números distintos em relação à epidemiologia e às taxas de TCE, sendo a região Sudeste a primeira da lista, seguida pela região Nordeste e pela região Sul³.

Diante do quadro, o TCE torna-se uma entidade responsável pela alteração do eixo intestino-cérebro, que é definido como uma interligação entre o sistema nervoso central (SNC) e o sistema gastrointestinal, cujo principal constituinte é a microbiota endógena⁴. A conexão do eixo é evidenciada quando se entende a relação do controle neuroendócrino intestinal pelo cérebro através do sistema nervoso autônomo (SNA) e do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA), cuja consequência é a liberação de moléculas importantes que são responsáveis pela modulação das principais funções entéricas como contratilidade, função imunológica e a secreção de enzimas digestivas⁵.

Nesse contexto, estudos demonstram que células gliais sofrem intensa ativação após o TCE, principalmente os astrócitos e micróglia⁶. Há evidências de que citocinas pró-inflamatórias, incluindo interleucina (IL)-1 β , IL-6, IL-8, IL-10 e fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) também estão aumentadas após um TCE, e podem causar uma desregulação intestinal por meio do aumento da permeabilidade das junções estreitas desse órgão⁷.

Algumas outras alterações ocorrem na barreira mucosa intestinal do jejuno e do íleo após o quadro de TCE visualizado em modelo animal, como edema, encurtamento das vilosidades, eliminação epitelial e infiltrado de células inflamatórias⁸. Além disso, sintomas neurodegenerativos também ocorrem em pacientes após quadro de TCE em decorrência da desregulação intestinal, sendo a memória de trabalho e memória de retenção dois importantes parâmetros alterados⁹.

O TCE é considerado uma das principais patologias mundiais, representando uma ameaça substancial à saúde pública, com elevadas repercussões econômicas e sociais. No entanto, muitas questões em torno do TCE permanecem obscuras, incluindo questões sobre o envolvimento de alterações intestinais, que podem estar relacionadas aos processos lesivos

primários e secundários da lesão. Estudos nesse contexto são importantes para que haja uma melhor compreensão de relações causais entre os fatores envolvidos, gerando uma melhor compreensão dos fenômenos fisiopatológicos acerca do TCE. O objetivo do presente estudo, então, foi avaliar as alterações intestinais e inflamatórias em modelo animal após a indução de TCE leve.

Materiais e Métodos

Considerações éticas

Todos os procedimentos experimentais foram realizados de acordo com as recomendações internacionais para o cuidado e o uso de animais de laboratório, além das recomendações para o uso de animais do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA). Além disso, o projeto teve início somente após a aprovação pela Comissão de Ética em Pesquisa no Uso Animal (CEUA), da Universidade do Extremo Sul Catarinense (UNESC) Brasil. Todos os esforços necessários foram realizados para minimizar o sofrimento dos animais e reduzir o número de animais utilizados. O estudo foi realizado no Laboratório de Neurologia Experimental e Biotério da UNESC, localizado em Criciúma – Santa Catarina, via parecer, número 44/2023.

Animais experimentais

Ratos Wistar machos (60 dias, 250-300 g) foram obtidos do Biotério da UNESC. Os animais ficaram alojados no Biotério da mesma universidade. Os animais foram mantidos em caixas de polipropileno de dimensões adequadas, com maravalha, em ambiente climatizado ($22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$), com ciclo claro/escuro de 12 horas, controlado por *timer*, recebendo água e dieta padrão *ad libitum* durante todo o período de experimento. Para a determinação do número de animais para o experimento, foi levada em consideração a utilização de um número mínimo possível de animais, a eficiência do modelo experimental e a

estatística adequada para este tipo de avaliação. Para os experimentos, espera-se aproximadamente 30% de mortalidade entre os animais dos grupos TCE leve¹⁰. Assim foram utilizados 35 animais divididos em grupos controle e grupo TCE no período de 10 dias (protocolo tardio).

Modelo experimental

O dispositivo que foi utilizado para provocar o TCE leve consiste em um tubo metálico de 2 metros de comprimento e 10 milímetros de diâmetro interno, preso a um suporte circular. Os pesos de latão caíram livremente, por gravidade, sobre um capacete metálico (disco de aço inoxidável com 10 mm de diâmetro x 3 mm de espessura) que foi fixado à cabeça dos animais com o auxílio de um fio dental. Os pesos foram rosqueados de modo que puderam ser conectados para produzir um peso de 450g, considerando a queda livre de 1 m¹¹. Antes do início do procedimento, os animais foram devidamente anestesiados por inalação de isoflurano (1 L/min de O₂ e 1 L/min de O₂ ambiente) e alocados em uma cama de espuma frouxamente fixada, com a cabeça levemente elevada para evitar danos à medula espinhal.

O projeto ocorreu quando os animais completaram 60 dias de vida, e foram induzidos ao modelo de TCE leve. Sendo assim, foram utilizados 35 animais da espécie *Rattus norvegicus* (ratos Wistar), no período de 10 dias (protocolo tardio), para análises bioquímicas, sorológicas e intestinais. Os animais foram divididos em grupos controle 10 dias (n = 15 machos); e TCE leve 10 dias (n = 20).

No protocolo tardio, 10 dias após a indução do TCE, foram coletadas amostras de córtex pré-frontal, hipocampo, cerebelo e sorológicas, bem como amostras histológicas intestinais. Logo após as coletas, os animais foram eutanasiados.

Método de eutanásia e destino das cobaias

Os animais foram decapitados por guilhotina sob anestesia: cloridrato de cetamina (6,6 mg/kg), cloridrato de xilazina (0,3 mg/kg), por via intraperitoneal. O método de decapitação é considerado um método restrito de eutanásia pelas

Diretrizes da Prática de Eutanásia do CONCEA, publicadas em 2013. Foram coletadas amostras de hipocampo, córtex pré-frontal, cerebelo e sorológicas e a posterior quantificação de TNF- α , IL-1 β , IL-6 e IL-10 e mensuração por meio de kits ELISA. Amostras para histopatologia foram removidas da região do íleo e os cortes histológicos foram avaliados por microscopia de luz padrão.

Avaliação do nível de citocinas

As amostras de hipocampo, córtex pré-frontal, cerebelo e sorológicas foram removidas e isoladas em gelo seco e armazenadas a -80 °C para as análises bioquímicas. A quantificação de TNF- α , IL-1 β , IL-6 e IL-10 foi mensurada por kits ELISA, de acordo com as recomendações do fabricante.

Análise histológica intestinal

Amostras para histopatologia foram removidas da região do íleo e colocadas em formalina tamponada neutra para fixação e cortes corados com hematoxilina-eosina de 5 microns de espessura foram preparados após inclusão em parafina e processamento histológico. Os cortes histológicos foram avaliados por microscopia de luz padrão. As medidas do comprimento das vilosidades intestinais e da profundidade das criptas foram realizadas usando o *software NIS Br* e foram feitas a partir de fotomicrografias tiradas com ampliação de 100x em microscópio invertido *Nikon Ti-U eclipse* (Nikon, Tóquio, Japão)¹⁴.

Análise estatística

Os dados foram analisados quanto à normalidade utilizando o teste de Shapiro-Wilk. A diferença dos níveis de mediadores inflamatórios (TNF- α , IL-1 β , IL-6 e IL-10,) e o comprimento das vilosidades e profundidade das cristas e criptas ileais entre os grupos (controle e TCE) foi avaliada utilizando o teste t de *Student* quando os dados apresentaram aderência a normalidade e teste *U* de

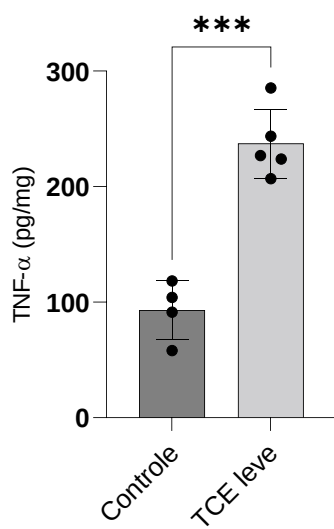
Mann-Whitney quando os dados não apresentaram esse pressuposto. Os dados foram apresentados por meio da média e desvio padrão e/ou erro padrão da média. Os resultados estatisticamente significativos foram indicados quando $p < 0,05$. As análises foram realizadas com auxílio do *software GraphPad Prism*, versão 8,0.

Resultados

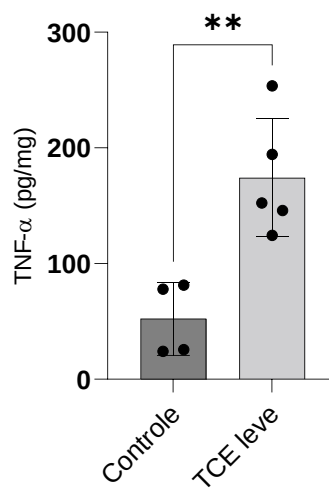
As figuras 1, 2, 3 e 4 apresentam os níveis de TNF- α , IL-1 β , IL-6 e IL-10, respectivamente, nas estruturas cerebrais, hipocampo, córtex pré-frontal, cerebelo e soro de ratos Wistar adultos após 10 dias da indução do modelo experimental de TCE. No grupo TCE leve houve aumento dos níveis de TNF- α em hipocampo, córtex pré-frontal, cerebelo e soro quando comparados com o grupo controle (Fig 1). Na avaliação dos níveis de IL-1 β houve aumento significativo no grupo TCE quando comparado ao controle no hipocampo, córtex pré-frontal, cerebelo e soro (Fig 2). Já na avaliação dos níveis da citocina IL-6 verificou-se aumento significativo dessa no grupo TCE leve nas regiões de hipocampo, cerebelo e soro, quando comparado ao grupo controle (Fig 3). Os níveis de IL-6 não demonstraram diferença significativa em córtex pré-frontal. Para avaliação da resposta anti-inflamatória os níveis de IL-10 foram avaliados, sendo observado aumento significativo somente em região de hipocampo dos animais TCE quando comparados ao controle (Fig 4). Os níveis dessa citocina nas regiões de córtex pré-frontal, cerebelo e soro não demonstraram diferenças significativas na comparação entre os grupos.

A figura 5 apresenta o comprimento das vilosidades e a profundidade das criptas e cristas do íleo, sendo verificado uma diminuição no grupo TCE quando comparados ao grupo controle ($p < 0.001$).

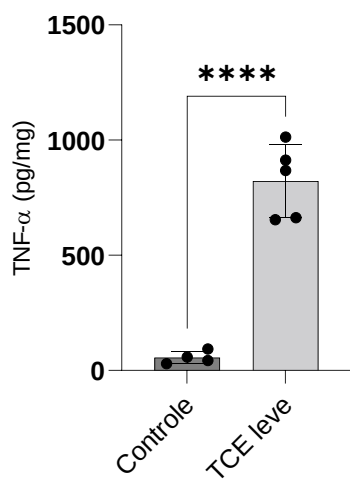
Hipocampo - 10 dias



Córtex pré-frontal - 10 dias



Cerebelo - 10 dias



Soro - 10 dias

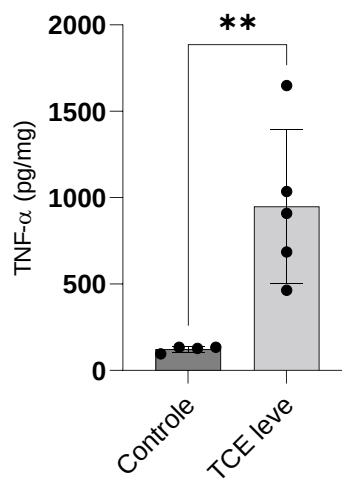


Fig 1. Avaliação dos níveis de TNF- α no hipocampo, córtex pré-frontal, cerebelo e soro de ratos Wistar adultos 10 dias após modelo experimental de TCE leve. Os dados foram apresentados como média e desvio padrão e analisados pelo teste *t* de *Student* para amostras independentes. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ *** $p < 0,001$, **** $p < 0,0001$ representam diferença estatística comparado ao grupo controle. Abreviação: TNF- α : Fator de necrose tumoral alfa. Fonte: autores.

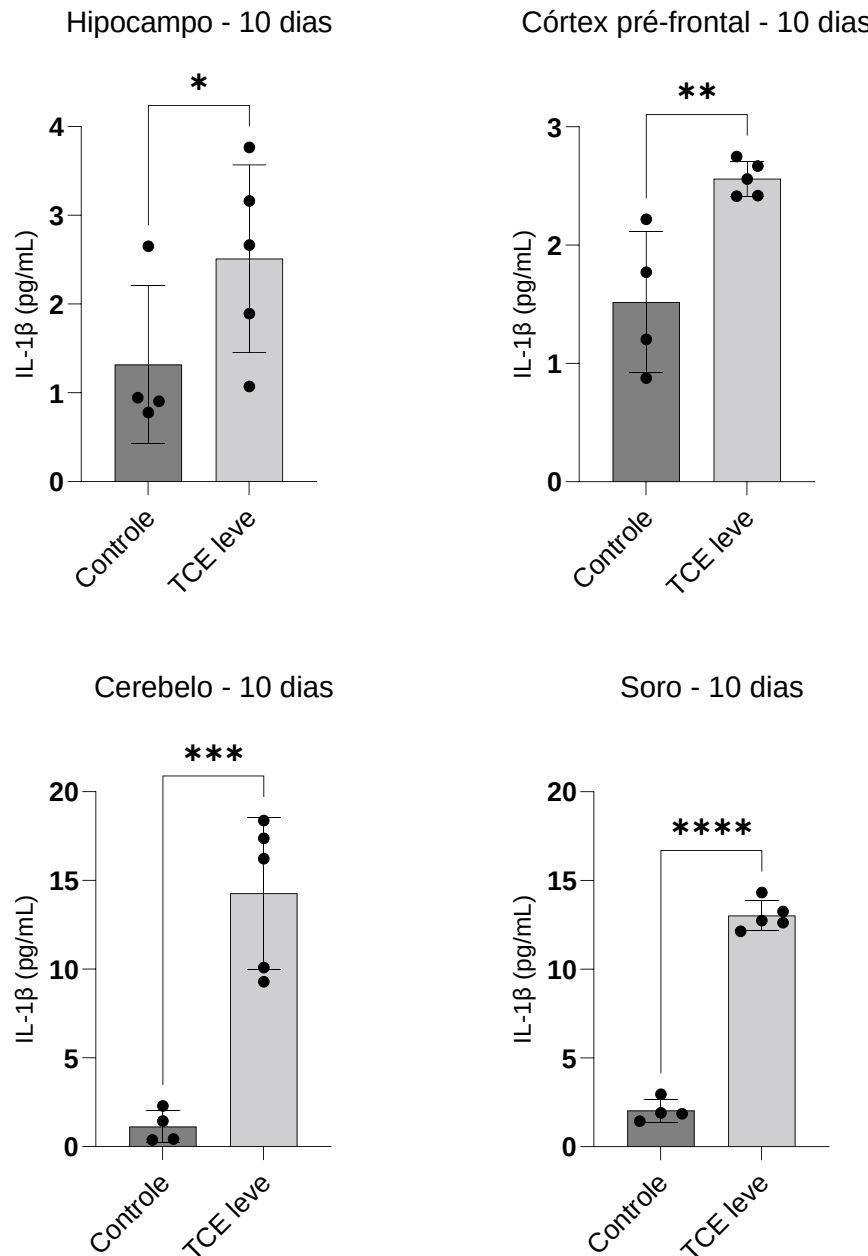


Fig 2. Avaliação dos níveis de IL-1 β no hipocampo, córtex pré-frontal, cerebelo e soro de ratos Wistar adultos 10 dias após modelo experimental de TCE leve. Os dados foram apresentados como média e desvio padrão e analisados pelo teste U de Mann-Whitney para amostras independentes. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ *** $p < 0,001$, **** $p < 0,0001$ representam diferença estatística comparado ao grupo controle. Abreviação: IL-1 β . Interleucina 1 beta Fonte: autores.

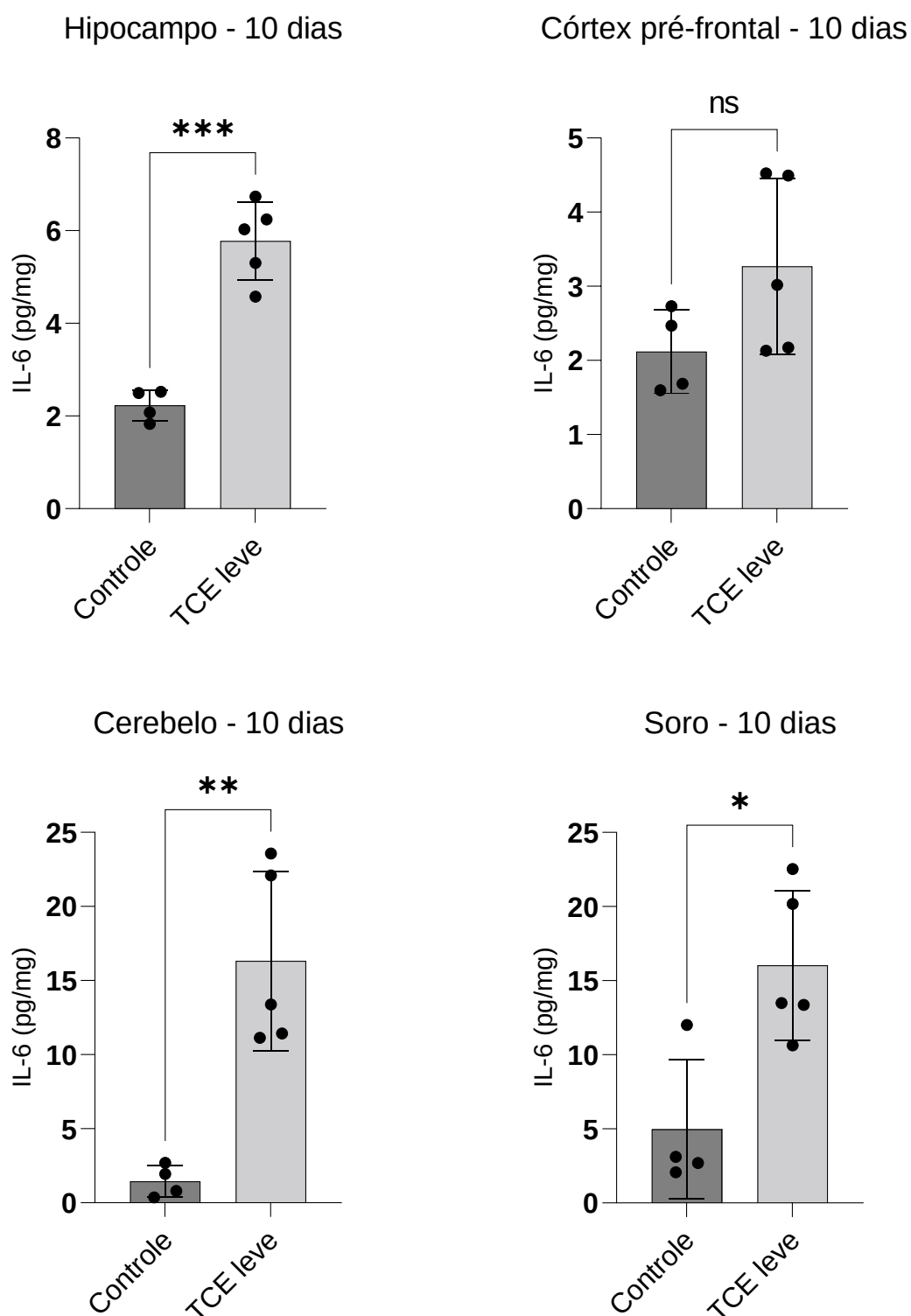


Fig 3. Avaliação dos níveis de IL-6 no hipocampo, córtex pré-frontal, cerebelo e soro de ratos Wistar adultos 10 dias após modelo experimental de TCE leve. Os dados foram apresentados como média e desvio padrão e analisados pelo teste *t* de *Student* para amostras independentes. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ *** $p < 0,001$, **** $p < 0,0001$ representam diferença estatística comparado ao grupo controle. Abreviação: IL-6: Interleucina 6 Fonte: autores.

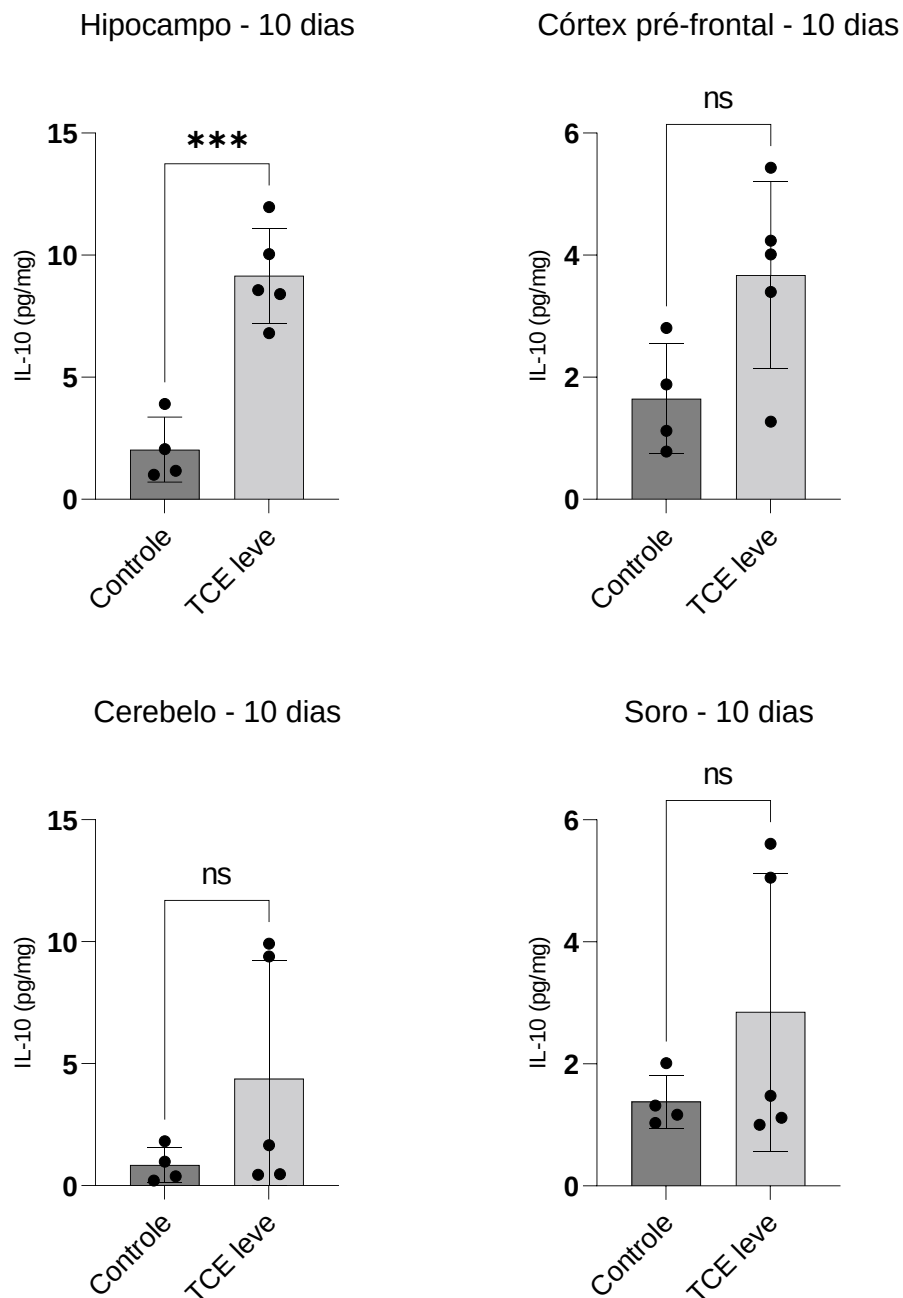


Fig 4. Avaliação dos níveis de IL-10 no hipocampo, córtex pré-frontal, cerebelo e soro de ratos Wistar adultos 10 dias após modelo experimental de TCE leve. Os dados foram apresentados como média e desvio padrão e analisados pelo teste *t* de *Student* para amostras independentes. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ *** $p < 0,001$, **** $p < 0,0001$ representam diferença estatística comparado ao grupo controle. Abreviação: IL-10: Interleucina 10. Fonte: autores.

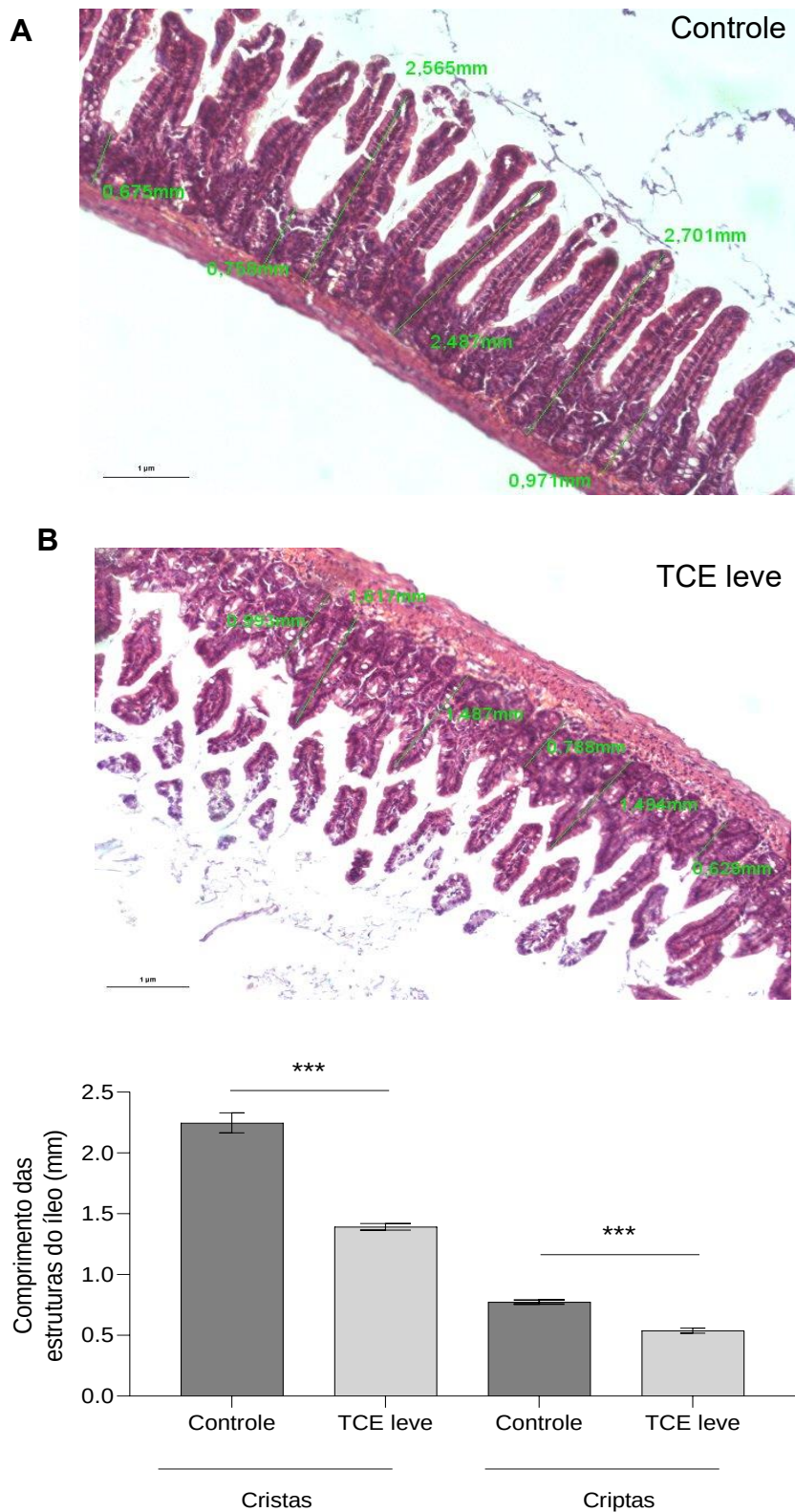


Fig 5. Histologia intestinal com hematoxilina e eosina (A), comprimento das vilosidades e profundidade das criptas (B) diminuíram 10 dias após o TCE leve (barra de escala = 100 µm; ampliação, x 100). Os resultados são expressos como média ± EPM para n=4 ratos. *p < 0,05, **p < 0,01 *** p < 0,001 indicam diferença estatística comparado ao grupo controle. Fonte: autores.

Discussão

O presente estudo evidenciou que o TCE leve e induzido em modelo animal causa aumento importante de citocinas pró-inflamatórias e alterações das cristas e criptas ileais. Demonstrou-se um aumento significativo de TNF- α e IL-1 β em hipocampo, córtex pré-frontal, cerebelo e soro, enquanto níveis de IL-6 aumentaram principalmente em hipocampo, cerebelo e soro. Já os níveis de IL-10, citocina anti-inflamatória, tiveram um aumento considerável apenas na região de hipocampo. Em relação as criptas e cristas, ambas sofreram redução importante após TCE leve induzido.

O TCE ocorre quando uma força mecânica externa, mais comumente evidenciada em acidentes de carro, quedas, disparos de armas ou traumas esportivos, perturba a homeostase e a funcionalidade normal do cérebro¹⁵. O TCE representa uma importante causa de aumento dos gastos com o sistema de saúde, pois pacientes com traumas severos necessitam de cuidados intensivos hospitalares como intubação, traqueostomia e exames complementares diversos, além dos gastos com reabilitação das possíveis sequelas¹⁶. Essas sequelas são muitas vezes relacionadas com aumento dos níveis de citocinas pró-inflamatórias na circulação sistêmica, exercendo efeitos deletérios em outros sistemas orgânicos periféricos, como sistema imunológico inato e adaptativo^{17,18}.

Diante do contexto, aumentos dos níveis de citocinas pró-inflamatórias como TNF- α , IL-1 β e IL-6, são associados a piores desfechos e agravos de lesões cerebrais secundárias em modelo experimental animal¹⁹. Essas citocinas são responsáveis por exacerbar a resposta imune local e por gerar mais mediadores inflamatórios, além de contribuir para o edema cerebral e como consequência, aumento da pressão intracraniana²⁰.

A ruptura da membrana celular primária após TCE causa a liberação de padrões moleculares associados a danos (DAMPs), capazes de desencadear e amplificar a neuroinflamação, e associado a isso, TNF- α , IL-6 e IL-1 β são reguladas rapidamente por células gliais locais, impulsionando a neuroinflamação traumática²¹.

Nesse viés, percebe-se o aumento de citocinas pró-inflamatórias, não apenas no contexto do TCE, mas em outras patologias que afetam o SNC de

forma primária ou secundária, como sepse e meningite. Um estudo brasileiro que avaliou parâmetros inflamatórios e cognitivos com a meningite pneumocócica em ratos Wistar, evidenciou também um aumento significativo de TNF- α e IL-1 β em córtex pré-frontal e hipocampo no mesmo período de 10 dias após o evento agudo²². Diante do exposto, um outro estudo, também nacional, que analisou a ativação do receptor NLRP3 no contexto de meningite pneumocócica, verificou o aumento da IL-6 cerca de 10 dias após a infecção, bem como alterações menores em valores da IL-10²³.

No contexto do TCE, a reação inflamatória à lesão é resultado de uma interação complexa entre componentes celulares centrais e periféricos, influenciados pela idade, sexo, mecanismo e grau de lesão e genética, bem como pelas citocinas pró e anti-inflamatórias que competem para promover e encerrar a resposta neuroinflamatória pós traumática^{24,25}. Em estudos prospectivos, observou-se que pacientes com TCE apresentaram níveis elevados de citocinas como IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10 e TNF- α durante o primeiro ano pós-lesão, em comparação com indivíduos saudáveis da mesma faixa etária²⁶. Adicionalmente, um escore de carga subaguda, também foi capaz de prever o desempenho cognitivo em pacientes com TCE moderado a grave, sendo que níveis elevados de IL-1 β e TNF- α foram associados negativamente à cognição, indicando uma relação importante no contexto de desfechos cognitivos desfavoráveis²⁷.

O traumatismo cranioencefálico (TCE) desencadeia uma resposta sistêmica ao estresse, marcada pela ativação do eixo hipotalâmico-hipofisário-adrenal (HPA) e da porção simpática do sistema nervoso autônomo²⁸. A ativação prolongada do eixo HPA pode ter efeitos prejudiciais, contribuindo para disfunções em diversos órgãos, como alterações na motilidade gastrointestinal, elevação da pressão arterial e comprometimento da função cardíaca²⁹. Além do aumento dos hormônios do estresse, o TCE também promove uma resposta imune sistêmica que pode evoluir para a síndrome da resposta inflamatória sistêmica (SIRS), com liberação de mediadores inflamatórios como citocinas e quimiocinas na corrente sanguínea durante meses³⁰.

Além disso, evidenciou-se em conjunto, alterações importantes na barreira mucosa intestinal após quadro de TCE em modelo animal, como redução das criptas e cristas ileais. Diante do quadro, define-se o eixo intestino-cérebro

como uma interligação bidirecional entre o SNC e o sistema gastrointestinal, influenciado principalmente pela microbiota própria³¹. O controle neuroendócrino intestinal pelo cérebro através do SNA e pelo HPA, principalmente através do nervo vago, acaba por liberar moléculas importantes, como acetilcolina, glicocorticoides e catecolaminas, exercendo funções na contratilidade e secreção de enzimas digestivas³². Em outro plano, a microbiota intestinal secreta moléculas capazes de modular funções das células gliais, sendo os ácidos graxos de cadeia curta, e neurotransmissores de triptofano duas moléculas importantes nesse contexto^{33,34}.

Diante disso, uma pesquisa também correlaciona o TCE com alterações intestinais em ratos, demonstrando redução do comprimento das vilosidades, profundidade das criptas e área de superfície absorptiva, bem como morte das células epiteliais e perda de proteínas de junção estreita, como a zolunina-1, aumentando a permeabilidade intestinal^{35,36}. No intestino, o processo inflamatório sistêmico induz aumento na ativação de células gliais entéricas, servindo para promover a homeostase da mucosa e diminuir a inflamação em resposta ao dano à barreira intestinal^{37,38}. Portanto, percebe-se que há uma relação direta entre o TCE e alterações da mucosa ileal, decorrentes do processo inflamatório sistêmico mediado por citocinas pró-inflamatórias.

Dentre as limitações desse estudo destaca-se o modelo experimental de queda de peso (TCE leve), com impactos difusos no SNC, e que impossibilitaram a visualização de regiões de focais do encéfalo. Além disso devido ao período experimental focalizar em 10 dias após TCE, a resposta tardia e consequente avaliação de efeitos a longo prazo do modelo animal não foi viabilizada.

Conclusão:

O presente estudo evidenciou a relação entre os parâmetros inflamatórios cerebrais e sistêmicos, bem como as alterações intestinais oriundas de um quadro de TCE leve. A pesquisa demonstrou aumento de TNF- α e IL-1 β em hipocampo, córtex pré-frontal, cerebelo e soro, bem como aumento também significativo de IL-6 em hipocampo, cerebelo e soro e aumento de IL-10 apenas em região de hipocampo. Alterações morfológicas na mucosa ileal e redução de cristas e criptas foram verificadas, podendo estar correlacionadas ao

aumento da permeabilidade intestinal e ativação de células gliais entéricas, 10 dias após a indução de TCE leve em modelo animal.

Os resultados obtidos auxiliam a compreensão desta relação, eixo intestino-cérebro, permitindo a visualização da relação do TCE e da neuroinflamação com as alterações intestinais, evidenciando uma via importante entre os dois sistemas. Além disso, o trabalho permite um novo olhar para futuras intervenções no manejo pós trauma, buscando minimizar as sequelas resultantes do processo inflamatório, abrindo espaço para terapias mais focalizadas após quadro de TCE.

Agradecimentos:

Agradecemos à Universidade do Extremo Sul Catarinense (UNESC), ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde (PPGCS) da UNESC, à Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Estado Santa Catarina (FAPESC) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

Contribuição dos autores: Vitor Crepaldi de Brito foi responsável pela conceitualização, administração do projeto, curadoria dos dados, investigação, escrita - rascunho original, escrita - revisão e edição, e visualização; Gustavo Tonet Maximiano foi responsável pela conceitualização, administração do projeto, curadoria de dados, investigação, escrita - rascunho original, escrita - revisão e edição, e visualização; Cristiano Julio Faller foi responsável pela escrita - rascunho original, escrita - revisão e edição, e visualização; Fabrícia Petronílho foi responsável pela escrita - rascunho original, escrita - revisão e edição, e visualização; Jaqueline da Silva Generoso foi responsável pela análise formal, aquisição de financiamento, metodologia, administração do projeto, recursos, supervisão e validação.

Conflitos de interesse: os autores do presente artigo declaram que não há conflito de interesse.

Instituições financiadoras: esse trabalho foi financiado pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde (PPGCS), da Universidade do Extremo Sul Catarinense (UNESC), Brasil, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), e Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação de Santa Catarina (FAPESC).

REFERÊNCIA

1. Timofeev I, Santarius T, Kolia AG, et al. Decompressive craniectomy — operative technique and perioperative care. Em: *Advances and Technical Standards in Neurosurgery* Springer Vienna: Vienna; 2012; p. 115–136.
2. Najem D, Rennie K, Ribocco-Lutkiewicz M, et al. Traumatic brain injury: classification, models, and markers. *Biochem Cell Biol* 2018;96(4):391–406; doi: 10.1139/bcb-2016-0160.
3. Carteri RBK, Silva RA da. Traumatic brain injury hospital incidence in Brazil: an analysis of the past 10 years. *Rev Bras Ter Intensiva* 2021;33(2); doi: 10.5935/0103-507x.20210036.
4. Wang H-X, Wang Y-P. Gut Microbiota-brain axis. *Chin Med J (Engl)* 2016;129(19):2373–2380; doi: 10.4103/0366-6999.190667.
5. Krakovski MA, Arora N, Jain S, et al. Diet-microbiome-gut-brain nexus in acute and chronic brain injury. *Front Neurosci* 2022;16; doi: 10.3389/fnins.2022.1002266.
6. Ahmad R, Khan A, Rehman IU, et al. Lupeol treatment attenuates activation of glial cells and oxidative-stress-mediated neuropathology in mouse model of traumatic brain injury. *Int J Mol Sci* 2022;23(11):6086; doi: 10.3390/ijms23116086.

7. Al-Sadi R, Ye D, Boivin M, et al. Interleukin-6 modulation of intestinal epithelial tight junction permeability is mediated by JNK pathway activation of claudin-2 gene. *PLoS One* 2014;9(3):e85345; doi: 10.1371/journal.pone.0085345.
8. Hu Y, Wang X, Ye L, et al. Rosuvastatin alleviates intestinal injury by down-regulating the CD40 pathway in the intestines of rats following traumatic brain injury. *Front Neurol* 2020;11; doi: 10.3389/fneur.2020.00816.
9. Jang S-E, Lim S-M, Jeong J-J, et al. Gastrointestinal inflammation by gut microbiota disturbance induces memory impairment in mice. *Mucosal Immunol* 2018;11(2):369–379; doi: 10.1038/mi.2017.49.
10. de Oliveira PA, Ben J, Matheus FC, et al. Lesão cerebral traumática moderada aumenta a vulnerabilidade à neurotoxicidade induzida pela administração sistêmica de 6-hidroxidopamina em camundongos. *Brain Res* 2017;1663:78–86; doi: 10.1016/j.brainres.2017.03.002.
11. Marmarou A, Foda MAA-E, van den Brink W, et al. A new model of diffuse brain injury in rats: Part I: Pathophysiology and biomechanics. *J Neurosurg* 1994;80(2):291–300; doi: 10.3171/jns.1994.80.2.0291.
12. Vianna MRM, Alonso M, Viola H, et al. Role of hippocampal signaling pathways in long-term memory formation of a nonassociative learning task in the rat. *Learn Mem* 2000;7(5):333–340; doi: 10.1101/lm.34600.
13. de Lima MNM, Laranja DC, Bromberg E, et al. Pre- or post-training administration of the NMDA receptor blocker MK-801 impairs object recognition memory in rats. *Behav Brain Res* 2005;156(1):139–143; doi: 10.1016/j.bbr.2004.05.016.
14. Giridharan VV, Generoso JS, Lence L, et al. A crosstalk between gut and brain in sepsis-induced cognitive decline. *J Neuroinflammation* 2022;19(1); doi: 10.1186/s12974-022-02472-4.

15. Blennow K, Brody DL, Kochanek PM, Levin H, McKee A, Ribbers GM, et al. Traumatic brain injuries. *Nat Rev Dis Primers* 2016;2:16084. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2016.84>.
16. Corral L, Javierre CF, Ventura JL, Marcos P, Herrero JI, Mañez R. Impact of non-neurological complications in severe traumatic brain injury outcome. *Crit Care* 2012;16:R44. <https://doi.org/10.1186/cc11243>.
17. Shimabukuro-Vornhagen A, Gödel P, Subklewe M, Stemmler HJ, Schlößer HA, Schlaak M, et al. Cytokine release syndrome. *J Immunother Cancer* 2018;6:56. <https://doi.org/10.1186/s40425-018-0343-9>.
18. Ott L, McClain CJ, Gillespie M, Young B. Cytokines and metabolic dysfunction after severe head injury. *J Neurotrauma* 1994;11:447–72. <https://doi.org/10.1089/neu.1994.11.447>.
19. Simon DW, McGeachy MJ, Bayir H, Clark RSB, Loane DJ, Kochanek PM. The far-reaching scope of neuroinflammation after traumatic brain injury. *Nat Rev Neurol* 2017;13:171–91. <https://doi.org/10.1038/nrneurol.2017.13>.
20. Barichello T, dos Santos I, Savi GD, Simões LR, Silvestre T, Comim CM, et al. TNF-alpha, IL-1beta, IL-6, and cinc-1 levels in rat brain after meningitis induced by *Streptococcus pneumoniae*. *J Neuroimmunol* 2010;221:42–5. <https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2010.02.009>.
21. Giridharan VV, Generoso JS, Collodel A, Domingui D, Faller CJ, Tardin F, et al. Receptor for advanced glycation end products (RAGE) mediates cognitive impairment triggered by pneumococcal meningitis. *Neurotherapeutics* 2021;18:640–53. <https://doi.org/10.1007/s13311-020-00917-3>
22. Generoso JS, Faller CJ, Collodel A, Catalão CHR, Domingui D, Petronilho F, et al. NLRP3 activation contributes to memory impairment in an experimental model of pneumococcal meningitis. *Mol Neurobiol* 2024;61:239–51. <https://doi.org/10.1007/s12035-023-03549-8>.

23. Corps KN, Roth TL, McGavern DB. Inflammation and neuroprotection in traumatic brain injury. *JAMA Neurol* 2015;72:355–62. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2014.3558>.
24. 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;101:211–21. [https://doi.org/10.1016/s0165-5728\(99\)00148-4](https://doi.org/10.1016/s0165-5728(99)00148-4).
25. Ransohoff RM, Brown MA. Innate immunity in the central nervous system. *J Clin Invest* 2012;122:1164–71. <https://doi.org/10.1172/JCI58644>.
26. Keller-Wood ME, Dallman MF. Corticosteroid inhibition of ACTH secretion. *Endocr Rev* 1984;5:1–24. <https://doi.org/10.1210/edrv-5-1-1>.
27. Wang H-X, Wang Y-P. Gut Microbiota-brain axis. *Chin Med J (Engl)* 2016;129:2373–80. <https://doi.org/10.4103/0366-6999.190667>.
28. Kõiv L, Merisalu E, Zilmer K, Tomberg T, Kaasik AE. Changes of sympatho-adrenal and hypothalamo-pituitary-adrenocortical system in patients with head injury. *Acta Neurol Scand* 1997;96:52–8. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0404.1997.tb00238.x>.
29. Schroepfel TJ, Sharpe JP, Shahan CP, Clement LP, Magnotti LJ, Lee M, et al. Beta-adrenergic blockade for attenuation of catecholamine surge after traumatic brain injury: a randomized pilot trial. *Trauma Surg Acute Care Open* 2019;4:e000307. <https://doi.org/10.1136/tsaco-2019-000307>.
30. Krakovski MA, Arora N, Jain S, Glover J, Dombrowski K, Hernandez B, et al. Diet-microbiome-gut-brain nexus in acute and chronic brain injury. *Front Neurosci* 2022;16:1002266. <https://doi.org/10.3389/fnins.2022.1002266>.
31. Wang H-X, Wang Y-P. Gut Microbiota-brain axis. *Chin Med J (Engl)* 2016;129:2373–80. <https://doi.org/10.4103/0366-6999.190667>.

32. Krakovski MA, Arora N, Jain S, Glover J, Dombrowski K, Hernandez B, et al. Diet-microbiome-gut-brain nexus in acute and chronic brain injury. *Front Neurosci* 2022;16:1002266. <https://doi.org/10.3389/fnins.2022.1002266>.
33. Bansal V, Costantini T, Kroll L, Peterson C, Loomis W, Eliceiri B, et al. Traumatic brain injury and intestinal dysfunction: uncovering the neuro-enteric axis. *J Neurotrauma* 2009;26:1353–9. <https://doi.org/10.1089/neu.2008.0858>.
34. Ma EL, Smith AD, Desai N, Cheung L, Hanscom M, Stoica BA, et al. Bidirectional brain-gut interactions and chronic pathological changes after traumatic brain injury in mice. *Brain Behav Immun* 2017;66:56–69. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2017.06.018>.
35. McKee CA, Lukens JR. Emerging roles for the immune system in traumatic brain injury. *Front Immunol* 2016;7:556. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2016.00556>.
36. Timmerman KL, Amonette WE, Markofski MM, Ansinelli HA, Gleason EA, Rasmussen BB, et al. Blunted IL-6 and IL-10 response to maximal aerobic exercise in patients with traumatic brain injury. *Eur J Appl Physiol* 2015;115:111–8. <https://doi.org/10.1007/s00421-014-2997-4>.