

**UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE (UNESC)
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE (PPGCS)**

LEONARDO GUIMARÃES CARVALHO

**INTERFERÊNCIA DO SEXO BIOLÓGICO SOBRE O ESTRESSE OXIDATIVO
CEREBRAL TARDIO DECORRENTE DA SEPSE PÓS-ACIDENTE VASCULAR
CEREBRAL: UM ESTUDO PRÉ-CLÍNICO**

CRICIÚMA, Julho de 2025.

LEONARDO GUIMARÃES CARVALHO

**INTERFERÊNCIA DO SEXO BIOLÓGICO SOBRE O ESTRESSE OXIDATIVO
CEREBRAL TARDIO DECORRENTE DA SEPSE PÓS-ACIDENTE VASCULAR
CEREBRAL: UM ESTUDO PRÉ-CLÍNICO**

Dissertação de Mestrado apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em Ciências da
Saúde para obtenção do título de Mestre em
Ciências da Saúde.

Orientador: Prof.^a Dr.^a Fabricia Petronilho

CRICIÚMA, Julho de 2025.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

C332i Carvalho, Leonardo Guimarães.

Interferência do sexo biológico sobre o estresse oxidativo cerebral tardio decorrente da sepse pós-acidente vascular cerebral : um estudo pré-clínico / Leonardo Guimarães Carvalho. - 2025.

52 p. : il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade do Extremo Sul Catarinense, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Criciúma, 2025.

Orientação: Fabricia Petronilho.

1. Sepse - Efeito fisiológico. 2. Acidente vascular cerebral isquêmico. 3. Doenças neuroinflamatórias. 4. Estresse oxidativo. 5. Caracteres sexuais. I. Título.

CDD. 22. ed. 616.944

Bibliotecária Eliziane de Lucca Alosilla - CRB 14/1101
Biblioteca Central Prof. Eurico Back - UNESC

ATA DE APRESENTAÇÃO



UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE – UNESC
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA, PÓS-GRADUAÇÃO, INOVAÇÃO E EXTENSÃO
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO STRICTO SENSU
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde (Mestrado e Doutorado)
Recomendado pela CAPES – Homologado pelo CNE – Portaria Nº 609 de 14.03.2019

ATA DE MESTRADO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE – Nº 472

Com início às 9 (nove) horas do dia 15 (quinze) de julho de 2025 (dois mil e vinte e cinco), realizou-se, na Sala 225/Bloco S, o seminário formal de apresentação dos resultados da Dissertação de Mestrado de **LEONARDO GUIMARÃES CARVALHO**, sob a orientação da **Profa. Dra. Fabricia Cardoso Petronilho**, intitulada **“INTERFERÊNCIA DO SEXO BIOLÓGICO SOBRE O ESTRESSE OXIDATIVO CEREBRAL TARDIO DECORRENTE DA SEPSE PÓS-ACIDENTE VASCULAR CEREBRAL: UM ESTUDO PRÉ-CLÍNICO”**. A dissertação foi examinada por uma banca constituída pelos seguintes membros: Profa. Dra. Cinara Ludvig Gonçalves (Universidade do Extremo Sul Catarinense – UNESC) – Conceito final: Aprovado, Profa. Dra. Gislaine Zilli Réus (Universidade do Extremo Sul Catarinense – UNESC) – Conceito final: Aprovado, e Profa. Dra. Mariana Pereira de Souza Goldim (Centro Universitário Barriga Verde – UNIBAVE) – Conceito final: Aprovado. Com o resultado final: APROVADO, o aluno finalizou seus estudos em nível de Mestrado, fazendo jus ao grau de MESTRE EM CIÊNCIAS DA SAÚDE. Os trabalhos foram concluídos às 11h (onze) horas, dos quais eu, Henrique Manenti Felisberto, Secretário do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade do Extremo Sul Catarinense – UNESC, lavrei a presente ata, que assino juntamente com a Profa. Dra. Josiane Budni, Coordenadora do Programa. Criciúma, 15 (quinze) de julho de 2025 (dois mil e vinte e cinco).


Prof. Dra. Josiane Budni
Coordenadora do PPGCS


Henrique Manenti Felisberto
Secretário do PPGCS

FOLHA INFORMATIVA

A dissertação foi elaborada conforme as normas da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) e será apresentada no formato tradicional. Este trabalho foi realizado nas instalações do Laboratório de Neurobiologia de Processos Inflamatórios e Metabólicos e do Laboratório de Neurologia Experimental dos Programas de Pós-Graduação em Ciências da Saúde das Universidades do Sul de Santa Catarina – UNISUL e Universidade do Extremo Sul Catarinense – UNESC.

Dedico este trabalho aos meus **pais**, por todo amor, exemplo e valores que me guiaram até aqui; à minha **família**, pelo apoio constante em cada etapa desta jornada; e à **comunidade científica**, com a esperança de que este estudo possa contribuir para o avanço do conhecimento e inspirar novas pesquisas futuras.

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, **Dra. Fabricia Petronilho**, pela orientação dedicada, pelo conhecimento compartilhado e por todo o apoio técnico e científico durante a execução desta dissertação e ao longo do desenvolvimento da pesquisa. Estendo minha gratidão a todos os integrantes do **Laboratório de Doenças Cerebrovasculares (DCeV)**, pela colaboração constante e pelas discussões construtivas.

Agradeço à minha família, que sempre esteve ao meu lado. À minha esposa **Fernanda**, pelo companheirismo, paciência e incentivo incondicional em todos os momentos. Aos meus filhos, **Gabriela e Lucas**, pelo carinho genuíno que renovava minhas forças diariamente.

Sem o apoio de vocês, esta caminhada não teria sido possível.

RESUMO

Introdução: O acidente vascular cerebral (AVC) é a principal causa de incapacidade e morte no mundo. A complexidade do restabelecimento do fluxo sanguíneo no AVC isquêmico (AVCi), caracterizado pela obstrução da artéria cerebral média, envolvem fatores como a neuroinflamação e estresse oxidativo, sendo essas respostas modificáveis por fatores como o sexo biológico. Além disso, os indivíduos acometidos pelo AVCi podem desenvolver maior susceptibilidade a desenvolver infecções secundárias, podendo culminar em sepse e potencializar os danos neurológicos já estabelecidos pelo AVCi. **Objetivo:** Avaliar o efeito da sepse pós-AVCi em ratos machos e fêmeas sobre as alterações oxidativas cerebrais a longo prazo. **Métodos:** Ratos Wistar machos e fêmeas com dois meses de idade foram submetidos ao modelo de AVCi por 60 minutos de oclusão da artéria cerebral média (MCAO) ou cirurgia simulada (sham). Sete dias pós-AVCi, ratos foram submetidos ao modelo de sepse por ligadura e perfuração cecal (CLP). Aleatoriamente, foram divididos em grupos SHAM+SHAM, MCAO+SHAM, SHAM+CLP e MCAO+CLP. Após 8 dias foram retiradas estruturas cerebrais de hipocampo, córtex frontal, córtex posterior e estriado para avaliação de mieloperoxidase (MPO), nitrito/nitrato (N/N) e catalase (CAT). **Resultados:** Em machos, observou-se aumento da atividade da MPO em todas as regiões cerebrais analisadas no grupo MCAO+CLP, indicando intensificação da resposta inflamatória. Também foi identificado aumento da concentração de N/N e redução da atividade da CAT especialmente no córtex frontal e hipocampo, sugerindo um ambiente cerebral pró-oxidante persistente. Nas fêmeas, os efeitos da injúria combinada foram mais restritos ao hipocampo. A atividade da MPO foi reduzida no córtex frontal e hipocampo no grupo MCAO+CLP, enquanto a concentração de N/N teve aumento no córtex frontal, estriado e hipocampo no grupo (MCAO+CLP) em comparação com o grupo (SHAM+ CLP). A atividade da CAT foi reduzida apenas no hipocampo. **Conclusão:** Os achados reforçam que o sexo biológico exerce influência sobre a vulnerabilidade cerebral em resposta à sepse instaurada após o AVCi, sendo os machos mais susceptíveis ao agravamento das alterações oxidativas em longo prazo. Esses dados destacam a importância de considerar o dimorfismo sexual na compreensão da fisiopatologia de lesões neurológicas complexas e na proposição de abordagens terapêuticas personalizadas.

Palavras-chave: Acidente Vascular Cerebral isquêmico, Neuroinflamação, Sepse, Estresse Oxidativo, Dimorfismo Sexual.

ABSTRACT

Introduction: Stroke is the leading cause of disability and death worldwide. The complexity of restoring blood flow in ischemic stroke (IS), characterized by the occlusion of the middle cerebral artery, involves factors such as neuroinflammation and oxidative stress, which variables like biological sex can modulate. Moreover, individuals affected by IS may develop increased susceptibility to secondary infections, which can lead to sepsis and further exacerbate the neurological damage already caused by the stroke. **Objective:** To evaluate the effect of post-stroke sepsis in male and female rats on long-term oxidative alterations in the brain. **Methods:** Male and female Wistar rats, aged two months, were subjected to the IS model via 60-minute middle cerebral artery occlusion (MCAO) or sham surgery. Seven days after MCAO, rats underwent sepsis induction via cecal ligation and puncture (CLP). Animals were randomly assigned to the groups: SHAM+SHAM, MCAO+SHAM, SHAM+CLP, and MCAO+CLP. Eight days later, brain structures (hippocampus, frontal cortex, posterior cortex, and striatum) were collected for evaluation of myeloperoxidase (MPO), nitrite/nitrate (N/N), and catalase (CAT) levels. **Results:** In males, increased MPO activity was observed in all brain regions in the MCAO+CLP group, indicating an intensified inflammatory response. An increase in N/N concentration and a decrease in CAT activity, particularly in the frontal cortex and hippocampus, were also identified, suggesting a persistent pro-oxidant brain environment. In females, the effects of the combined injury were more restricted to the hippocampus. MPO activity was reduced in the frontal cortex and hippocampus in the MCAO+CLP group, while the concentration of N/N was increased in the frontal cortex, striatum, and hippocampus in the MCAO+CLP group compared to the SHAM+CLP group. CAT activity was decreased only in the hippocampus. **Conclusion:** These findings reinforce that biological sex influences cerebral vulnerability in response to sepsis following ischemic stroke, with males being more susceptible to long-term exacerbation of oxidative alterations. These results highlight the importance of considering sexual dimorphism in understanding the pathophysiology of complex neurological injuries and in designing personalized therapeutic approaches.

Keywords: Ischemic Stroke, Neuroinflammation, Sepsis, Oxidative Stress, Sexual Dimorphism.

LISTA DE ANEXOS

Anexo A - Aprovação do comitê de ética em uso de animais.....	51
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AMPA	Ácido α -Amino-3-Hidroxi-5-Metil-4-Isoxazolpropiónico
ATP	Adenosina Trifosfato
AVC	Acidente Vascular Cerebral
AVCi	Acidente Vascular Cerebral isquêmico
BHE	Barreira Hematoencefálica
Ca ₂₊	Cálcio
CAT	Catalase
CLP	Ligadura e perfuração cecal (do inglês, Cecal Ligation and Puncture)
DAMP	Padrões Moleculares Associados a Dano (do inglês, Damage-Associated Molecular Patterns)
DM	Diabetes Mellitus
ERO	Espécies Reativas de Oxigênio
ERN	Espécies Reativas de Nitrogênio
EVT	Trombectomia Endovascular
TNF	Fator de Necrose Tumoral (do inglês, Tumor Necrosis Factor)
GBD	Carga Global de Doença (do inglês, Global Burden of Diseases)
GFAP	Proteína Ácida Fibrilar Glial
H ₃ PO ₄	Ácido Fosfórico
HAS	Hipertensão Arterial Sistêmica
IBA-1	Molécula adaptadora ao cálcio ionizado 1
Ip.	Via Intraperitoneal
I/R	Isquemia e Reperfusão
PPR	Receptores de Reconhecimento de Padrões (do inglês, Pattern Recognition Receptors)
MAPK	Proteína Quinase Ativada por Mitógeno
MCAO	Oclusão da Artéria Cerebral Média (do inglês, Middle Cerebral Artery Occlusion)
MIA	Morte Indolor Assistida
MMP	Metaloproteinases de Matriz
MPO	Mieloperoxidase
NF- κ B	Fator de Transcrição Nuclear kappa B

NMDA	N-Metil-D-Aspartato
N/N	Nitrito e Nitrato
NO	Óxido Nítrico
SNC	Sistema Nervoso Central
rtPA	Ativador do plasminogênio tecidual recombinante (do inglês, recombinant tissue Plasminogen Activator)
UFSC	Universidade Federal de Santa Catarina
UNESC	Universidade do Extremo Sul Catarinense
UNISUL	Universidade do Sul de Santa Catarina

.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
1.1 ACIDENTE VASCULAR CEREBRAL – DEFINIÇÃO E EPIDEMIOLOGIA	12
1.2 FISIOPATOLOGIA DO AVCi	13
1.3 INFECÇÕES SECUNDÁRIAS PÓS-AVCI	18
1.4 RELAÇÃO ENTRE A SEPSE E O AVCI	20
2. OBJETIVOS	22
2.1 OBJETIVO GERAL	22
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	22
3. MÉTODOS	23
3.1 TIPO DE ESTUDO	23
3.2 ANIMAIS	23
3.3 DELINEAMENTO DO ESTUDO	23
3.3.1 DESENHO EXPERIMENTAL	23
3.4 ENSAIOS, TESTES E TÉCNICAS	24
3.4.1. MODELO EXPERIMENTAL DE ISQUEMIA E REPERFUSÃO	24
3.4.2 MODELO EXPERIMENTAL DE SEPSE	25
3.4.3 TESTES BIOQUÍMICOS	25
3.4.3.1 AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS DE ESTRESSE OXIDATIVO	26
3.4.3.1.1 ATIVIDADE DE MIELOPEROXIDASE	26
3.4.3.1.2 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE NITRITO/NITRATO (N/N)	26
3.4.3.1.3 ATIVIDADE DA CATALASE (CAT)	26
3.5 PROCESSAMENTO E ANÁLISE DOS DADOS	27
3.6. ASPECTOS ÉTICOS DA PESQUISA	27
4.0 RESULTADOS	28
5.0 DISCUSSÃO	34
6.0 CONCLUSÃO	39
REFERÊNCIAS	41

ANEXOS	52
ANEXO A - Parecer aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais.....	53

1 INTRODUÇÃO

1.1 ACIDENTE VASCULAR CEREBRAL – DEFINIÇÃO E EPIDEMIOLOGIA

O acidente vascular cerebral (AVC) é uma das principais causas de morte e incapacidade em todo o mundo (MOSKOWITZ; LO; IADECOLA, 2010), com impacto significativo na saúde pública e na qualidade de vida dos indivíduos afetados. Existem dois subtipos principais de AVC: sendo o isquêmico (AVCi), caracterizado pela interrupção do fluxo sanguíneo cerebral devido à obstrução de um vaso sanguíneo, destaca-se como o mais prevalente, representando cerca de 75% de todos os casos, e o hemorrágico, causado pelo rompimento de uma artéria e o consequente extravasamento de sangue (GUZIK; BUSHNELL, 2017).

As manifestações clínicas clássicas do AVCi se baseiam em sintomas neurológicos súbitos, como fraqueza muscular, alterações da fala e distúrbios visuais, persistentes por mais de 24 horas (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2019). No entanto, a *American Heart Association* e a *American Stroke Association* propuseram a inclusão do conceito de "patologia silenciosa", englobando lesões isquêmicas cerebrais assintomáticas detectadas por neuroimagem (HANKEY, 2017). É fundamental diferenciar o AVCi do ataque isquêmico transitório (AIT), que se caracteriza por sintomas neurológicos transitórios, geralmente com duração inferior a uma hora, sem evidência de infarto cerebral na neuroimagem (EASTON *et al.*, 2009). Essa distinção é crucial, pois o AIT representa um importante fator de risco para AVCi, demandando atenção e intervenção médica imediata.

A gravidade do AVCi e as chances de recuperação variam consideravelmente, sendo influenciadas por fatores como localização e extensão da lesão, tempo de isquemia, idade, sexo e comorbidades (ROY-O'REILLY; MCCULLOUGH, 2018; GALL *et al.*, 2010). No caso do sexo, há diferenças significativas na incidência e na mortalidade entre homens e mulheres. Embora o AVCi seja mais prevalente entre os homens, as mulheres apresentam taxas de mortalidade mais altas, refletindo a interação complexa entre fatores biológicos, hormonais e socioculturais (FEIGIN *et al.*, 2016). Essas diferenças de sexo, atribuídas ao dimorfismo sexual, fazem com que mulheres tendam a sofrer episódios mais graves de AVCi, resultando em maior impacto na qualidade de vida (GALL *et al.*, 2010; ROY-O'REILLY; MCCULLOUGH, 2018).

Apesar dos avanços na prevenção e tratamento do AVCi, como a trombólise intravenosa com rtPA e a trombectomia mecânica, a doença continua sendo um desafio para a saúde pública (XU *et al.*, 2012; ACOSTA *et al.*, 2019).

Na última década, o AVCi consolidou-se como uma das principais causas de incapacidade e a segunda maior causa de morte global, com 12 milhões de novos casos somente no ano de 2019 e 6 milhões de mortes no mesmo ano (SOCIEDADE BRASILEIRA DE AVC, 2024). De acordo com o estudo *Global Burden of Diseases, Injuries and Risk Factors* (GBD), a incidência de AVCi aumentou cerca de 70% nas últimas décadas, sendo mais concentrada em países de renda média, que representam mais de 65% das nações da América Latina (CORRELL *et al.*, 2017).

No Brasil, o AVCi também representa um grave problema de saúde pública, com alta incidência e letalidade (TSAO *et al.*, 2023). De acordo com dados do Ministério da Saúde (DATASUS), foram registradas 222.773 mil internações por AVCi entre 2008 e 2010, sendo 65.990 na região Sul (WANG *et al.*, 2016).

Os desfechos associados ao AVCi são complexos e heterogêneos, estando de acordo com o tamanho da lesão e a área cerebral afetada. Esses fatores resultam em prejuízos funcionais, incluindo a dificuldade na realização de atividades diárias, problemas no aprendizado, comunicação, mobilidade, autocuidado e interações sociais. Além disso, sequelas neurológicas em longo prazo como comprometimento cognitivo, ansiedade, depressão são observadas (FANN; KATON, 1995; VILLA; FERRARI; MORETTI, 2018).

Além de sequelas neurológicas, a imunossupressão periférica acompanha os pacientes sobreviventes de AVCi. Nesse sentido, as infecções pós-AVCi, como pneumonia e infecção urinária, e em maior escala de infecção a sepse, são complicações frequentes e graves como consequência do AVCi (SHI *et al.*, 2018).

1.2 FISIOPATOLOGIA DO AVCi

Para melhor compreensão da fisiopatologia do AVCi, é importante destacar seus subtipos (GORELICK, 2020):

- AVCi aterotrombótico: ocorre devido à formação de um trombo em uma artéria cerebral previamente lesada por aterosclerose;

- AVCi cardioembólico: originado de um êmbolo proveniente do coração, frequentemente associado a arritmias cardíacas como a fibrilação atrial;
- AVCi lacunar: caracterizado por pequenos infartos em regiões profundas do cérebro, geralmente causados por oclusão de pequenas artérias perforantes.

A isquemia causada pela oclusão independentemente do subtipo de AVCi, resulta em déficits neurológicos e metabólicos severos, devido à redução no suprimento de oxigênio e nutrientes para áreas específicas do cérebro. Isso provoca hipóxia tecidual profunda, tendo por consequência, dano e morte celular associado a piora do prognóstico (TASOULIS; DOUZINAS, 2016). A resposta imunológica após o AVCi, denominada cascata isquêmica, envolve uma série de eventos, como inflamação, excitotoxicidade, desequilíbrio iônico, disfunção mitocondrial, estresse oxidativo, aumento da permeabilidade da barreira hematoencefálica (BHE), neuroinflamação e dano neuronal (Figura 1) (FAROOQ *et al.*, 2020).

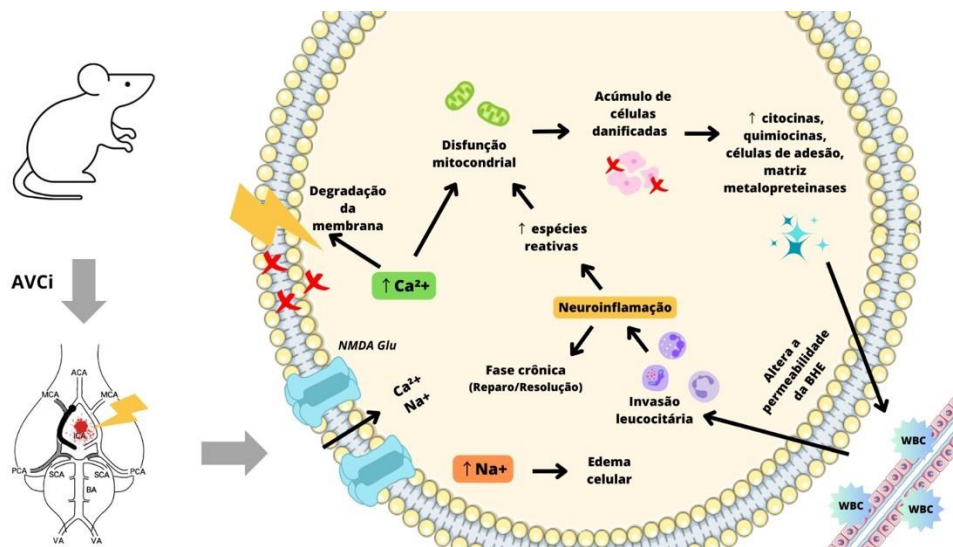


Figura 1 - Cascata isquêmica pós-AVCi.

Após o dano causado pelo AVCi a reperfusion precipita desequilíbrios iônicos, propagam a disfunção mitocondrial, estresse oxidativo e inflamação com progressão para dano celular com invasão de leucócitos e neuroinflamação. A inflamação se dissipa, podendo culminar na reparação do tecido.
Fonte: adaptado de Farroq *et al.*, 2020)

Nos primeiros segundos após a interrupção do fluxo sanguíneo, ocorre depleção de oxigênio e glicose, comprometendo a produção de energia (ATP) pelas mitocôndrias e levando à falência dos mecanismos de homeostase iônica (TASOULIS; DOUZINAS, 2016). A falha na bomba de sódio e potássio ($\text{Na}^+/\text{K}^+-\text{ATPase}$) causa

influxo de sódio e água para o interior das células, levando ao edema celular e citotóxico. O acúmulo de íons cálcio (Ca^{2+}) no citoplasma ativa enzimas como proteases, fosfolipases e endonucleases, que danificam componentes celulares e aumentam a produção de radicais livre (DIRNAGL; IADECOLA; MOSKOWITZ, 1999). A liberação excessiva de neurotransmissores excitatórios, como o glutamato, contribui para a excitotoxicidade. O glutamato ativa os receptores NMDA (N-metil-D-aspartato), promovendo maior influxo de Ca^{2+} e desencadeando uma série de eventos que levam à disfunção mitocondrial, estresse oxidativo e morte celular (LI *et al.*, 2019; CHEON *et al.*, 2018).

Após o dano celular causado por tais eventos, o sistema imunológico é ativado pela estimulação das células gliais, o que resulta no recrutamento de células residentes do sistema nervoso central (SNC) e liberação de diversos marcadores próinflamatórios. Nas primeiras horas após a lesão cerebral, padrões moleculares associados ao dano (*Damage-Associated Molecular Patterns* – DAMPs), originados de células mortas ou estressadas, desencadeiam uma resposta inflamatória robusta. Essa resposta envolve a ativação de micróglia e astrócito, além do recrutamento de citocinas como o fator de necrose tumoral (TNF), interleucina 1-beta ($\text{IL-1}\beta$) e interleucina 6 (IL-6), moléculas de adesão e quimiocinas através da parede dos vasos ativados (ZHAO *et al.*, 2021). Estudos sugerem que a polarização dos fenótipos da micróglia pode ser influenciada pelo sexo biológico, o que pode impactar a função do sistema imune inato e a resposta a lesões (KERR *et al.*, 2019; MIRZA *et al.*, 2015). Além disso, a lesão de isquemia é precedida pela morte celular e resulta em prejuízos significativos na unidade neurovascular, que inclui neurônios, células gliais (como oligodendrócitos, micróglias e astrócitos) e células vasculares (células endoteliais, pericitos e células musculares lisas). Esses danos também afetam enzimas, como as metaloproteinases de matriz (MMP), e componentes estruturais, como a lâmina basal da vasculatura cerebral (IADECOLA; BUCKWALTER; ANRATHER, 2020).

A redução da oxigenação tecidual resulta na formação de radicais livres, como o superóxido, peróxido de hidrogênio, hidroxila e peroxinitrito, que têm como alvo os lipídeos, proteínas e ácidos nucleicos das células, promovendo danos moleculares significativos (MENON; RAMALINGAM; KUMAR, 2020). A ativação das MMP, associada ao estresse oxidativo, intensifica a degradação das proteínas de matriz extracelulares, aumentando a permeabilidade da BHE, agravando a lesão,

intensificando o edema cerebral e exacerbando a resposta inflamatória na fase aguda do AVCi (MO; SUN; LIU, 2020; NIATSETSKAYA *et al.*, 2012).

A restauração do fluxo sanguíneo, conhecida como reperfusão, é o único tratamento atualmente disponível para estabilizar o AVCi. Essa intervenção pode ser realizada por meio da administração de ativador de plasminogênio tecidual (*tissue Plasminogen Activator* - tPA) ou pela trombectomia endovascular (EVT). Contudo, a reperfusão pode agravar a lesão tecidual no local da isquemia, caracterizando a chamada lesão de isquemia e reperfusão (I/R), uma condição mais grave e comumente observada após a realização da terapia de revascularização (GÖRTLER; OLDAG; BREJOVA, 2014). Para minimizar os riscos, essa técnica deve ser aplicada em um intervalo curto após a ocorrência da isquemia e deve obedecer a alguns critérios clínicos rigorosos para evitar complicações, como a transformação hemorrágica, que pode potencializar os danos neurológicos. Apesar desses riscos, a reperfusão desempenha um papel importante na redução do volume do infarto, resgatando o tecido cerebral em risco (DURUKAN; TATLISUMAK, 2007; KHOSHNAMEH *et al.*, 2017).

A disfunção e os danos mitocondriais também intensificam a liberação de citocromo C e a geração de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio (EROs/ERNs), potencializando as vias de morte celular (LAI; ZHANG; WANG, 2014). Entre essas vias, destaca-se principalmente a apoptose, que é ativada pela liberação de DAMPs e estimulada por receptores de reconhecimento de padrão de patógenos (*Pattern Recognition Receptors* – PRRs). Esses receptores ativam vias de sinalizações, como o fator de transcrição nuclear kappa B (NF-κB) e a proteína quinase ativada por mitógeno (MAPK), aumentando a produção de citocinas pró-inflamatórias. Esse processo estimula o recrutamento de células imunológicas da periferia para a remoção de resíduos e reparação do tecido danificado, embora também contribua para a neuroinflamação (SANTOS SAMARY *et al.*, 2016; YILMAZ; GRANGER, 2010).

Os níveis reduzidos de oxigênio no ambiente cerebral durante a isquemia, seguidos pelo seu retorno durante a reperfusão, são fatores determinantes para a lesão tecidual devido à elevada produção de EROs e ERNs, além de alterações na diferenciação e proliferação celular, culminando em estresse oxidativo (LIU *et al.*, 2020). Esse quadro ocorre, sobretudo, quando há um desequilíbrio significativo entre

a homeostase das EROs/ERNS e os antioxidantes endógenos (HU *et al.*, 2019; VESKOUKIS; TSATSAKIS; KOURETAS, 2012).

A inflamação, considerada um dos principais mecanismos na progressão do AVCi, desempenha um papel fundamental na piora do quadro clínico, especialmente devido ao desequilíbrio entre as respostas pró- e anti-inflamatórias. Embora a supressão da resposta inflamatória possa reduzir a extensão da isquemia cerebral, sua inibição completa está associada a um pior reparo tecidual e comprometimento da recuperação funcional a longo prazo nos indivíduos acometidos (JIN *et al.*, 2013).

O processo inflamatório desencadeado pela isquemia é mediado por células imunológicas ativadas na região cerebral. Estudos recentes têm explorado o uso de terapias com propriedades anti-inflamatórias, considerando que fatores como a abertura da BHE, a migração de células imunológicas periféricas, a neuroinflamação e o declínio cognitivo são elementos sequenciais associados a um prognóstico desfavorável no AVCi (ROY-O'REILLY; MCCULLOUGH, 2017).

Nesse contexto, o sistema imunológico desempenha um papel central tanto na piora do quadro clínico quanto na sobrevida dos indivíduos após o AVCi. Citocinas pró-inflamatórias ativam a micróglia, induzindo a migração de células imunológicas periféricas para a área lesionada. Esse processo é facilitado pela ruptura da BHE, promovendo a interação do sistema imune periférico com o tecido cerebral. A micróglia ativada está diretamente envolvida nos mecanismos fisiopatológicos da lesão por I/R, no entanto, estudos indicam que os mecanismos celulares e a polarização dos fenótipos da micróglia podem ser influenciados pelo sexo biológico, o que resulta em diferenças nas respostas pró- e anti-inflamatórias (KERR *et al.*, 2019; SALMERON *et al.*, 2019).

Embora as células do sistema imune inato possam contribuir para o reparo do tecido lesionado na área do infarto, sua ativação exacerbada pode agravar o dano tecidual, aumentando a produção de citocinas, EROs e ERNS. Além disso, a atuação excessiva das células imunológicas da periferia no cérebro, pode induzir um estado de imunossupressão, caracterizado por linfopenia e comprometimento da função de monócitos, o que eleva o risco de infecções secundárias nos indivíduos afetados (CHAMORRO; URRÁ; PLANAS, 2007; LIESZ *et al.*, 2015).

1.3 INFECÇÕES SECUNDÁRIAS PÓS-AVCi

Evidências crescentes demonstram uma complexa interação bidirecional entre o SNC e o Sistema Imunológico (SI) (BOSCO; TIAN; WU, 2020; SCHEIBLICH *et al.*, 2020; TANAKA *et al.*, 2019). Lesões no SNC, como o AVCi, podem modular a resposta imune, levando a um estado de imunossupressão, que aumenta a suscetibilidade a infecções (COLLINS; SURETTE; BERCIK, 2012). A imunossupressão pós-AVCi é caracterizada por:

- Linfopenia: redução do número de linfócitos circulantes, especialmente linfócitos T CD4+ e CD8+, comprometendo a resposta imune celular (GIEDEJEPPE *et al.*, 2016; SHI *et al.*, 2018; PRASS *et al.*, 2003). Essa linfopenia pode ser causada por mecanismos como apoptose induzida por glicocorticoides, migração de linfócitos para o tecido cerebral lesionado e disfunção do timo (OFFNER *et al.*, 2006).
- Disfunção de monócitos: os monócitos, células do sistema imune inato, apresentam função fagocítica e capacidade de produção de citocinas reduzidas após o AVCi (GIEDE-JEPPE *et al.*, 2016; SHI *et al.*, 2018). Essa disfunção contribui para a diminuição da capacidade de eliminar patógenos.
- Alterações na função de neutrófilos: os neutrófilos, primeiras células a responder a uma infecção, também apresentam função alterada após o AVCi, com redução da capacidade de quimiotaxia e fagocitose (CUARTERO *et al.*, 2013).

Diversos mecanismos contribuem para a imunossupressão pós-AVCi, incluindo:

- Liberação de glicocorticoides: o estresse causado pelo AVCi leva à liberação de glicocorticoides, como o cortisol, que possuem efeitos imunossupressores.
- Ativação do sistema nervoso simpático: a ativação do sistema nervoso simpático leva à liberação de catecolaminas, que inibem a função de linfócitos e macrófagos.
- Disbiose intestinal: o AVCi pode causar disbiose intestinal, ou seja, alteração na composição da microbiota intestinal. A disbiose pode levar à translocação bacteriana e ativação da resposta inflamatória sistêmica, contribuindo para a imunossupressão (SINGH *et al.*, 2016).

A imunossupressão decorrente do dano cerebral após o AVCi contribui significativamente para o surgimento de infecções secundárias, que são as principais

mediadoras de complicações clínicas, atingindo uma prevalência de até 33% nas isquemias cerebrais. Essas infecções, além de prolongarem o período de hospitalização, são responsáveis pelo aumento de cerca de 20% das taxas de morbidade e mortalidade associadas ao AVCi (GIEDE-JEPPE *et al.*, 2016). Existe uma relação estreita entre o funcionamento do SNC e o sistema imunológico, o que pode justificar o surgimento de manifestações imunológicas em decorrência da lesão cerebral e, paralelamente, às infecções secundárias após o dano isquêmico podem ser explicadas pela redução da competência imunológica mediada pelo SNC (FU *et al.*, 2015; SUN *et al.*, 2016).

Estudos indicam que o tamanho do volume do infarto pode ser considerado um fator de risco independente para a imunossupressão e para complicações infecciosas induzidas pelo AVCi. Esse fenômeno pode ser interpretado como uma resposta adaptativa do sistema imunológico à lesão cerebral aguda. Por outro lado, a imunossupressão sistêmica também pode limitar a inflamação cerebral e reduzir reações autoimunes, como aquelas relacionadas à presença de neuroantígenos (SANTOS SAMARY *et al.*, 2016).

Alguns fatores de risco não modificáveis, como o sexo, desempenha um papel na resposta imunológica inata e na interação do sistema imune periférico frente às lesões de ordem cerebrais. Essas variáveis podem explicar, em parte, as altas taxas de mortalidade, a maior suscetibilidade a infecções e a pior recuperação funcional observadas em determinados grupos (BENTSEN *et al.*, 2014; CASTELLANO; KIRBY; WYSS-CORAY, 2015; CHAN *et al.*, 2018). Assim, as complicações pós AVCi variam ao longo da vida e podem ser influenciadas pelo dimorfismo sexual, trazendo a hipótese de que a proteção contra a lesão cerebral possa estar relacionada a hormônios sexuais. Nas mulheres, por exemplo, observa-se um agravamento da isquemia em casos de retirada precoce dos ovários ou em mulheres reprodutivamente senescentes. Essa evidência sugere que mulheres jovens possam ter maior proteção contra o AVCi, possivelmente mediada pela presença de estrogênio (MANWANI *et al.*, 2013).

Em relação a infecções, estudos clínicos demonstraram que mulheres são mais suscetíveis a infecções pós-AVCi do que homens (PHAN *et al.*, 2017; LISABETH *et al.*, 2015). Essa maior vulnerabilidade pode contribuir para a pior recuperação funcional observada nas mulheres após o AVCi (RITZEL *et al.*, 2018; CRAPSER *et al.*, 2016;

DHUNGANA *et al.*, 2013). Além disso, os hormônios sexuais, como o estrogênio e a progesterona, desempenham um papel importante na modulação da resposta imune, podendo influenciar diretamente a suscetibilidade a infecções (MANWANI *et al.*, 2013; ALKAYED *et al.*, 2000).

Entre os diferentes tipos de infecções pós-AVCi, a pneumonia é a mais frequente, ocorrendo em 10% a 47% dos casos (JAFARZADEH *et al.*, 2021; ALI; SIDDIQUI; SURI, 2017). Fatores como disfagia (dificuldade de deglutição), imobilidade e imunossupressão são determinantes para o risco elevado dessa complicação. Outra infecção comumente observada é a do trato urinário (ITU), especialmente em pacientes que necessitam do uso de cateter vesical. Além disso, infecções de pele, como úlcera de pressão, são frequentes em pacientes que permanecem imobilizados por períodos prolongados (Chung *et al.*, 2022).

1.4 RELAÇÃO ENTRE A SEPSE E O AVCi

Em um organismo imunossuprimido, a presença de pneumonia ou ITU pode resultar em uma resposta inflamatória sistêmica intensa e desordenada, caracterizando a sepse. Essa condição apresenta alta taxa de mortalidade em unidades de terapia intensiva (UTI). Segundo o relatório nacional elaborado pelo Instituto Latino-Americano de Sepse em 2017, cerca de 400 mil casos de sepse foram registrados, dos quais 240 mil evoluíram para óbito, resultando em uma taxa de mortalidade de 55% (MACHADO *et al.*, 2023).

Dentre os órgãos mais afetados pela sepse, destaca-se o SNC, com manifestações neurológicas que incluem a Encefalopatia Associada à Sepse (EAS). Essa condição caracteriza-se por um distúrbio neurológico agudo, reversível na ausência de falência de órgãos e hipóxia, que pode levar ao comprometimento cognitivo, *delirium* ou coma (DAL-PIZZOL; TOMASI; RITTER, 2014).

Embora os mecanismos subjacentes à interação entre AVCi e sepse ainda não estejam completamente elucidados, há evidências que indicam o papel central da inflamação e do estresse oxidativo nesse processo (IADECOLA; ANRATHER, 2011). O AVCi desencadeia uma cascata de eventos inflamatórios no cérebro, incluindo a liberação de citocinas, quimiocinas, EROs e ERNs. Esses mediadores promovem alterações na permeabilidade da BHE, favorecendo a infiltração celular, passagem de compostos tóxicos e ativação microglial, o que amplifica a resposta neuroimunológica (CHAMORRO *et al.*, 2016).

As moléculas inflamatórias geradas podem causar danos às células cerebrais, comprometer a função neuronal e contribuir para imunodepressão periférica e a disfunção multiorgânica (DIRNAGL; IADECOLA; MOSKOWITZ, 1999), criando um ambiente propício para o desenvolvimento de sepse. Além disso, a sepse pode agravar os danos cerebrais induzidos pelo AVCi, intensificando a resposta inflamatória e o estresse oxidativo. A falta de controle adequado desse ciclo inflamatório a longo prazo, resulta em uma síndrome patológica complexa e de difícil manejo (HOTCHKISS; KARL, 2003).

Sabe-se que o sexo biológico é um fator determinante tanto para a incidência quanto para as complicações associadas à sepse e ao AVCi. Assim, torna-se essencial desenvolver estudos que aprofundem o entendimento sobre o papel bifásico do sistema imunológico após o AVCi. É importante considerar, também, os efeitos do sexo biológico e da infecção pós-sepse na potencialização do dano neurológico — especialmente em longo prazo —, que caracteriza a incapacidade nos sobreviventes. Essa compreensão é fundamental para o aprimoramento do diagnóstico, prognóstico e das estratégias terapêuticas, com vistas à redução da mortalidade associada à sepse em pacientes com isquemia cerebral.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o efeito da sepse pós-AVCi em ratos machos e fêmeas sobre o estresse oxidativo cerebral a longo prazo.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Mensurar os níveis da mieloperoxidase (MPO) do córtex frontal, córtex posterior, estriado e hipocampo de ratos *Wistar* machos e fêmeas induzidos a sepse pós-AVCi;
- Quantificar os níveis de nitrito/nitrato (N/N) do córtex frontal, córtex posterior, estriado e hipocampo de ratos *Wistar* machos e fêmeas induzidos a sepse pósAVCi.
- Analisar a defesa antioxidante enzimática catalase no córtex frontal, córtex posterior, estriado e hipocampo de ratos *Wistar* machos e fêmeas induzidos a sepse pósAVCi.

3 MÉTODOS

3.1 TIPO DE ESTUDO

Estudo experimental pré-clínico, utilizando modelo animal de I/R e modelo animal de sepse.

3.2 ANIMAIS

Foram inclusos no estudo ratos *Wistar*, machos e fêmeas jovens, com dois meses de idade, provenientes do biotério da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC). Os animais, que não haviam sido previamente utilizados em estudos, foram mantidos no biotério da UNISUL em condições controladas. Os animais ficaram alojados em ambiente fresco e ventilado, com ciclo de luz de 12 horas claro/escuro, temperatura constante de $23^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, e acesso livre a alimento e água.

Após indução do processo da lesão de I/R, todos animais receberam dieta úmida por um período de quatorze dias (CRAPSER *et al.*, 2016). Para coleta de amostras biológicas, os animais foram submetidos ao final do experimento, a um procedimento de morte indolor e assistida (MIA). Este processo inclui anestesia com xilazina e cetamina (1,5 mg/kg), seguida de decapitação, obedecendo as disposições estabelecidas pela Resolução nº 1000 do Conselho Federal de Medicina Veterinária (CFMV), datada de 20 de junho de 2002.

3.3 DELINEAMENTO DO ESTUDO

3.3.1 Desenho experimental

O desenho experimental remete às avaliações *in vivo* utilizando o modelo de oclusão da artéria cerebral média (*middle cerebral artery occlusion* - MCAO) para a indução da isquemia cerebral, e o modelo de ligadura e perfuração cecal (*cecal ligation and puncture* - CLP) para a indução da sepse, conforme descrito posteriormente.

Os animais foram submetidos ao modelo experimental de sepse pelo método de CLP sete dias após indução AVCi por meio do MCAO. No décimo quinto dia (KUNZE *et al.*, 2014) os animais foram submetidos a morte indolor assistida para a análise do estresse oxidativo.

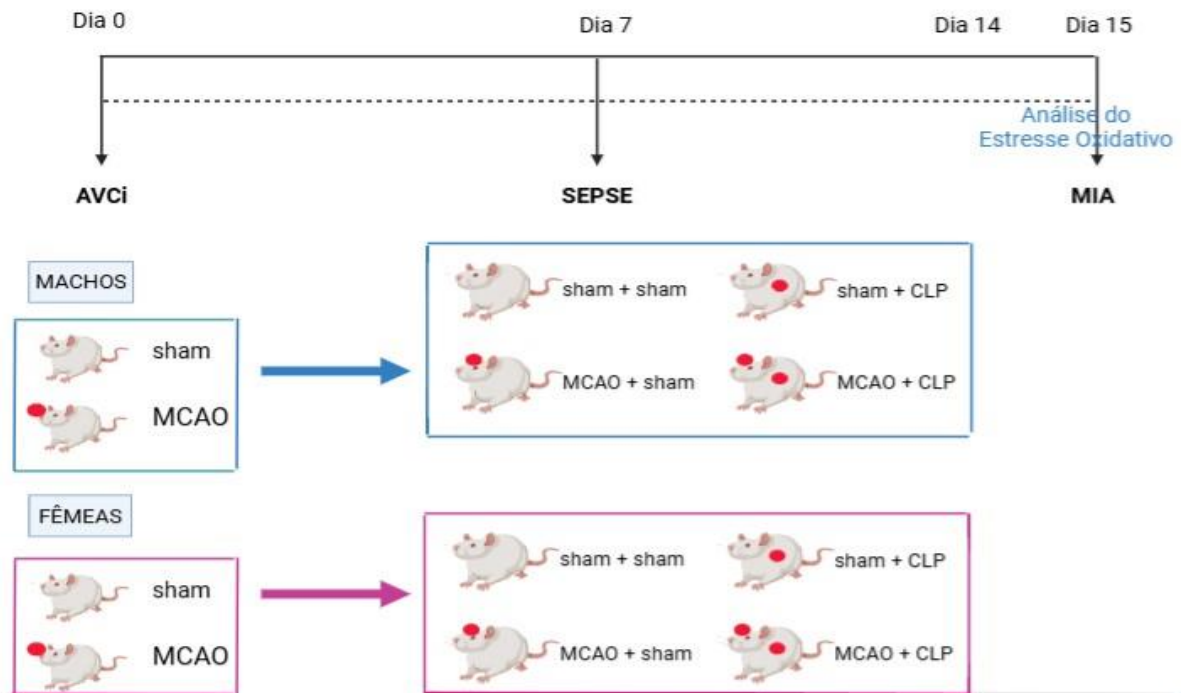


Figura 2 – Desenho do estudo.

Camundongos machos e fêmeas foram inicialmente submetidos ao modelo de oclusão da artéria cerebral média (MCAO) ou alocados no grupo sham (controle negativo) para indução de AVCi (dia 0). Após sete dias, foram alocados em grupos com ou sem sepse induzida por ligadura e perfuração cecal (CLP). No 15º dia, os animais foram eutanasiados (MIA) para análise do estresse oxidativo cerebral. Fonte: Elaborado pelo autor, 2025.

3.4 ENSAIOS, TESTES E TÉCNICAS

3.4.1 Modelo experimental de isquemia e reperfusão

A isquemia e reperfusão do AVCi foram induzidas por meio do modelo experimental de MCAO (Li *et al.*, 2013). Os animais foram anestesiados com isoflurano, administrado em um fluxo de 1L/min de oxigênio puro e 1L/min de ar ambiente, e mantidos sob anestesia com uma concentração de 1 – 2% de isoflurano.

Inicialmente, foi realizada a tricotomia na região cervical ventral, seguida de assepsia com clorexidina 4%. Em condições assépticas, foi feita uma incisão na linha média ventral do pescoço. A oclusão unilateral da artéria cerebral média foi conduzida inserindo um monofilamento revestido com silicone na artéria carótida interna direita, a 6 mm da bifurcação com a artéria carótida externa, utilizando um coto desta última como ponto de acesso. Após o procedimento, a incisão foi suturada com fio de sutura

de nylon 3-0, e a isquemia cerebral foi mantida por 60 minutos. Após o período de isquemia de 60 minutos, o monofilamento foi removido sob anestesia para permitir a reperfusão cerebral.

Os animais do grupo SHAM foram submetidos aos mesmos procedimentos cirúrgicos, exceto a oclusão da artéria carótida interna. Durante todo o procedimento, incluindo cirurgia e a isquemia, a temperatura corporal dos animais foi monitorada continuamente e mantida a aproximadamente 37 °C (MCCULLOUGH *et al.*, 2003).

3.4.2 Modelo experimental de sepse

A sepse foi induzida utilizando o modelo experimental de CLP (FINK; HEARD, 1990). Os animais foram anestesiados com uma combinação de cetamina (80 mg/kg) e xilazina (10 mg/kg), administradas por via intraperitoneal (ip.). Após a cirurgia, foi realizada uma laparotomia com incisão mediana abdominal.

Durante o procedimento, o ceco foi ligado logo abaixo da junção ileocecal utilizando fio seda 3-0, garantindo a continuidade intestinal. Em seguida, o ceco foi perfurado na face antimesentérica com uma agulha nº 14 e levemente comprimido para permitir a extrusão de uma pequena quantidade de conteúdo fecal. Após esse processo, os planos cirúrgicos foram fechados com fio de sutura de nylon 3-0 e os animais foram transferidos para uma caixa de recuperação, onde permaneceram sob observação por 2 horas.

Os animais do grupo sepse receberam suporte básico com administração de solução salina (50 mL/kg) imediatamente após o procedimento e novamente 12 horas depois. Além disso, foi administrada ceftriaxona a cada 12 horas por três dias. Já os animais do grupo controle (SHAM) foram submetidos à laparotomia e manipulação do ceco pelo mesmo período, porém sem a realização da ligadura ou perfuração. Esses animais também receberam solução salina (50 mL/kg) nos mesmos intervalos, simulando o volume correspondente ao antibiótico administrado no grupo CLP. Para analgesia, todos os animais receberam uma injeção subcutânea de 80 mg/kg de dipirona sódica.

3.4.3 Testes bioquímicos

As amostras de córtex frontal, córtex posterior, estriado e hipocampo foram removidas, isoladas em gelo seco e armazenadas a -80 °C para as análises

bioquímicas. Todas as mensurações foram normalizadas pelo conteúdo de proteínas, utilizando o método descrito por Lowry *et al.*, baseado na reação de Folin-Ciocalteu (LOWRY; ROSEBROUGH; FARR; RANDALL, 1951). A leitura das mensurações de proteínas foi feita em um leitor de microplacas por absorbância e expressas como nmol/min/mg de proteína.

3.4.3.1 Avaliação dos parâmetros de estresse oxidativo

3.4.3.1.1. Atividade de Mieloperoxidase (MPO)

O indicativo de infiltrado de neutrófilo no cérebro foi avaliado por meio da atividade da MPO (AMANZADA *et al.*, 2011). Os tecidos obtidos foram homogeneizados (50 mg/mL) em uma solução contendo 0,5% de brometo de hexadeciltrimetilamônio e centrifugados a 15.000 g durante 40 minutos. A suspensão foi sonicada três vezes durante 30 segundos. Uma parte do sobrenadante foi misturado com solução de tetrametilbenzidina (1,6 mM) e 1 mM de peróxido de hidrogênio (H₂O₂). A atividade da MPO foi medida pela variação de absorbância a 650 nm a 37 °C (YOUNG *et al.*, 1989). Os resultados foram expressos em mU/mg de proteína.

3.4.3.1.2. Determinação da concentração de Nitrito/Nitrato (N/N)

A concentração de N/N foi medida em alíquotas de tecido obtidos e homogeneizados, utilizando a reação de Griess. Para isso, foram adicionados 100 µl de reagente, composto por 0,1% [w/v] em H₂O e 1% [w/v] de sulfanilamida em 5% [v/v] de Ácido Fosfórico (H₃PO₄) e concentrar o volume [1:01] para a amostra de 100 µl. A densidade óptica foi mensurada a 550 nm utilizando um leitor de ensaio enzimático (GREEN *et al.*, 1982). Os resultados foram expressos em nmol/mg de proteína.

3.4.3.1.3. Atividade da Catalase (CAT)

A atividade da enzima antioxidante CAT foi avaliada após as amostras armazenadas serem homogeneizadas. A atividade da CAT foi determinada através da medição da taxa de decaimento da absorbância do peróxido de hidrogênio a 240 nm, conforme previamente descrito. A atividade da CAT foi expressa em U de CAT por mg de proteína (AEBI, 1984).

3.5. PROCESSAMENTO E ANÁLISE DE DADOS

Os dados foram analisados quanto à normalidade utilizando o teste de ShapiroWilk e para homogeneidade usando o teste de Levene. Dados normais com homogeneidade de variância confirmada, foi utilizado testes paramétricos; e os dados que não cumpriram estas condições, os testes não paramétricos.

O número de animais utilizados foi de $n = 6$ por grupo experimental.

A avaliação da análise estatística dos dados foi realizada para como média $\pm$ DP, analisados por ANOVA de 2 vias com a comparação entre os grupos pelo teste post hoc Tukey.

Os valores foram considerados significativos quando o valor de $p < 0,05$. Todas as análises foram executadas utilizando o programa GraphPad Prism versão 10.0.

3.6 ASPECTOS ÉTICOS DA PESQUISA

O projeto de pesquisa foi aprovado pela Comissão de Ética em Uso de Animais (CEUA) da UNISUL, com parecer de aprovação nº. 20.022.4.01.IV. Os experimentos foram realizados de acordo com as diretrizes atuais para os cuidados de animais de laboratório e as diretrizes éticas para investigações de dor experimental em animais conscientes no Brasil: Conselho Nacional de Controle e Experimentação Animal (CONCEA); Resolução Normativa nº 30 de 02 de fevereiro de 2016 e Diretriz Brasileira para o Cuidado e a Utilização de Animais em Atividades de Ensino ou de Pesquisa Científica (DBCA).

4 RESULTADOS

Para a avaliação da atividade da MPO, nos machos, observou-se aumento significativo no córtex posterior no grupo MCAO+SHAM em comparação aos grupos SHAM+SHAM e SHAM+CLP. Além disso, o grupo MCAO+CLP apresentou níveis ainda mais elevados de MPO em relação a todos os demais grupos, indicando uma potencialização da resposta inflamatória frente à combinação entre isquemia e sepse (Figura 3A). No córtex frontal, foi identificado aumento da atividade da MPO nos grupos MCAO+SHAM e MCAO+CLP em comparação aos grupos SHAM+SHAM e SHAM+CLP (Figura 3B). No estriado, a atividade da MPO esteve aumentada no grupo MCAO+SHAM em relação aos grupos SHAM+SHAM e SHAM+CLP. O grupo MCAO+CLP também apresentou maior atividade que o grupo SHAM+SHAM (Figura 3C). No hipocampo, os grupos MCAO+SHAM e MCAO+CLP apresentaram aumento significativo da atividade da MPO em comparação aos grupos SHAM+SHAM e SHAM+CLP (Figura 3D).

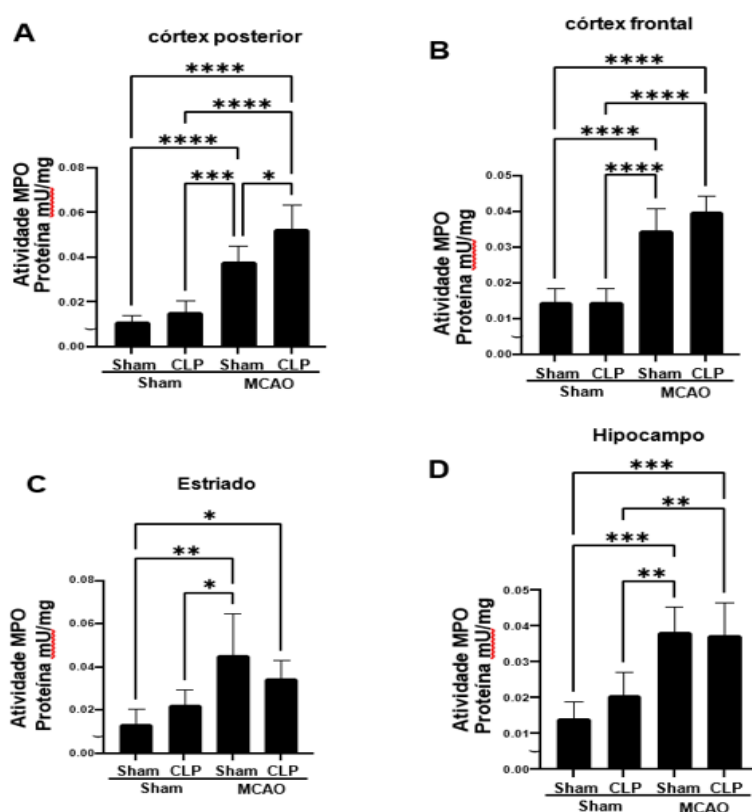


Figura 3: Atividade da mieloperoxidase no córtex posterior (A), córtex frontal (B), estriado (C) e hipocampo (D) de ratos machos ($n = 6$ por grupo). * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, **** $p < 0.0001$.

Nas fêmeas, não foram observadas diferenças significativas na atividade da MPO no córtex posterior (Figura 4A). No córtex frontal, identificou-se uma redução da atividade da MPO no grupo MCAO+CLP em comparação ao grupo SHAM+CLP (Figura 4B). No estriado, não houve diferença significativa entre os grupos (Figura 4C). Já no hipocampo, o grupo MCAO+CLP apresentou diminuição da atividade da MPO em relação ao grupo MCAO+SHAM (Figura 4D).

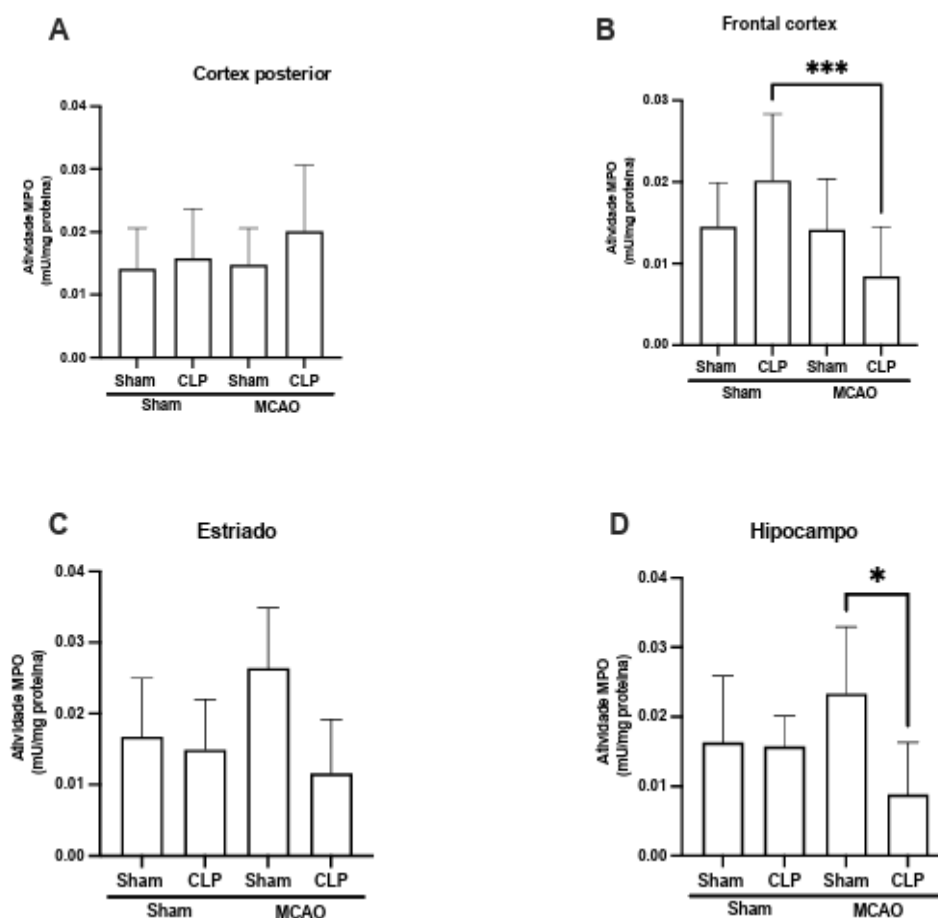


Figura 4: Atividade da mieloperoxidase no córtex posterior (A), córtex frontal (B), estriado (C) e hipocampo (D) de ratos fêmeas. ($n = 6$ por grupo). * $p < 0.05$, *** $p < 0.001$.

Com relação à concentração de N/N nos machos, no córtex posterior houve aumento significativo no grupo SHAM+CLP comparado ao SHAM+SHAM. O grupo

MCAO+SHAM apresentou redução dos níveis em relação ao SHAM+CLP, enquanto o grupo MCAO+CLP apresentou aumento em relação ao SHAM+SHAM (Figura 5A). No córtex frontal, os grupos SHAM+CLP e MCAO+CLP apresentaram elevação dos níveis de N/N em comparação ao SHAM+SHAM (Figura 5B). No estriado, não foram observadas diferenças significativas (Figura 5C). No hipocampo, observou-se aumento da concentração de N/N no grupo SHAM+CLP em relação ao grupo SHAM+SHAM. Por outro lado, o grupo MCAO+CLP apresentou redução significativa dos níveis em comparação aos grupos MCAO+SHAM e SHAM+CLP (Figura 5D).

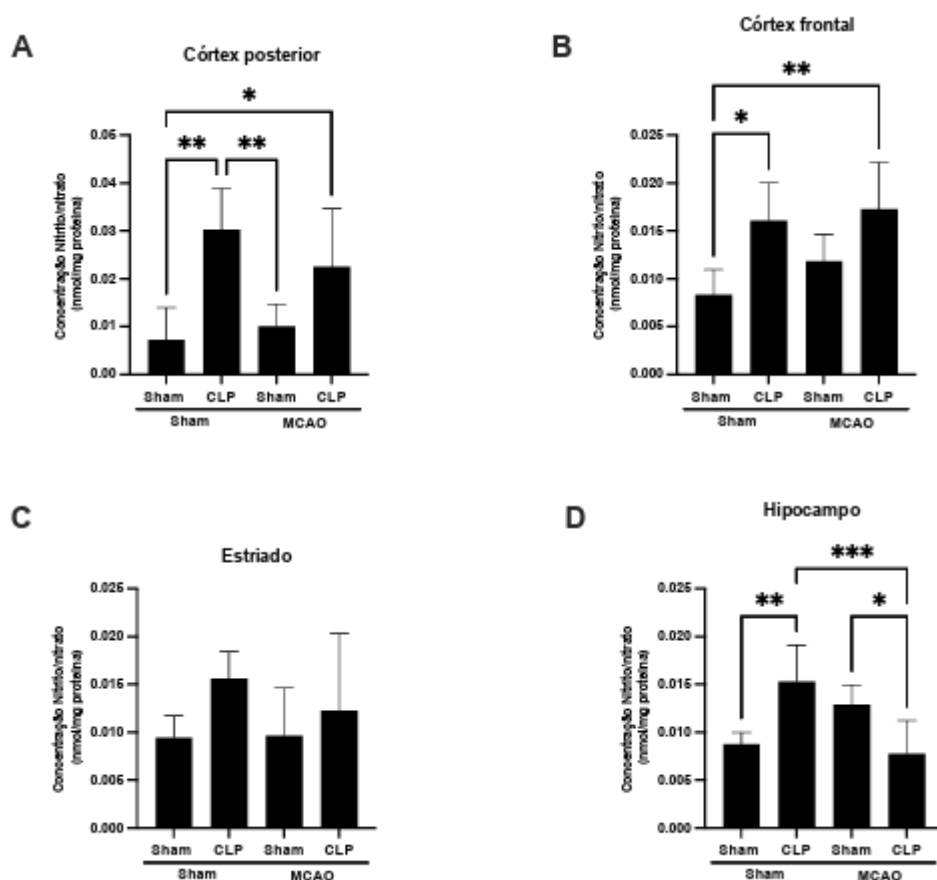


Figura 5: Concentração de nitrito/nitrato no córtex posterior (A), córtex frontal (B), estriado (C) e hipocampo (D) de ratos machos. ($n = 6$ por grupo) * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, **** $p < 0.0001$.

Nas fêmeas, a concentração de N/N no córtex posterior não apresentou diferença significativa entre os grupos (Figura 6A). No córtex frontal, o grupo SHAM+CLP apresentou diminuição em relação ao grupo SHAM+SHAM, e os grupos

MCAO+SHAM e MCAO+CLP apresentaram níveis mais elevados em comparação ao SHAM+CLP (Figura 6B). No estriado, os grupos MCAO+SHAM e MCAO+CLP apresentaram aumento da concentração de N/N em relação ao SHAM+CLP (Figura 6C). No hipocampo, foi observada uma redução no grupo SHAM+CLP em comparação ao SHAM+SHAM, enquanto os grupos MCAO+SHAM e MCAO+CLP mostraram aumento em relação ao SHAM+CLP (Figura 6D).

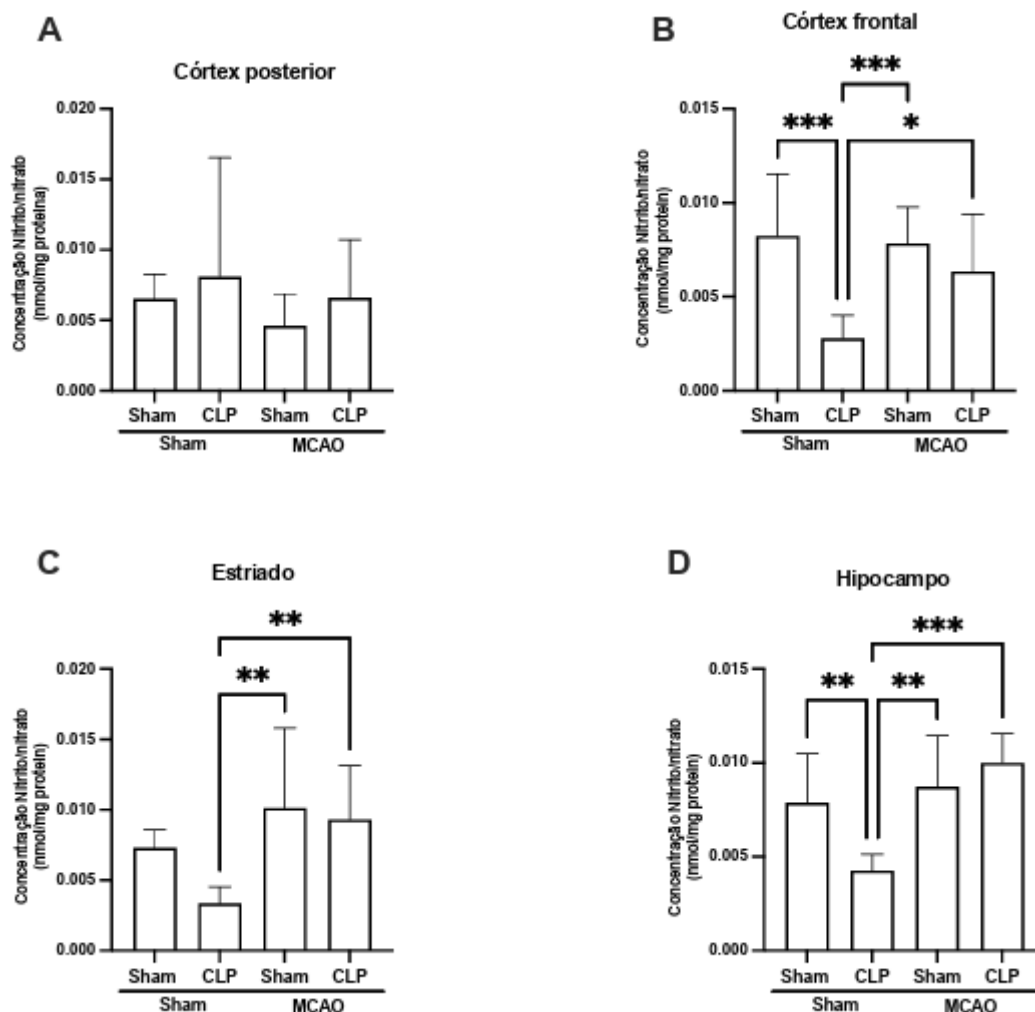


Figura 6: Concentração de nitrito/nitrato no córtex posterior (A), córtex frontal (B), estriado (C) e hipocampo (D) de ratos fêmeas. ($n = 6$ por grupo). * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$.

A atividade da CAT nos machos não apresentou diferenças significativas no córtex posterior (Figura 7A) assim como no estriado (Figura 7B). No córtex frontal, houve uma redução da atividade da CAT no grupo MCAO+CLP em comparação ao grupo MCAO+SHAM (Figura 7C). No hipocampo, os grupos SHAM+CLP e MCAO+CLP

apresentaram diminuição da atividade da CAT em relação ao grupo SHAM+SHAM (Figura 7D).

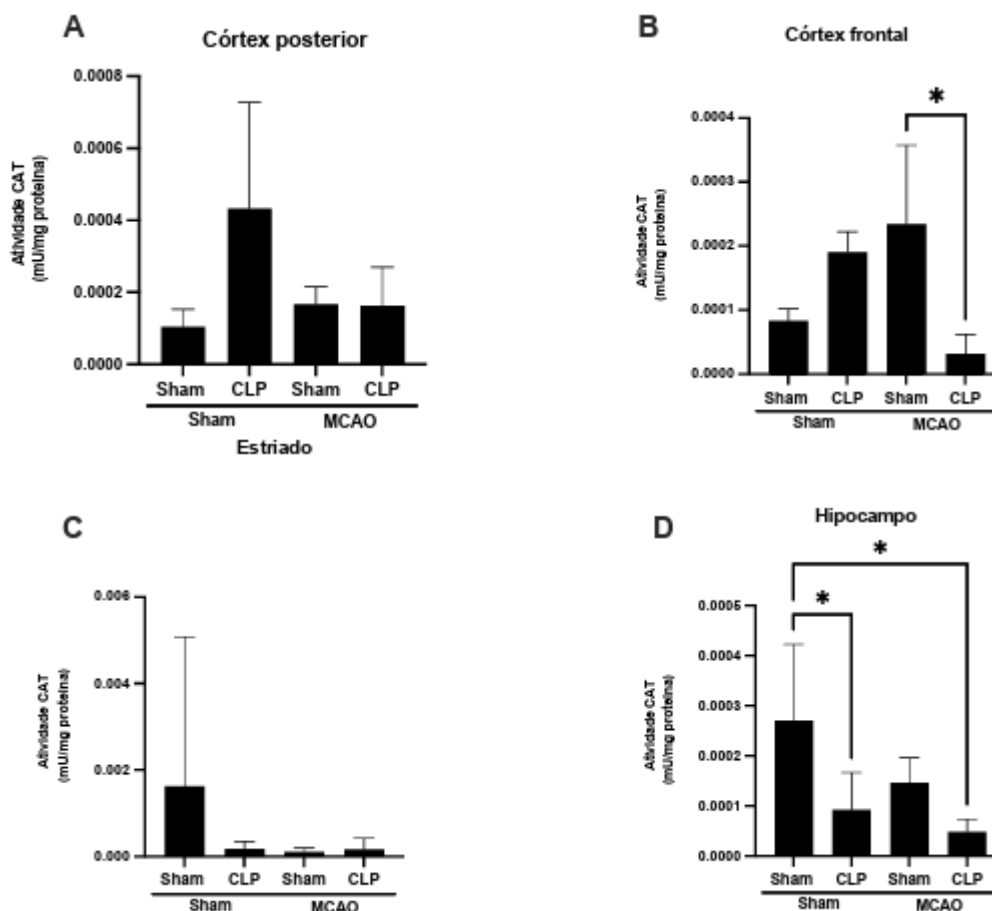


Figura 7: Atividade da CAT no córtex posterior (A), córtex frontal (B), estriado (C) e hipocampo (D) de ratos machos. ($n = 6$ por grupo) * $p < 0.05$.

Nas fêmeas, a atividade da CAT apresentou redução no córtex posterior no grupo SHAM+CLP em comparação ao SHAM+SHAM (Figura 8A). No córtex frontal (Figura 8B) e no estriado (Figura 8C), não foram observadas diferenças significativas. No hipocampo, a atividade da CAT esteve reduzida somente no grupo MCAO+CLP em comparação ao grupo SHAM+CLP (Figura 8D).

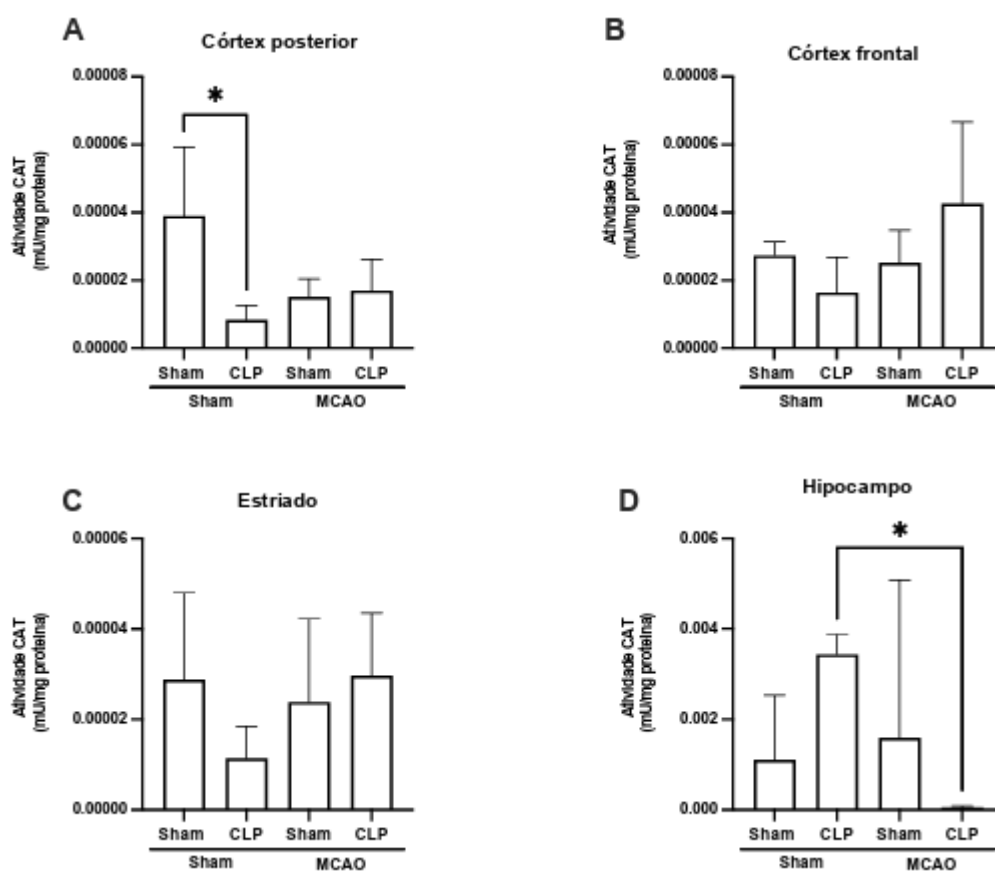


Figura 8: Atividade da CAT no córtex posterior (A), córtex frontal (B), estriado (C) e hipocampo (D) de ratos fêmeas. ($n = 6$ por grupo) $*p < 0.05$.

5. DISCUSSÃO

O presente estudo investigou a interferência do sexo biológico nas alterações oxidativas cerebrais tardias decorrentes da sepse instaurada após um AVCi experimental. Os dados demonstraram que machos e fêmeas apresentaram respostas diferenciadas nos níveis de estresse oxidativo, corroborando a hipótese de que o dimorfismo sexual modula a vulnerabilidade cerebral frente a lesões secundárias pós-AVCi.

Após o AVCi, o organismo entra em um estado de imunossupressão sistêmica caracterizado por linfopenia, disfunção de células imunes e redução da vigilância imunológica, o que aumenta significativamente a vulnerabilidade a infecções secundárias, como a sepse (FAURA *et al.*, 2021). A sepse, por sua vez, desencadeia uma resposta inflamatória exacerbada com recrutamento intenso de neutrófilos para múltiplos tecidos, inclusive o cérebro previamente lesionado (COMIM *et al.*, 2011). Os neutrófilos produzem mediadores pró-inflamatórios e enzimas como a MPO, uma enzima abundante em seus grânulos, responsável pela formação de espécies reativas altamente citotóxicas, como o ácido hipocloroso (LIU *et al.*, 2025). A atividade elevada da MPO agrava o estresse oxidativo e a lesão tecidual, contribuindo para a disfunção orgânica sistêmica na sepse e para a amplificação do dano neuroinflamatório no contexto do AVC (LIU *et al.*, 2025). Dessa forma, o infiltrado neutrofílico e a ativação da MPO constituem mecanismos-chave que conectam a imunossupressão pós-AVC à resposta inflamatória descontrolada da sepse subsequente, possivelmente agravando o prognóstico clínico e aumentando o risco de complicações neurológicas e sistêmicas. Segundo a literatura, tais eventos na idade adulta são mais pronunciados em machos (XIE *et al.*, 2023). Em contraste, fêmeas tendem a apresentar uma resposta inflamatória mais regulada, mediada pelos efeitos imunomoduladores dos estrogênios, que podem atenuar a ativação microglial e a produção de citocinas próinflamatórias (BUI; JICKLING; WINSHIP, 2022). Assim, foi verificado em neste estudo que em animais machos, observou-se uma elevação significativa da atividade da MPO nas estruturas analisadas após a combinação MCAO+CLP, em comparação aos demais grupos. Este achado evidencia a intensificação da resposta inflamatória frente à sepse instaurada após o AVCi, o que está em consonância com estudos que indicam que a combinação entre isquemia e inflamação sistêmica agrava o dano

neuronal por meio da ativação exacerbada da microglia e maior recrutamento de neutrófilos (JOAQUIM *et al.*, 2024).

De modo sistêmico, o polimorfismo MPO -463G>A tem sido associado a um risco reduzido de hipertensão em mulheres, mas não em homens. Isso sugere um efeito protetor dos alelos variantes em mulheres, potencialmente influenciado pelos hormônios sexuais que modulam a atividade da MPO (BUSHUEVA *et al.*, 2015). No que se refere ao cérebro, até o momento não existem dados consistentes sobre a influência direta entre o estrogênio e o infiltrado de neutrófilos, no entanto, os estrogênios, especialmente o estradiol, demonstraram propriedades neuroprotetoras que podem influenciar as respostas inflamatórias, o que poderia estar indiretamente relacionado à atividade da MPO. Por exemplo, foi demonstrado que o estradiol tem sido associado à diminuição da morte celular programada em condições isquêmicas, o que pode estar correlacionado com a redução da atividade da MPO, uma vez que a inflamação está frequentemente associada à morte celular (JIA *et al.*, 2009). Os estrogênios exercem efeitos vasoprotetores que podem melhorar o fluxo sanguíneo e reduzir os danos isquêmicos, influenciando potencialmente os níveis de MPO de forma indireta por meio da melhora da perfusão cerebral (LECIÑANA; EGIDO, 2005).

Relacionado a potencialização da atividade da MPO associando a sepse pós AVCi, recentemente demonstramos que ocorre o aumento da MPO em diferentes estruturas cerebrais somente em machos em tempo agudo após as duas condições e verificamos que esse aumento permanece em tempo tardio após a injúria combinada (JOAQUIM *et al.*, 2024). Embora não existam dados longitudinais que quantifiquem diretamente a presença continuada de neutrófilos no cérebro após a combinação de AVCi e sepse, evidências de protocolos relacionados indicam que essa infiltração pode persistir e contribuir para desfechos adversos (ZEINEDDINE *et al.*, 2024). Estudos com AVCi isolado mostram que os neutrófilos infiltram o tecido cerebral nas primeiras horas e alcançam o pico em até 3 dias pós-lesão, com diminuição nas semanas seguintes (RITZEL *et al.*, 2018). Entretanto, a presença prolongada de um estado inflamatório, avaliada por marcadores como a razão neutrófilo-linfócito, elevada até duas semanas após AVCs graves correlaciona-se com maior mortalidade e risco de infecções hospitalares (QUN *et al.*, 2017).

Em modelos de sepse, a observação de migração reversa de neutrófilos após infiltração tecidual sugere um prolongamento da resposta inflamatória mesmo após a fase aguda (SEMMLER *et al.*, 2007). Combinando tais evidências, é razoável hipotetizar que, no contexto da associação entre AVCi e sepse (MCAO + CLP), a infiltração de neutrófilos pode ser mantida por um período estendido, potencializando a inflamação cerebral crônica e comprometendo a recuperação neurológica a longo prazo.

A presença sustentada de neutrófilos no tecido cerebral após AVCi seguido de sepse, pode contribuir para a manutenção de um ambiente pró-inflamatório e pró-oxidante (BARICHELO *et al.*, 2006). Neutrófilos ativados são fontes importantes de ROS e RNS, incluindo NO, que em excesso pode reagir com o ânion superóxido formando peroxinitrito, um agente altamente citotóxico (BERG; MØLLER; BAILEY, 2011). A avaliação da concentração de N/N, subprodutos estáveis do NO, permite inferir a extensão do estresse nitrosativo cerebral. Assim, níveis elevados e prolongados desses metabólitos podem refletir não apenas a ativação de vias inflamatórias clássicas (como a indução da iNOS), mas também a persistência do infiltrado de neutrófilos (DELLA GIUSTINA *et al.*, 2020). Esse achado sugere que a resposta inflamatória não se limita à fase aguda, podendo se estender por dias ou semanas após a injúria inicial, especialmente em machos, que além de apresentarem maior atividade de MPO puderam apresentar maior concentração de N/N nas regiões do córtex posterior e hipocampo no grupo MCAO + CLP.

Em contraste, nas fêmeas, o padrão de produção de óxido nítrico, inferido pela concentração de nitrito/nitrato, revelou-se heterogêneo entre as regiões cerebrais e entre os grupos experimentais, indicando uma resposta inflamatória menos uniforme. No grupo MCAO+CLP, embora não tenha sido observada diferença significativa no córtex posterior, houve aumento da concentração de nitrito/nitrato no córtex frontal, estriado e hipocampo em comparação ao grupo SHAM+CLP, evidenciando que a combinação de isquemia e sepse foi capaz de amplificar a produção de óxido nítrico nessas regiões. Esse aumento pode refletir uma ativação inflamatória local, embora menos intensa e difusa que nos machos, possivelmente devido à menor infiltração de neutrófilos e à menor atividade da MPO, conforme previamente demonstrado. Além disso, o fato de o grupo SHAM+CLP apresentar redução significativa de N/N em

estruturas como o córtex frontal e o hipocampo sugere que a sepse isolada induz uma supressão metabólica ou imunológica que é parcialmente revertida pela presença prévia da injúria isquêmica. Dessa forma, os dados do grupo MCAO+CLP em fêmeas indicam uma ativação inflamatória seletiva e regional, com possível influência de fatores hormonais na modulação da resposta nitrosativa, o que pode contribuir para desfechos neurológicos distintos entre os sexos (NIE *et al.*, 2016).

Os achados relacionados à concentração de N/N apontam para um ambiente cerebral com acentuado estresse nitrosativo após isquemia e sepse, especialmente em machos do grupo MCAO+CLP. Essa condição reflete uma produção exacerbada de óxido nítrico e outros derivados reativos, o que compromete a integridade celular e a funcionalidade neuronal. Nesse contexto, a atividade da CAT representa um componente essencial da resposta antioxidante endógena, atuando na degradação do peróxido de hidrogênio e na prevenção da formação de espécies reativas mais agressivas, como o radical hidroxila (FU *et al.*, 2025). A avaliação da CAT neste momento do estudo é crucial para determinar se o sistema antioxidante cerebral foi capaz de reagir de forma eficiente ao estresse imposto, ou se houve esgotamento dessa via, favorecendo o dano persistente. Além disso, a análise da CAT pode revelar diferenças relevantes entre machos e fêmeas na capacidade de resposta antioxidante, complementando os dados de MPO e nitrito/nitrato já observados.

A análise da atividade da CAT revelou uma redução significativa em machos no córtex frontal e no hipocampo no grupo MCAO+CLP, indicando um comprometimento regional da resposta antioxidante cerebral frente à injúria combinada de isquemia e sepse. Essas regiões são particularmente vulneráveis ao estresse oxidativo, dada sua alta demanda metabólica e papel central na cognição e regulação comportamental. Estudos prévios reforçam essa susceptibilidade: Joaquim *et al.* (2024) demonstraram que, após AVC experimental, ratos machos apresentaram menor atividade de CAT no hipocampo, acompanhada de acúmulo de peróxidos lipídicos e maior ativação glial (JOAQUIM *et al.*, 2024). Da mesma forma, Liu *et al.* (2009) relataram redução significativa da atividade de enzimas antioxidantes, incluindo a CAT, no córtex frontal de ratos machos após sepse, com prejuízos em vias neurais associadas à memória e regulação autonômica.

A combinação desses fatores em modelos como o MCAO+CLP parece amplificar os efeitos deletérios nessas estruturas críticas, favorecendo a perpetuação do dano oxidativo e contribuindo para déficits cognitivos e comportamentais mais intensos.

Nas fêmeas, a atividade da CAT mostrou-se reduzida apenas no hipocampo no grupo MCAO+CLP, sugerindo um padrão de comprometimento mais restrito e regionalizado da defesa antioxidante em comparação aos machos. Enquanto nos machos a redução da CAT foi observada tanto no córtex frontal quanto no hipocampo, indicando uma falência mais ampla do sistema antioxidante cerebral, nas fêmeas a alteração se concentrou em uma estrutura altamente sensível ao estresse oxidativo e crucial para a memória e plasticidade sináptica (COBLEY; FIORELLO; BAILEY, 2018).

Estudos como o de Ritzel *et al.* (2017) apontam que o sexo feminino, em especial na presença de estrogênios, tende a manter níveis mais estáveis de enzimas antioxidantes no córtex cerebral após lesões isquêmicas. No entanto, o hipocampo parece ser uma região de maior vulnerabilidade mesmo em fêmeas, como demonstrado por Bhatt *et al.* (2013), que relataram diminuição da atividade da CAT e disfunção mitocondrial nessa região após insultos inflamatórios sistêmicos.

Esse padrão sugere que, embora as fêmeas apresentem maior resistência ao dano oxidativo generalizado, o hipocampo continua sendo um ponto crítico de desregulação redox diante de injúrias combinadas como a sepse pós-AVC. Assim, a preservação da atividade da catalase no córtex frontal das fêmeas pode refletir um efeito neuroprotetor hormônio-dependente, enquanto a queda localizada no hipocampo indica uma limitação dessa proteção em estruturas com alta exigência metabólica e susceptibilidade a lesões inflamatórias prolongadas.

Dessa forma, machos demonstraram maior suscetibilidade às alterações próoxidantes, enquanto fêmeas apresentaram uma resposta mais equilibrada, sugerindo um possível papel neuroprotetor dos hormônios sexuais femininos. No entanto, é importante considerar que essas diferenças podem variar ao longo da vida, com alterações hormonais significativas influenciando essa resposta, como já demonstrado em estudos com fêmeas ovariectomizadas (Lai, Zheng-Zong. *et al.*, 2021).

7. CONCLUSÃO

O presente estudo evidencia que o sexo biológico exerce um papel modulador nas respostas cerebrais oxidativas tardias diante da injúria combinada de AVCi e sepse. Os resultados encontrados nesse estudo demonstram que machos apresentam uma acentuação das alterações inflamatórias e oxidativas, refletida pela elevação da atividade da MPO, aumento da concentração de N/N e redução da atividade CAT, especialmente no córtex frontal e hipocampo. Esses achados apontam para um ambiente cerebral persistentemente pró-oxidante e inflamatório, com potencial para agravar o dano neuronal e comprometer a recuperação funcional a longo prazo.

Em contrapartida, as fêmeas demonstraram uma resposta inflamatória e oxidativa mais regionalizada e menos intensa, com preservação da atividade antioxidante no córtex frontal e alterações restritas ao hipocampo. Tal padrão pode estar associado à ação neuroprotetora dos estrogênios, que modulam a atividade microglial, a produção de citocinas inflamatórias e a homeostase redox (MORAES *et al.*, 2016). Essa diferença entre os sexos corrobora a literatura que destaca o dimorfismo sexual como um fator determinante na evolução de lesões neurológicas e no prognóstico após eventos como AVC e sepse (GALL *et al.*, 2010; ROY-O'REILLY; MCCULLOUGH, 2018).

Além disso, a manutenção de níveis elevados de MPO e N/N em machos, mesmo em fase tardia, sugere uma inflamação cerebral prolongada, possivelmente sustentada por infiltração persistente de neutrófilos. Esse processo pode comprometer a neuroplasticidade e favorecer déficits cognitivos e comportamentais, sendo um alvo relevante para intervenções terapêuticas futuras. A avaliação da atividade da CAT como marcador da resposta antioxidante reforça a importância de estratégias voltadas ao fortalecimento das defesas endógenas frente ao estresse oxidativo em contextos de injúria neurológica complexa.

Em resumo, este estudo reforça a necessidade de considerar o sexo biológico como uma variável crítica na compreensão da fisiopatologia do AVC e suas complicações, como a sepse, e na proposição de abordagens terapêuticas personalizadas. Investigações futuras devem aprofundar a análise dos mecanismos

hormonais e celulares subjacentes a essas diferenças, bem como explorar o impacto de variações hormonais ao longo da vida na resposta cerebral à inflamação e ao estresse oxidativo.

Como limitação, destaca-se que o estudo não contemplou a avaliação hormonal ou o ciclo estral das fêmeas, o que poderia fornecer dados adicionais sobre a modulação endócrina da resposta inflamatória. Futuras investigações devem explorar essas lacunas, além de considerar estratégias terapêuticas que atuem diretamente na regulação do estresse oxidativo em ambos os sexos.

Referências

AEBI, H. Catalase in vitro. In: PACKER, L. (ed.). *Methods in Enzymology*. [S.l.]: Elsevier, 1984. v. 105, p. 121–126.

ACOSTA, S. A. *et al.* Endothelial progenitor cells modulate inflammation-associated stroke vasculome. *Stem Cell Reviews and Reports*, v. 15, n. 2, p. 256–275, 15 abr. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12015-019-09866-z>. Acesso em: 16 out. 2020.

AHNSTEDT, H. *et al.* Sex differences in T cell immune responses, gut permeability and outcome after ischemic stroke in aged mice. *Brain, Behavior, and Immunity*, v. 87, p. 556–567, jul. 2020.

ALI, S. S. M.; SIDDIQUI, F.; SURI, M. F. K. Post-stroke pneumonia: frequency, predictors and outcome. *Journal of the Pakistan Medical Association*, v. 67, n. 12, p. 1851–1855, 2017.

ALKAYED, N. J. *et al.* Neuroprotective effects of female gonadal steroids in reproductively senescent female rats. *Stroke*, v. 31, n. 1, p. 161–168, 2000. Disponível em: <https://doi.org/10.1161/01.STR.31.1.161>. Acesso em: 12 set. 2023.

ALONSO DE LECIÑANA, M.; EGIDO, J. A. Estrogens as neuroprotectants against ischemic stroke. *Cerebrovascular Diseases*, v. 21, supl. 2, p. 48–53, 2006.

AMANZADA, A. *et al.* Myeloperoxidase and elastase are only expressed by neutrophils in normal and in inflamed liver. *Histochemistry and Cell Biology*, v. 135, n. 3, p. 305–315, mar. 2011.

BANNISTER, J. V.; CALABRESE, L. Assays for Superoxide Dismutase. In: GLICK, D. (ed.). *Methods of Biochemical Analysis*. Hoboken, NJ: John Wiley & Sons, 2006. p. 279–312.

BARICHELLO, T. *et al.* Oxidative variables in the rat brain after sepsis induced by cecal ligation and perforation. *Critical Care Medicine*, v. 34, n. 3, p. 886–889, mar. 2006.

BEDERSON, J. B. *et al.* Rat middle cerebral artery occlusion: evaluation of the model and development of a neurologic examination. *Stroke*, v. 17, n. 3, p. 472–476, maio 1986.

BENTSEN, L. *et al.* Outcome and risk factors presented in old patients above 80 years of age versus younger patients after ischemic stroke. *Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases*, v. 23, n. 7, p. 1944–1948, ago. 2014.

BERG, R. M.; MØLLER, K.; BAILEY, D. M. Neuro-oxidative-nitrosative stress in sepsis. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, v. 31, n. 7, p. 1532–1544, jul. 2011.

BHATT, A. J. *et al.* Dexamethasone induces apoptosis of progenitor cells in the subventricular zone and dentate gyrus of developing rat brain. *Journal of Neuroscience Research*, v. 91, n. 9, p. 1191–1202, set. 2013.

BOSCO, D. B.; TIAN, D. S.; WU, L. J. Neuroimmune interaction in seizures and epilepsy: focusing on monocyte infiltration. *FEBS Journal*, 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32473609/>. Acesso em: 20 out. 2020.

BOURHY, L. *et al.* Neuro-inflammatory response and brain-peripheral crosstalk in sepsis and stroke. *Frontiers in Immunology*, v. 13, p. 834649, 7 abr. 2022.

BUI, T. A.; JICKLING, G. C.; WINSHIP, I. R. Neutrophil dynamics and inflammaging in acute ischemic stroke: a transcriptomic review. *Frontiers in Aging Neuroscience*, v. 14, p. 1041333, 22 dez. 2022.

BUSHUEVA, O. *et al.* DNA hypomethylation of the MPO gene in peripheral blood leukocytes is associated with cerebral stroke in the acute phase. *Journal of Molecular Neuroscience*, v. 71, n. 9, p. 1914–1932, set. 2021.

CASSINA, A.; RADJ, R. Differential inhibitory action of nitric oxide and peroxynitrite on mitochondrial electron transport. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, v. 328, n. 2, p. 309–316, abr. 1996.

CASTELLANO, J. M.; KIRBY, E. D.; WYSS-CORAY, T. Blood-borne revitalization of the aged brain. *JAMA Neurology*, v. 72, n. 10, p. 1191, 1 out. 2015.

CHAMORRO, Á. *et al.* Neuroprotection in acute stroke: targeting excitotoxicity, oxidative and nitrosative stress, and inflammation. *The Lancet Neurology*, v. 15, n. 8, p. 869–881, jul. 2016.

CHAMORRO, Á.; URRÁ, X.; PLANAS, A. M. Infection after acute ischemic stroke: a manifestation of brain-induced immunodepression. *Stroke*, v. 38, n. 3, p. 1097–1103, mar. 2007.

CHAN, S.-L. *et al.* Inhibition of PAI (plasminogen activator inhibitor)-1 improves brain collateral perfusion and injury after acute ischemic stroke in aged hypertensive rats. *Stroke*, v. 49, n. 8, p. 1969–1976, ago. 2018.

CHEON, S. Y. *et al.* Cell type-specific mechanisms in the pathogenesis of ischemic stroke: the role of apoptosis signal-regulating kinase 1. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, v. 2018, p. 1–13, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2018/2595781>.

CHONAN, M. *et al.* CD40/CD40L expression correlates with the survival of patients with glioblastomas and an augmentation in CD40 signaling enhances the efficacy of vaccinations against glioma models. *Neuro-Oncology*, v. 17, n. 11, p. 1453–1462, nov. 2015.

CHUNG, M. L. *et al.* Risk factors for pressure injuries in adult patients: a narrative synthesis. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, v. 19, n. 2, p. 761, 2022.

CLÉMENT, T.; RODRIGUEZ-GRANDE, B.; BADAUT, J. Aquaporins in brain edema. *Journal of Neuroscience Research*, v. 98, n. 1, p. 9–18, jan. 2020.

COBLEY, J. N.; FIORELLO, M. L.; BAILEY, D. M. 13 reasons why the brain is susceptible to oxidative stress. *Redox Biology*, v. 15, p. 490–503, maio 2018.

COLLINS, S. M.; SURETTE, M.; BERCIK, P. The interplay between the intestinal microbiota and the brain. *Nature Reviews Microbiology*, v. 10, p. 735–742, 2012. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nrmicro2876>. Acesso em: 20 out. 2020.

COMIM, C. M. *et al.* Traffic of leukocytes and cytokine up-regulation in the central nervous system in sepsis. *Intensive Care Medicine*, v. 37, n. 4, p. 711–718, abr. 2011.

CORRELL, C. U. *et al.* Prevalence, incidence and mortality from cardiovascular disease in patients with pooled and specific severe mental illness: a large-scale meta-analysis of 3,211,768 patients and 113,383,368 controls. *World Psychiatry*, v. 16, n. 2, p. 163–180, jun. 2017.

CRAPSER, J. *et al.* Ischemic stroke induces gut permeability and enhances bacterial translocation leading to sepsis in aged mice. *Aging*, v. 8, n. 5, p. 1049–1063, 25 abr. 2016.

CUARTERO, M. I. *et al.* N2 neutrophils, novel players in brain inflammation after stroke: modulation by the PPAR γ agonist rosiglitazone. *Stroke*, v. 44, n. 12, p. 3498–3508, 2013.

DAL-PIZZOL, F.; TOMASI, C. D.; RITTER, C. Septic encephalopathy: does inflammation drive the brain crazy? *Revista Brasileira de Psiquiatria*, v. 36, n. 3, p. 251–258, 11 jun. 2014.

DE LIMA, M. N. M. *et al.* Pre- or post-training administration of the NMDA receptor blocker MK-801 impairs object recognition memory in rats. *Behavioural Brain Research*, v. 156, n. 1, p. 139–143, jan. 2005.

DELLA GIUSTINA, A. *et al.* Fish oil-rich lipid emulsion modulates neuroinflammation and prevents long-term cognitive dysfunction after sepsis. *Nutrition*, v. 70, p. 110417, fev. 2020.

DHUNGANA, H. *et al.* Aging aggravates ischemic stroke-induced brain damage in mice with chronic peripheral infection. *Aging Cell*, v. 12, n. 5, p. 842–850, out. 2013.

DIRNAGL, U.; IADECOLA, C.; MOSKOWITZ, M. A. Pathobiology of ischaemic stroke: an integrated view. *Trends in Neurosciences*, v. 22, n. 9, p. 391–397, set. 1999.

DRAPER, H. H.; HADLEY, M. Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. In: PACKER, L. (ed.). *Methods in Enzymology*. [S.l.]: Elsevier, 1990. v. 186, p. 421–431.

DURUKAN, A.; TATLISUMAK, T. Acute ischemic stroke: overview of major experimental rodent models, pathophysiology, and therapy of focal cerebral ischemia. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, v. 87, n. 1, p. 179–197, maio 2007.

EASTON, J. D. *et al.* Definition and evaluation of transient ischemic attack: a scientific statement for healthcare professionals from the American Heart Association/American Stroke Association Stroke Council; Council on Cardiovascular Surgery and Anesthesia; Council on Cardiovascular Radiology and Intervention; Council on Cardiovascular Nursing; and the Interdisciplinary Council on Peripheral Vascular Disease. *Stroke*, v. 40, p. 2276–2293, 2009. Disponível em: <http://www.americanheart.org/presenter.jhtml?identifier3003999>. Acesso em: 15 out. 2020.

FANN, J. R.; KATON, W. J. Psychiatric disorders and functional disability in outpatients with traumatic brain injuries. *American Journal of Psychiatry*, v. 152, n. 10, p. 1493–1499, 1 out. 1995.

FAURA, J. *et al.* Stroke-induced immunosuppression: implications for the prevention and prediction of post-stroke infections. *Journal of Neuroinflammation*, v. 18, n. 1, p. 127, 6 jun. 2021.

FAROOQ, J. *et al.* Stem cells as drug-like biologics for mitochondrial repair in stroke. *Pharmaceutics*, v. 12, n. 7, p. 615, 1 jul. 2020.

FEIGIN, V. L. *et al.* Global burden of stroke and risk factors in 188 countries, during 1990–2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *The Lancet Neurology*, v. 15, n. 9, p. 913–924, ago. 2016.

FINK, M. P.; HEARD, S. O. Laboratory models of sepsis and septic shock. *Journal of Surgical Research*, v. 49, n. 2, p. 186–196, ago. 1990.

FISCHER, J. C. *et al.* Differential investigation of the capacity of succinate oxidation in human skeletal muscle. *Clinica Chimica Acta*, v. 153, n. 1, p. 23–36, nov. 1985.

FU, C. *et al.* Review on the role of mitochondrial dysfunction in septic encephalopathy. *Cell Biochemistry and Biophysics*, v. 83, n. 1, p. 135–145, mar. 2025.

FU, Y. *et al.* Immune interventions in stroke. *Nature Reviews Neurology*, v. 11, n. 9, p. 524–535, set. 2015.

GALL, S. L. *et al.* Sex differences in presentation, severity, and management of stroke in a population-based study. *Neurology*, v. 74, n. 12, p. 975–981, 23 mar. 2010.

GIEDE-JEPPE, A. *et al.* Lymphocytopenia is an independent predictor of unfavorable functional outcome in spontaneous intracerebral hemorrhage. *Stroke*, v. 47, n. 5, p. 1239–1246, maio 2016.

GORELICK, P. B. Clinical classification of cerebral infarction improved prediction of death, dependence, and recurrence. *ACP Journal Club*, [S.l.], 2020.

GÖRTLER, M.; OLDAG, A.; BREJOVA, A. Ischämischer Insult – Diagnostik und Therapie. *AINS – Anästhesiologie · Intensivmedizin · Notfallmedizin · Schmerztherapie*, v. 49, n. 06, p. 388–395, 9 jul. 2014.

GREEN, L. C. *et al.* Analysis of nitrate, nitrite, and [15N]nitrate in biological fluids. *Analytical Biochemistry*, v. 126, n. 1, p. 131–138, out. 1982.

GUZIK, A.; BUSHNELL, C. Stroke epidemiology and risk factor management. *Continuum: Lifelong Learning in Neurology*, v. 23, n. 1, p. 15–39, fev. 2017.

HANKEY, G. J. Stroke. *The Lancet*, v. 389, p. 641–654, 2017.

HOTCHKISS, R. S.; KARL, I. E. The pathophysiology and treatment of sepsis. *New England Journal of Medicine*, v. 348, n. 2, p. 138–150, 9 jan. 2003.

HU, L. *et al.* Reactive oxygen species and Nrf2: functional and transcriptional regulators of hematopoiesis. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, v. 2019, p. 1–11, 18 nov. 2019.

IADECOLA, C.; ANRATHER, J. The immunology of stroke: from mechanisms to translation. *Nature Medicine*, v. 17, n. 7, p. 796–808, jul. 2011.

IADECOLA, C.; BUCKWALTER, M. S.; ANRATHER, J. Immune responses to stroke: mechanisms, modulation, and therapeutic potential. *Journal of Clinical Investigation*, v. 130, n. 6, p. 2777–2788, 11 maio 2020.

JAFARZADEH, S. R. *et al.* Post-stroke pneumonia: a review of risk factors, consequences, and prevention. *Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases*, v. 30, n. 10, p. 106099, 2021.

JIA, J. *et al.* Estrogen inhibits Fas-mediated apoptosis in experimental stroke. *Experimental Neurology*, v. 215, n. 1, p. 48–52, jan. 2009.

JIN, R. *et al.* Role of inflammation and its mediators in acute ischemic stroke. *Journal of Cardiovascular Translational Research*, v. 6, n. 5, p. 834–851, out. 2013.

JIN, R.; YANG, G.; LI, G. Inflammatory mechanisms in ischemic stroke: role of inflammatory cells. *Journal of Leukocyte Biology*, v. 87, n. 5, p. 779–789, maio 2010.

JOAQUIM, L. S. *et al.* Sepsis compromises post-ischemic stroke neurological recovery and is associated with sex differences. *Life Sciences*, v. 349, p. 122721, 15 jul. 2024.

KERR, N. *et al.* Sexually dimorphic microglia and ischemic stroke. *CNS Neuroscience & Therapeutics*, v. 25, n. 12, p. 1308–1317, dez. 2019.

KHOSHNAMEH, S. E. *et al.* Pathogenic mechanisms following ischemic stroke. *Neurological Sciences*, v. 38, n. 7, p. 1167–1186, jul. 2017.

KUNZE, A. *et al.* Variation in behavioral deficits and patterns of recovery after stroke among different rat strains. *Translational Stroke Research*, v. 5, n. 5, p. 569–576, out. 2014.

LAI, T. W.; ZHANG, S.; WANG, Y. T. Excitotoxicity and stroke: identifying novel targets for neuroprotection. *Progress in Neurobiology*, v. 115, p. 157–188, abr. 2014.

LAI, ZHENG-ZONG. *et al.* Estrogen deficiency accompanied by oxidative stress sustains heme oxygenase 1 expression in cardiomyocytes of ovariectomized rats. *Journal of Medical Sciences*, v. 41, n. 3, p. 146–152, maio/jun. 2021.

LAKHAN, S. E.; KIRCHGEISSNER, A.; HOFER, M. Inflammatory mechanisms in ischemic stroke: therapeutic approaches. *Journal of Translational Medicine*, v. 7, n. 1, p. 97, dez. 2009.

LEVINE, R. L. *et al.* Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. In: PACKER, L. (ed.). *Methods in Enzymology*. [S.l.]: Elsevier, 1990. v. 186, p. [n/p].

LI, P. *et al.* Adoptive regulatory T-cell therapy protects against cerebral ischemia. *Annals of Neurology*, v. 74, n. 3, p. 458–471, set. 2013.

LI, Y. *et al.* New progress in the approaches for blood–brain barrier protection in acute ischemic stroke. *Brain Research Bulletin*, v. 144, p. 46–57, 2019.

LIESZ, A. *et al.* DAMP signaling is a key pathway inducing immune modulation after brain injury. *The Journal of Neuroscience*, v. 35, n. 2, p. 583–598, 14 jan. 2015.

LISABETH, L. D. *et al.* Factors influencing sex differences in post-stroke functional outcome. *Stroke*, v. 46, n. 3, p. 860, 1 mar. 2015. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4342324/>. Acesso em: 12 set. 2023.

LIU, F.; LI, Z.; LI, J.; SIEGEL, C.; YUAN, R.; MCCULLOUGH, L. D. Sex differences in caspase activation after stroke. *Stroke*, v. 40, n. 5, p. 1842–1848, maio 2009.

LIU, F.; SCHAFER, D. P.; MCCULLOUGH, L. D. TTC, Fluoro-Jade B and NeuN staining confirm evolving phases of infarction induced by middle cerebral artery occlusion. *Journal of Neuroscience Methods*, v. 179, n. 1, p. 1–8, abr. 2009.

LIU, H. *et al.* Neuroinflammatory mechanisms of adult sepsis-associated encephalopathy: implications for blood-brain barrier disruption and oxidative stress. *Diagnostics (Basel)*, v. 15, n. 7, p. 873, 30 mar. 2025.

LIU, W. *et al.* The role of myeloperoxidase in the pathogenesis of stroke. *Brain Research*, v. 1861, p. 149705, 15 ago. 2025.

LIU, Y. *et al.* Attenuation of ischemic stroke-caused brain injury by a monoamine oxidase inhibitor involves improved proteostasis and reduced neuroinflammation. *Molecular Neurobiology*, v. 57, n. 2, p. 937–948, fev. 2020.

LO, E. H.; DALKARA, T.; MOSKOWITZ, M. A. Mechanisms, challenges and opportunities in stroke. *Nature Reviews Neuroscience*, v. 4, n. 5, p. 399–414, maio 2003.

LOWRY, O. H. *et al.* Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*, v. 193, n. 1, p. 265–275, nov. 1951.

MACHADO, F. R. *et al.* Sepsis in Brazilian emergency departments: a prospective multicenter observational study. *Internal and Emergency Medicine*, v. 18, n. 2, p. 409–421, mar. 2023.

MANGLANI, M. *et al.* Method to quantify cytokines and chemokines in mouse brain tissue using Bio-Plex multiplex immunoassays. *Methods*, v. 158, p. 22–26, abr. 2019.

MANWANI, B. *et al.* Differential effects of aging and sex on stroke-induced inflammation across the lifespan. *Experimental Neurology*, v. 249, p. 120–131, nov. 2013.

MCCULLOUGH, L. D. *et al.* Aromatase cytochrome P450 and extragonadal estrogen play a role in ischemic neuroprotection. *The Journal of Neuroscience*, v. 23, n. 25, p. 8701–8705, 24 set. 2003.

MENON, B.; RAMALINGAM, K.; KUMAR, R. Evaluating the role of oxidative stress in acute ischemic stroke. *Journal of Neurosciences in Rural Practice*, v. 11, p. 156–159, 3 mar. 2020.

MIRZA, M. A. *et al.* Sexually dimorphic outcomes and inflammatory responses in hypoxic-ischemic encephalopathy. *Journal of Neuroinflammation*, v. 12, n. 1, p. 32, dez. 2015.

MO, Y.; SUN, Y.-Y.; LIU, K.-Y. Autophagy and inflammation in ischemic stroke. *Neural Regeneration Research*, v. 15, n. 8, p. 1388, 2020.

- MORAES, C. A.; LIMA, F. R. S. *et al.* Estrogênios, neuroinflamação e neurodegeneração: modulação da atividade microglial e do redox cerebral. *Journal of Neuroinflammation*, v. 13, n. 1, p. 1–15, 2016.
- MOSKOWITZ, M. A.; LO, E. H.; IADECOLA, C. The science of stroke: mechanisms in search of treatments. *Neuron*, v. 67, n. 2, p. 181–198, jul. 2010.
- NIATSETSKAYA, Z. V. *et al.* The oxygen free radicals originating from mitochondrial complex I contribute to oxidative brain injury following hypoxia–ischemia in neonatal mice. *The Journal of Neuroscience*, v. 32, n. 9, p. 3235–3244, 29 fev. 2012.
- NIE, X. *et al.* Sex-specific effects of N-acetylcysteine in neonatal rats treated with hypothermia after severe hypoxia-ischemia. *Neuroscience Research*, v. 108, p. 24–33, jul. 2016.
- OFFNER, H. *et al.* Splenic atrophy in experimental stroke is accompanied by increased regulatory T cells and circulating macrophages. *Journal of Immunology*, v. 176, n. 12, p. 7522–7529, 2006.
- PETRONILHO, F. *et al.* Protective effects of guanosine against sepsis-induced damage in rat brain and cognitive impairment. *Brain, Behavior, and Immunity*, v. 26, n. 6, p. 904–910, ago. 2012.
- PHAN, H. T. *et al.* Sex differences in long-term mortality after stroke in the INSTRUCT (INternational STROKE oUtcomes sTudy): a meta-analysis of individual participant data. *Circulation: Cardiovascular Quality and Outcomes*, v. 10, n. 2, 1 fev. 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28228454/>. Acesso em: 12 set. 2023.
- PRASS, K. *et al.* Stroke-induced immunodeficiency promotes spontaneous bacterial infections and is mediated by sympathetic activation reversal by poststroke T helper cell type 1-like immunostimulation. *Journal of Experimental Medicine*, v. 198, n. 5, p. 725–736, 2003.
- QUN, S. *et al.* Neutrophil-to-lymphocyte ratio predicts 3-month outcome of acute ischemic stroke. *Neurotoxicity Research*, v. 31, n. 3, p. 444–452, abr. 2017.
- RITZEL, R. M. *et al.* Aging alters the immunological response to ischemic stroke. *Acta Neuropathologica*, v. 136, n. 1, p. 89–110, jul. 2018.
- ROY-O'REILLY, M.; MCCULLOUGH, L. D. Age and sex are critical factors in ischemic stroke pathology. *Endocrinology*, v. 159, n. 8, p. 3120–3131, 1 ago. 2018. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6963709/>. Acesso em: 13 out. 2020.
- ROY-O'REILLY, M.; MCCULLOUGH, L. D. Astrocytes fuel the fire of lymphocyte toxicity after stroke. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 114, n. 3, p. 425–427, 17 jan. 2017.

RUSTIN, P. *et al.* Biochemical and molecular investigations in respiratory chain deficiencies. *Clinica Chimica Acta*, v. 228, n. 1, p. 35–51, jul. 1994.

SALMERON, K. E. *et al.* Interleukin 1 alpha administration is neuroprotective and neuro-restorative following experimental ischemic stroke. *Journal of Neuroinflammation*, v. 16, n. 1, p. 222, dez. 2019.

SANTOS SAMARY, C. *et al.* Immunomodulation after ischemic stroke: potential mechanisms and implications for therapy. *Critical Care*, v. 20, n. 1, p. 391, dez. 2016.

SCHEIBLICH, H. *et al.* Neuroimmune connections in aging and neurodegenerative diseases. *Trends in Immunology*, v. 41, p. 300–312, 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32147113/>. Acesso em: 20 out. 2020.

SEMMLER, A. *et al.* Long-term cognitive impairment, neuronal loss and reduced cortical cholinergic innervation after recovery from sepsis in a rodent model. *Experimental Neurology*, v. 204, n. 2, p. 733–740, abr. 2007.

SHI, K. *et al.* Stroke-induced immunosuppression and poststroke infection. *Stroke and Vascular Neurology*, v. 3, p. 34–41, 2018.

SINGH, V. *et al.* Microbiota dysbiosis controls the neuroinflammatory response after stroke. *The Journal of Neuroscience*, v. 36, n. 28, p. 7428–7440, 2016.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE AVC. Números do AVC. [S.l.], ago. 2024. Disponível em: <https://avc.org.br/numeros-do-avc/#:~:text=No%20ano%20de%202024%2C%20at%C3%A9,inversa%20ao%20que%20observamos%20mundialmente>. Acesso em: 19 nov. 2024.

SUN, N. *et al.* Selective sphingosine-1-phosphate receptor 1 modulation attenuates experimental intracerebral hemorrhage. *Stroke*, v. 47, n. 7, p. 1899–1906, jul. 2016.

SWANSON, R. A. *et al.* A semiautomated method for measuring brain infarct volume. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, v. 10, n. 2, p. 290–293, mar. 1990.

TANAKA, S. *et al.* Neuroimmunomodulation of tissue injury and disease: an expanding view of the inflammatory reflex pathway. *Bioelectronic Medicine*, v. 5, n. 1, dez. 2019. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32232102/>. Acesso em: 20 out. 2020.

TASOULIS, M.; DOUZINAS, E. E. Hypoxemic reperfusion of ischemic states: an alternative approach for the attenuation of oxidative stress mediated reperfusion injury. *Journal of Biomedical Science*, v. 23, n. 1, p. 7, dez. 2016.

TSao, C. W. *et al.* Heart Disease and Stroke Statistics-2023 Update: a report from the American Heart Association. *Circulation*, v. 147, n. 8, p. E93–621, 21 fev. 2023. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36695182/>. Acesso em: 6 jul. 2023.

VESKOUKIS, A. S.; TSATSAKIS, A. M.; KOURETAS, D. Dietary oxidative stress and antioxidant defense with an emphasis on plant extract administration. *Cell Stress and Chaperones*, v. 17, n. 1, p. 11–21, jan. 2012.

VILLA, R. F.; FERRARI, F.; MORETTI, A. Post-stroke depression: mechanisms and pharmacological treatment. *Pharmacology & Therapeutics*, v. 184, p. 131–144, abr. 2018.

WANG, H. *et al.* Global, regional, and national life expectancy, all-cause mortality, and cause-specific mortality for 249 causes of death, 1980–2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. *The Lancet*, v. 388, n. 10053, p. 1459–1544, 8 out. 2016.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Global health estimates 2019: deaths by cause, age, sex, by country and by region, 2000–2019. Geneva: World Health Organization, 2019.

XIE, W. *et al.* Perspective review of myeloid immune cell responses and poststroke immunosuppression. *Stroke*, v. 54, n. 7, p. 1920–1929, jul. 2023.

XU, J. *et al.* Mortality in the United States, 2012. Key findings. 2012. Disponível em: http://www.cdc.gov/nchs/data/databriefs/db168_table.pdf#1. Acesso em: 14 out. 2020.

YILMAZ, G.; GRANGER, D. N. Leukocyte recruitment and ischemic brain injury. *NeuroMolecular Medicine*, v. 12, n. 2, p. 193–204, jun. 2010.

YOUNG, L. M. *et al.* Edema and cell infiltration in the phorbol ester-treated mouse ear are temporally separate and can be differentially modulated by pharmacologic agents. *Agents and Actions*, v. 26, n. 3–4, p. 335–341, mar. 1989.

ZEINEDDINE, H. A. *et al.* Neutrophils and neutrophil extracellular traps cause vascular occlusion and delayed cerebral ischemia after subarachnoid hemorrhage in mice. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, v. 44, n. 3, p. 635–652, mar. 2024.

ZHOU, M. *et al.* Research progress on the roles of neurovascular unit in stroke-induced immunosuppression. *Zhejiang Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban*, v. 52, n. 5, p. 662–672, 25 out. 2023. Em chinês e inglês.

ZHU, C. L. *et al.* PD-L1 promotes GSDMD-mediated NET release by maintaining the transcriptional activity of Stat3 in sepsis-associated encephalopathy. *International Journal of Biological Sciences*, v. 19, n. 5, p. 1413–1429, 27 fev. 2023.

ANEXO

ANEXO A – APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM USO DE ANIMAIS

Pró Reitoria de Ensino, Pesquisa, Pós-Graduação, Extensão e Inovação
Comissão de Ética no Uso de Animais (Res. CONSUN 46/2009)

Palhoça, 03 de agosto de 2020
Registro na CEUA Nº 20.022.4.01.IV

Ao Pesquisador/Professor(a): Fabricia Cardoso Petronilho

Prezado(a),

Vimos por meio deste, certificar que a proposta de estudo e/ou projeto de pesquisa intitulada "Relação entre acidente vascular cerebral isquêmico Neuroquímicas após infecção sistêmica em ratos idosos", registrada com o nº 20.022.4.01.IV, sob a responsabilidade de Fabricia Cardoso Petronilho - que envolve a manutenção ou utilização de modelos animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei Federal 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 de Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovado** pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) desta Instituição, em reunião de 10 de agosto de 2020.

A CEUA/UNISUL tem por finalidade cumprir e fazer cumprir, no âmbito da UNISUL e nos limites de suas atribuições, os dispostos na legislação Federal aplicável à criação, manutenção e a utilização de animais em atividades de ensino e de pesquisa, realizadas pelos corpos docente, discente e técnico-administrativo da UNISUL e pesquisadores de outras instituições, caracterizando-se a sua atuação como educativa, consultiva, de assessoria e fiscalização nas questões relativas à matéria, sob os aspectos: I - Ético; II - Legal; enquadramento na legislação vigente.

Gostaríamos de salientar que, embora aprovado, qualquer alteração dos procedimentos e metodologias que houver durante a realização do projeto em questão, deverá ser informada imediatamente à Comissão.

Atenciosamente,

Prof. Sandro Melim Sgrott
Coordenador da Comissão