

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

ANDRÉ LUIZ RODRIGUES SOARES SOUSA

**DISFUNÇÃO DO SISTEMA GLINFÁTICO E ALTERAÇÃO DE
PARÂMETROS INFLAMATÓRIOS E COGNITIVOS APÓS MODELO
ANIMAL DE TRAUMATISMO CRANIOENCEFÁLICO LEVE**

**CRICIÚMA, DEZEMBRO
2025**

ANDRÉ LUIZ RODRIGUES SOARES SOUSA

**DISFUNÇÃO DO SISTEMA GLINFÁTICO E ALTERAÇÃO DE
PARÂMETROS INFLAMATÓRIOS E COGNITIVOS APÓS MODELO
ANIMAL DE TRAUMATISMO CRANIOENCEFÁLICO LEVE**

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

Orientadora: Profa. Dra. Jaqueline da Silva
Generoso

CRICIÚMA, DEZEMBRO

2025

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

S729d Sousa, André Luiz Rodrigues Soares.
Disfunção do sistema glinfático e alteração de
parâmetros inflamatórios e cognitivos após modelo
animal de traumatismo cranioencefálico leve /
André Luiz Rodrigues Soares Sousa. - 2025.
57 p. : il.

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

1. Traumatismo cranioencefálico. 2. Sistema
glinfático. 3. Inflamação. 4. Dano cognitivo. I.
Título.

CDD. 22. ed. 616.856

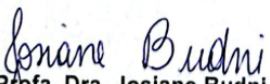
Bibliotecária Eliziane de Lucca Alosilla - CRB 14/1101
Biblioteca Central Prof. Eurico Back - UNESC



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 493

Com início às 9 (nove) horas e 30 (trinta) minutos do dia 12 (doze) de dezembro de 2025 (dois mil e vinte e cinco), realizou-se, na Sala 227/Bloco S, o seminário formal de apresentação dos resultados da Dissertação de Mestrado de **ANDRÉ LUIZ RODRIGUES SOARES SOUSA**, sob a orientação da **Profa. Dra. Jaqueline da Silva Generoso**, intitulada **“DISFUNÇÃO DO SISTEMA GLINFÁTICO E ALTERAÇÃO DE PARÂMETROS INFLAMATÓRIOS E COGNITIVOS APÓS MODELO ANIMAL DE TRAUMATISMO CRANIOENCEFÁLICO LEVE”**. A dissertação foi examinada por uma banca constituída pelos seguintes membros: Prof. Dr. Paulo Cesar Lock Silveira (Universidade do Extremo Sul Catarinense – UNESC) – Conceito final: Aprovado, Profa. Dra. Fabricia Cardoso Petronilho (Universidade do Extremo Sul Catarinense – UNESC) – Conceito final: Aprovado, e Prof. Dr. Diogo Domingui (Universidade do Extremo Sul Catarinense – UNESC) – 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, 12 (doze) de dezembro de 2025 (dois mil e vinte e cinco).


Profa. Dra. Josiane Budni
Coordenadora do PPGCS


Henrique Manenti Felisberto
Secretário do PPGCS

FOLHA INFORMATIVA

A dissertação foi elaborada seguindo o estilo ABNT e será apresentada no formato tradicional. Este trabalho foi realizado nas instalações do Laboratório Neurologia Experimental do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da UNESC.

Resumo

O traumatismo crânioencefálico (TCE) não é um evento lesivo único e estático, devendo ser considerado uma doença crônica e progressiva com sérias consequências em longo prazo. Soma-se ainda o fato que tanto o TCE quanto o processo inflamatório decorrente pode culminar em dano cognitivo e sequelas em longo prazo. A partir disso, o objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade do sistema glinfático, parâmetros inflamatórios e oxidativos após indução de modelo animal de TCE leve. Para isso, foram utilizados 66 ratos Wistar divididos em dois protocolos experimentais 24 horas e 10 dias após a indução do modelo de TCE. Em ambos os protocolos houve um grupo controle e grupo TCE leve. O TCE leve foi induzido nos animais sob anestesia, por queda livre de peso (400 g) de 1 metro de altura, através de um tubo cilíndrico metálico. Para os animais controles não houve queda de peso. Para avaliação do funcionamento do sistema glinfático os animais foram submetidos à injeção, via cisterna magna de albumina + azul de *Evans* (EBA), com posterior coleta de sangue e encéfalo. Em 24 horas e 10 dias após o modelo experimental os animais foram eutanasiados e as estruturas hipocampo, córtex frontal, cerebelo e soro coletadas para análise de citocinas e dano oxidativo, bem como para análise do sistema glinfático. Em 24 horas verificou-se aumento de TNF- α , IL-1 β e IL-6 no grupo TCE em todas as regiões cerebrais analisadas; no soro houve aumento significativo nos níveis de TNF- α e IL-6. Já os níveis de IL-10 foram aumentados somente no hipocampo dos animais TCE. Em dez dias após o modelo experimental os animais TCE apresentaram aumento de TNF- α , IL-1 β e IL-6 em praticamente todas as regiões cerebrais analisadas e soro, exceto no córtex frontal em que não houve diferença de IL-6. Os níveis de IL-10 foram aumentados somente no hipocampo dos animais TCE. Na avaliação de dano oxidativo em 24 horas houve aumento de TBARs, carbonil e DCF-DA nos animais TCE em praticamente todas as regiões cerebrais analisadas. Os níveis de TBARs no soro e DCF-DA no córtex frontal e soro não apresentaram diferença significativa. Em dez dias, na avaliação do dano oxidativo, houve aumento de TBARs, carbonil e DCF-DA nos animais TCE em praticamente todas as regiões cerebrais analisadas e soro, exceto níveis de TBARs em córtex pré-frontal. Ainda, verificou-se comprometimento do sistema glinfático em 24 horas nos animais TCE quando comparados ao controle. Os achados deste trabalho mostram que o TCE leve não é um evento simples, e mesmo em sua forma mais branda, o cérebro reage de maneira intensa, desencadeando uma série de processos inflamatórios e oxidativos que se entrelaçam e podem influenciar de forma significativa a recuperação neurológica.

Palavras-chave: traumatismo cranioencefálico; sistema glinfático; inflamação; cognição.

Abstract

Traumatic brain injury (TBI) is not a single, static injury event; it should be considered a chronic and progressive disease with serious long-term consequences. Furthermore, both the TBI itself and the resulting inflammatory process can lead to cognitive impairment and long-term sequelae. Therefore, this study aimed to evaluate the activity of the glymphatic system and inflammatory and oxidative parameters after induction of a mild TBI animal model. For this purpose, 66 Wistar rats were used, divided into two groups according to the time point of TBI induction: 24 hours and 10 days after induction. In both protocols, there were control and mild TBI groups. Mild TBI was induced in the animals under anesthesia by a free drop of a weight (400 g) from a height of 1 meter, using a cylindrical metal tube. No weight drop was performed on the control animals. To assess the functioning of the glymphatic system, animals underwent injection of albumin + Evans blue (EBA) via the cisterna magna, followed by blood and brain collection. At 24 hours and 10 days after the experimental model, the animals were euthanized, and the hippocampus, frontal cortex, cerebellum, and serum were collected for cytokine and oxidative damage analysis, as well as for glymphatic system analysis. At 24 hours, the TBI group showed increased TNF- α , IL-1 β , and IL-6 in all brain regions analyzed; serum levels of TNF- α and IL-6 were significantly increased. IL-10 levels were increased only in the hippocampus of TBI animals. Ten days after the experimental model, TBI animals showed increased TNF- α , IL-1 β , and IL-6 in virtually all brain regions analyzed and in serum, except in the frontal cortex, where there was no difference in IL-6. IL-10 levels were elevated only in the hippocampus of TBI animals. In the 24-hour oxidative damage assessment, there was an increase in TBARs, carbonyl, and DCF-DA in TBI animals in virtually all brain regions analyzed. Serum TBARs and DCF-DA levels in the frontal cortex and in serum did not differ significantly. At ten days, in the oxidative damage assessment, there was an increase in TBARs, carbonyl, and DCF-DA in TBI animals in virtually all brain regions analyzed and serum, except for TBARs levels in the prefrontal cortex. Furthermore, impairment of the glymphatic system was observed in TBI animals at 24 hours when compared to the control group. The findings of this study show that mild TBI is not a simple event; even in its mildest form, the brain responds vigorously, triggering a series of intertwined inflammatory and oxidative processes that can significantly influence neurological recovery.

Keywords: traumatic brain injury; glymphatic system; inflammation; cognition.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	9
2. OBJETIVOS	18
2.1. OBJETIVO GERAL	18
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	18
3. MATERIAL E MÉTODOS	19
3.1. CONSIDERAÇÕES ÉTICAS	19
3.2. DESENHO EXPERIMENTAL	19
3.3. MODELO ANIMAL DE TCE	20
3.4. ANÁLISES BIOQUÍMICAS E IMUNOQUÍMICAS	22
3.4.1. Avaliação dos níveis de TNF- α , IL-1 β , IL-6 e IL-10	22
3.4.2. Medida de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) ..	22
3.4.3. Medida do dano oxidativo em proteínas do grupo carbonil	22
3.5. Análises estatísticas	23
4. RESULTADOS	24
5. DISCUSSÃO	39
6. CONCLUSÃO	49
REFERÊNCIAS	50
ANEXOS	57
ANEXO A- CERTIFICADO DE APROVAÇÃO CEUA	58

1. INTRODUÇÃO

A unidade neurovascular apresenta íntima relação com os espaços perivasculares cerebrais e com a barreira hematoencefálica (BHE), desempenhando papel fundamental na manutenção da homeostase do sistema nervoso central. Os vasos sanguíneos cerebrais são constituídos por células endoteliais, membrana basal, pericitos e células musculares lisas, estruturas envolvidas pelos pés astrocitários, formando um sistema altamente especializado responsável pela regulação do fluxo sanguíneo cerebral, pela permeabilidade vascular e pelas trocas metabólicas entre o sangue e o tecido nervoso. Entre a pia-máter e a glia limitans localiza-se o espaço de Virchow-Robin, importante componente dos espaços perivasculares relacionados ao fluxo do líquido cefalorraquidiano (LCR) e ao funcionamento do sistema glinfático (SWEENEY et al., 2019; BAKKER et al., 2016).

Além disso, a interação entre células gliais, neurônios e vasos cerebrais caracteriza a unidade neurovascular como um complexo funcional integrado. Nesse contexto, os astrócitos desempenham papel essencial na regulação das trocas entre o LCR e o fluido intersticial por meio da expressão dos canais de aquaporina-4 (AQP4), facilitando a circulação de fluidos através do parênquima cerebral. Paralelamente, a barreira hematoencefálica atua como uma estrutura seletiva, controlando a passagem de moléculas e protegendo o tecido nervoso contra substâncias potencialmente neurotóxicas (ILIFF et al., 2012; NEDERGAARD, 2013; SWEENEY et al., 2019).

O sistema glinfático participa diretamente da depuração cerebral, promovendo o fluxo do LCR ao longo dos espaços perivasculares arteriais, sua distribuição pelo interstício cerebral e posterior drenagem em direção aos espaços perivenosos e vasos linfáticos meníngeos. Dessa forma, a integração entre a unidade neurovascular, a barreira hematoencefálica e o sistema glinfático é essencial para a manutenção da função cerebral normal, sendo alterações nesses mecanismos associadas a processos neuroinflamatórios, edema cerebral, traumatismo cranioencefálico e doenças neurodegenerativas. A Figura 2 ilustra esquematicamente a organização da unidade neurovascular, da barreira hematoencefálica e dos espaços perivasculares envolvidos no funcionamento do sistema glinfático (RASMUSSEN; MESTRE; NEDERGAARD, 2018; PLOG; NEDERGAARD, 2018).

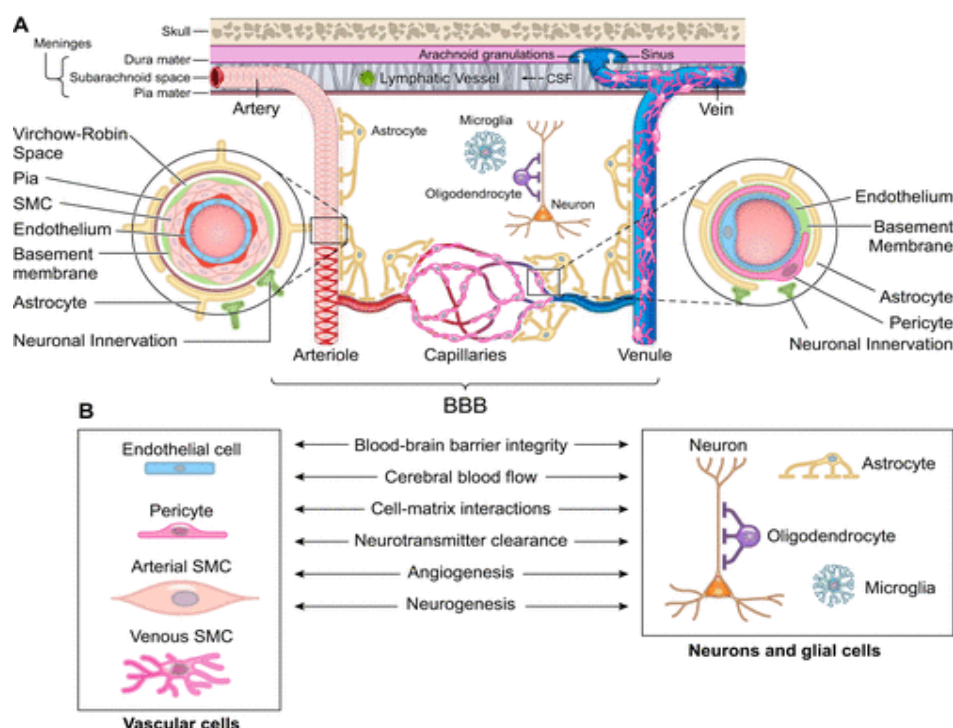


Figura 1: Representação esquemática da unidade neurovascular e da barreira hematoencefálica, evidenciando a interação entre células endoteliais, astrócitos, pericitos, neurônios e espaços perivasculares no funcionamento do sistema glinfático cerebral. Fonte: Adaptado de Melanie D. Sweeney et al. (2019).

O sistema glinfático (SG) tem despertado interesse em inúmeras áreas da saúde desde sua descoberta em 2012 por Iliff e colaboradores, em decorrência de sua atuação no funcionamento fisiológico do cérebro, que possibilita a retirada de substâncias neurotóxicas do tecido cerebral. Esse processo ocorre por meio de um “aparelho virtual” que conecta o líquido cefalorraquidiano (LCR) ao fluido intersticial que, então, desemboca no sistema linfático cervical (Ferrara, Bertozzi *et al.*, 2022).

A figura 2 ilustra a organização anatômica dos espaços perivasculares cerebrais e sua íntima relação com o sistema glinfático, evidenciando o trajeto do LCR ao longo dos espaços perivasculares que acompanham os vasos sanguíneos desde o espaço subaracnoide até o parênquima cerebral. Observa-se a participação de estruturas como a pia-máter, as células leptomeníngeas e a glia limitans superficial e perivascular, componentes fundamentais na regulação das trocas entre o LCR e o fluido intersticial. Dessa forma, o sistema glinfático atua como uma importante via de depuração cerebral, sendo essencial para a eliminação de metabólitos e para a integridade funcional do tecido cerebral (BAKKER *et al.*, 2016; GOUVEIA-FREITAS; BASTOS-LEITE, 2021).

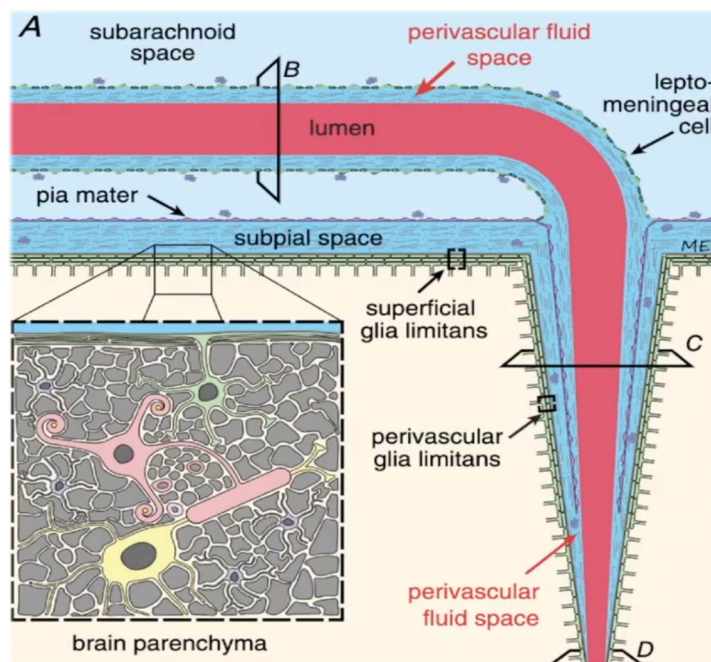


Figura 2: Representação anatômica do espaço perivascular arterial, destacando sua relação com o espaço subaracnóideo, pia-máter, glia limitans e parênquima cerebral.

Fonte: Adaptado de Gouveia-Freitas et al., 2021

Diferentemente do que ocorre nos tecidos periféricos, o tecido encefálico não possui capilares linfáticos tradicionais que propiciam a eliminação de resquícios metabólicos tóxicos (Hablitiz, Nedergaard, 2021). O LCR do espaço subaracnóide flui para o cérebro por meio dos espaços perivasculares das grandes artérias leptomeníngeas. Com a ramificação da árvore vascular, o LCR é conduzido para o parênquima cerebral através dos espaços perivasculares das artérias penetrantes conhecido como espaços de Virchow-Robins (Rasmussen, Mestre *et al.*, 2018).

A partir do espaço perivascular, o LCR flui então através da membrana basal da glia e das terminações astrogliais que delimitam o parênquima cerebral. As terminações astrocíticas expressam densamente o canal de água aquaporina-4 (AQP4), o que facilita o fluxo do LCR para o parênquima cerebral, onde se mistura com o fluido intersticial. No interstício, o fluido se dispersa por meio de um movimento líquido polarizado em direção aos espaços perivasculares e perineuronais. Por fim, o LCR sai ao longo das bainhas perineurais dos nervos cranianos e espinhais, dos vasos linfáticos meníngeos e das granulações aracnóideas (Rasmussen, Mestre *et al.*, 2022). Sendo assim, o cérebro dispõe de um sistema semelhante ao sistema linfático, que conecta o LCR e o fluido

intersticial, possibilitando a excreção de compostos neurotóxicos, figura 1 (Ferrara, Bertozzi *et al.*, 2022).

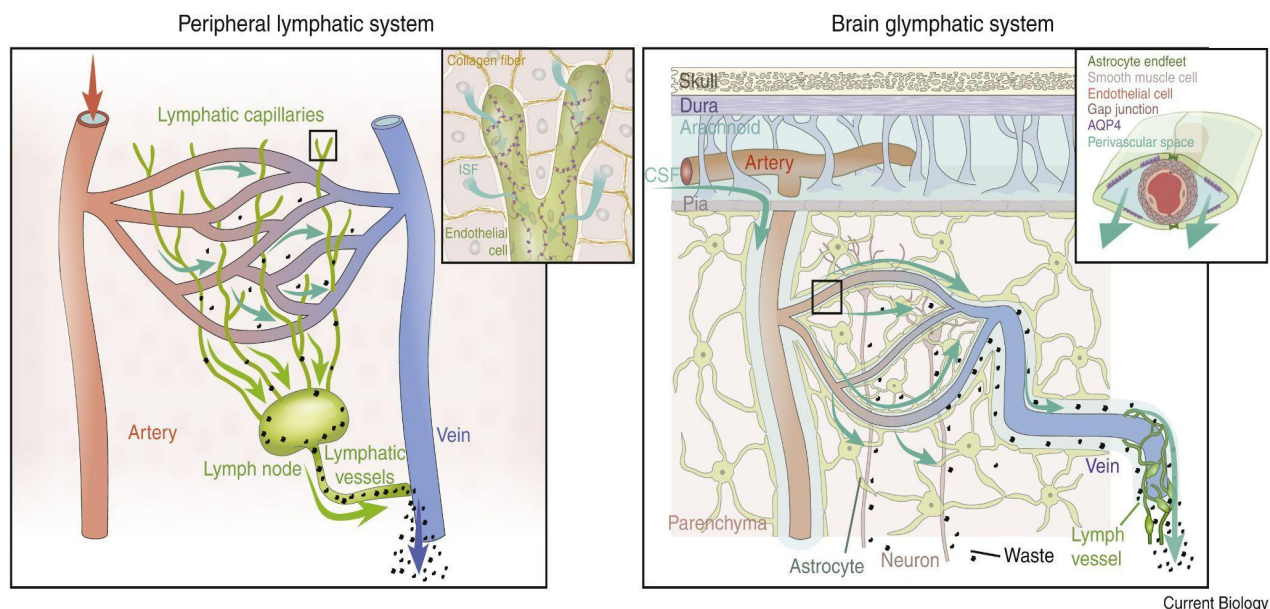


Figura 2: Comparação do movimento do fluido intersticial linfático periférico e glinfático cerebral. Fonte: Hablitz e Nedergaard, 2021.

De maneira similar, porém em um caminho inverso, a barreira hematoencefálica (BHE) atua como obstáculo para a passagem de drogas, fármacos e compostos exógenos do sistema periférico para o sistema nervoso central (SNC) (Kadry, Noorani *et al.*, 2020). A BHE é composta por células endoteliais microvasculares (CEM), reguladas por outras células que cercam o endotélio como astrócitos, interneurônios, micróglia, entre outras (Uemura, Maki *et al.*, 2020). Salvo as semelhanças anatômicas com o SG, os estreitamentos das interligações celulares da BHE limitam e refinam a passagem de componentes plasmáticos, glóbulos vermelhos, leucócitos e outras substâncias para o cérebro (Sweeney, Sagare, Zlokovic, 2018).

A integridade de ambas as barreiras é de extrema importância para a manutenção do fluxo sanguíneo e da permeabilidade seletiva. Entretanto, diversos fatores como doenças neurodegenerativas, acidente vascular encefálico (AVE), traumatismo cranioencefálico (TCE), epilepsia, entre outros, podem alterar o funcionamento fisiológico da BHE (Sweeney *et al.*, 2019).

O TCE é definido por qualquer lesão estrutural ou outra alteração que afete a função cerebral devido à força externa ao corpo (Blennow, Hardy, Zetterberg, 2012) acarretando o início ou piora de pelo menos um sintoma neurológico como

perda ou queda no nível de consciência, perda de memória referente a momentos imediatamente anteriores ou posteriores à lesão, comprometimento do estado mental (confusão, desorientação, lentificação do pensamento) ou déficits neurológicos (fraqueza, perda do equilíbrio, alteração visual (Eme, 2017).

O TCE é uma das principais causas de morte e incapacidade em adultos em todas as faixas etárias, com milhões de indivíduos acometidos em todo o mundo a cada ano. Além disso, o TCE é um importante fator de risco para a neurodegeneração, demência, AVE, distúrbios neuroendócrinos e epilepsia (Wilson *et al.*, 2017). A nível mundial, todos os anos, mais de 50 milhões de indivíduos sofrem um TCE e estima-se que aproximadamente metade da população global venha a experimentar um ou mais TCE ao longo de suas vidas (Maas, Menon *et al.*, 2017). Em sua maioria, acomete jovens economicamente ativos, entre a segunda e a terceira décadas de vida, sendo causados principalmente por acidentes motociclísticos, seguido de quedas e atropelamentos. Ademais, cerca de 75 a 90% dos casos são classificados como TCE leve (Prince, Bruhns 2017). Segundo Fernandes e colegas (2022), estima-se que no Brasil a taxa de mortalidade por TCE é de 26,2 a 39,3/100.000 habitantes, representando mais de 100.000 vítimas fatais por ano (Fernandes and Waters 2022).

Após a ocorrência do TCE em seus diferentes níveis, dois caminhos distintos podem ser traçados no SNC: o trauma inicial causa, alterações transitórias e se recupera, quando o traumatismo é leve, ou altera de forma crônica a homeostasia cerebral, com morte celular, dano estrutural, inflamação, edema e predisposição a infecções, quando ocorre um caso moderado à grave (Johnson, de Rivero Vaccari *et al.*, 2023). Dentre os efeitos do TCE, é possível a observação de sintomas físicos (cefaléia, tontura, fadiga), cognitivos (confusão, desorientação, lentificação do pensamento) e emocionais (Prince and Bruhns 2017).

Assim, o TCE não é um evento lesivo único estático, mas deve ser considerada uma doença crônica e progressiva com sérias consequências em longo prazo. A heterogeneidade da lesão do TCE reflete tanto o dano mecânico direto que resulta da lesão em si (lesão primária) quanto às cascatas moleculares tardias que se seguem (lesão secundária) (Shi, Zhang *et al.*, 2019). A lesão primária é caracterizada pelo deslocamento e dano mecânico ao tecido cerebral, incluindo contusão, dano vascular, hemorragias, alterações no fluxo sanguíneo cerebral e na permeabilidade da BHE. A lesão secundária envolve processos bioquímicos

complexos e multifatoriais que são iniciados minutos após a lesão primária e persistem por dias, meses e até anos após o insulto primário, contribuindo e exacerbando neuroinflamação, neurodegeneração e déficits neurológicos. Além disso, proteínas liberadas de células lesadas atuam como padrões moleculares associados a danos (DAMPs), sendo potentes estimuladores de respostas imunes centrais e sistêmicas. A disfunção da BHE permite a infiltração de células imunes periféricas no parênquima cerebral, que secretam quimiocinas e citocinas que mobilizam e ativam células gliais residentes, como micróglia e astrócitos, e perpetuam a infiltração de células imunes periféricas (Das, Leonardo *et al.*, 2011).

Processos de lesão secundária em andamento também podem contribuir para o desenvolvimento de comorbidades. As comorbidades relacionadas ao TCE e/ou desafios periféricos subsequentes podem, por sua vez, exacerbar esses processos de lesão secundária, piorando os resultados e ter efeitos críticos em outros sistemas orgânicos, incluindo o trato gastrointestinal, que impactam na morbidade e mortalidade (Hanscom, Loane *et al.*, 2021).

A morte neuronal pós TCE promove a liberação de neurotransmissores excitatórios, principalmente aspartato e glutamato, que despolarizam a membrana celular e promove o influxo exacerbado de diversos íons, entre eles sódio e cálcio. O excesso de cálcio intracelular causa disfunção da membrana mitocondrial e ativa reações enzimáticas que levam à morte celular (Raith, Reddy 2023). Concomitante a isso, a propagação da despolarização da membrana celular levando ao metabolismo anaeróbico e ao maior consumo de substrato energético (Hinzman, Wilson *et al.*, 2016). Ademais, o dano à BHE prejudica o controle pressórico cerebral, favorecendo o aumento da pressão intracraniana (PIC) (Jha, Kochanek *et al.*, 2019).

O comprometimento da BHE propicia o influxo de água e fluido proteico no líquido extracelular (LEC) que, aliado a disfunção dos astrócitos, propicia a formação do edema vasogênico (Jha, Kochanek *et al.*, 2019). Ainda, a produção excessiva de citocinas pró-inflamatórias, como interferon (IFN)- α , interleucina (IL)-1 β , IL-6 e fator de necrose tumoral (TNF)- α pela glia residente contribui para os resultados adversos após o TCE, sendo seus níveis séricos aumentados no soro de pacientes após 3 meses da lesão, atuando como um mecanismo em potencial para a disfunção cognitiva em pacientes com TCE (Xu, Yue *et al.*, 2022).

Níveis aumentados de TNF- α e IL-1 β foram evidenciados em modelos animais e em pacientes, demonstrando uma contribuição significativa para o

desenvolvimento e manutenção de déficits cognitivos e de memória de trabalho, que mesmo em modelos de TCE leve, afetam os desfechos cognitivos em longo prazo (Sun, Bai *et al.*, 2019; Shaw, Anders *et al.*, 2023). Em consequência à produção de citocinas, são geradas grandes quantidades de espécies reativas ao oxigênio (ERO). Posteriormente, há morte neuronal e alterações metabólicas que desencadeiam estresse oxidativo, prejuízo na síntese de adenosina trifosfato (ATP), edema citotóxico e ruptura de membranas celulares (Raith, Reddy 2023). A formação de estresse oxidativo aumenta a produção e liberação de mais citocinas e quimiocinas, aumento da ativação de neutrófilos, peroxidação lipídica, danos ao DNA, nitração de tirosina, a ativação de metaloproteinases de matriz e produção de prostaglandina (Mira, Lira *et al.*, 2021).

Paralelamente aos processos inflamatórios e o estresse oxidativos, o TCE compromete de forma significativa os sistemas responsáveis pela depuração de resíduos do SNC. Quando a remoção adequada de metabólitos e proteínas para fora do SNC não ocorre de maneira eficiente, há acúmulo de componentes neurotóxicos no parênquima cerebral, resultando em inflamação persistente, dano neuronal progressivo e comprometimento das funções neurológicas (Kress; Iliff *et al.*, 2014).

Nesse contexto, o SG emerge como um elemento chave da fisiopatologia pós-TCE. Evidências demonstram que, após um TCE moderado, ocorre interrupção crônica da polarização perivascular dos canais de AQP4, o que compromete o fluxo glinfático e favorece o desenvolvimento de alterações neurodegenerativas (Ren; Iliff *et al.*, 2013).

Adicionalmente, o TCE promove liberação exacerbada de metabólitos e proteínas intracelulares, como a proteína tau, aumentando substancialmente a carga de resíduos a serem removidos do parênquima cerebral. Esse excesso de substratos sobrecarrega ainda mais o SG, contribuindo para seu comprometimento funcional. Evidências experimentais em modelos animais demonstram, de forma consistente, que a gravidade do TCE se associa positivamente ao grau de disfunção glinfática, reforçando o papel desse sistema na resposta cerebral ao trauma (Iliff *et al.*, 2014; Bolte *et al.*, 2019; Benjamin *et al.*, 2017; Plog; Nedergaard, 2018).

O comprometimento cognitivo representa uma das sequelas mais frequentes e clinicamente relevantes após o TCE, apresentando duração variável e ampla heterogeneidade de manifestações, sendo considerado um importante

indicador prognóstico em curto e longo prazos (Levin; Kraus, 2020). Embora altamente prevalente, os mecanismos fisiopatológicos subjacentes ao déficit cognitivo pós-traumático ainda não estão completamente elucidados. Evidências crescentes indicam que a disfunção do SG desempenha papel central nesse processo. A redução da taxa de depuração glinfática após o TCE favorece o acúmulo de proteínas beta-amiloide (β A) e de emaranhados neurofibrilares no parênquima cerebral, promovendo dilatação dos espaços perivasculares e agravamento da troca de substâncias entre o líquido cefalorraquidiano e o meio intersticial (Iliff *et al.*, 2014; Rasmussen; Mestre, 2018).

Esse ambiente patológico contribui para a perpetuação da neuroinflamação crônica, disfunção sináptica e aceleração do declínio cognitivo, mecanismos que apresentam paralelos importantes com aqueles observados em doenças neurodegenerativas, como a doença de Alzheimer (Plog; Nedergaard, 2018; Yang *et al.*, 2023).

Ademais, estudos indicam que a perda global da integridade da substância branca pode mediar a relação entre comprometimento glinfático e déficit cognitivo, sugerindo que a falha na depuração cerebral contribui para a progressão da lesão axonal difusa e para a desconexão funcional de redes neurais críticas envolvidas na cognição, memória e funções executivas (Yang *et al.*, 2023).

A disfunção glinfática no TCE também tem sido associada a marcadores de lesão neuronal, como o neurofilamento de cadeia leve (*neurofilament light chain* – NfL), cujo aumento plasmático reflete dano axonal e maior gravidade da injúria. A correlação negativa entre o índice ALPS e os níveis de NfL sugere que lesões mais severas estão associadas a maior comprometimento da depuração glinfática, reforçando o papel desse sistema como potencial biomarcador funcional da lesão cerebral traumática (Butler *et al.*, 2022; Butler *et al.*, 2023).

Evidências recentes demonstram que a inflamação crônica pós-TCE interage de forma significativa com a disfunção do SG. Níveis elevados de citocinas inflamatórias, como IL-1 β , IL-6 e TNF- α , podem comprometer a organização dos espaços perivasculares e a polarização dos canais de AQP4, reduzindo ainda mais a eficiência da depuração cerebral de resíduos metabólicos e proteínas neurotóxicas, como β A e tau (Butler *et al.*, 2022; Yang *et al.*, 2023). Dessa forma, inflamação, estresse oxidativo, falha na depuração glinfática e dano à substância branca atuam de maneira integrada, sustentando a neuroinflamação persistente e

contribuindo para o comprometimento cognitivo progressivo observado após o TCE.

Assim, evidências acumuladas nos últimos anos sustentam que a inflamação persistente e a disfunção do sistema glinfático constituem mecanismos-chave na fisiopatologia do déficit cognitivo pós-TCE. A compreensão dessa interação complexa é fundamental para o desenvolvimento de biomarcadores prognósticos e de estratégias terapêuticas direcionadas, com potencial para mitigar o dano cognitivo, melhorar os desfechos em longo prazo e reduzir o risco de neurodegeneração em pacientes acometidos por TCE.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Avaliar parâmetros inflamatórios, oxidativos e atividade do SG após modelo animal de TCE leve.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Quantificar os níveis de TNF- α , IL-1 β , IL-6 e IL-10 em hipocampo, córtex frontal, cerebelo e sangue de ratos Wistar machos adultos em 24 horas e 10 dias após indução do modelo experimental de TCE leve;

Avaliar parâmetros de dano oxidativo em hipocampo, córtex frontal, cerebelo e sangue de ratos Wistar machos adultos em 24 horas e em 10 dias após indução do modelo experimental de TCE leve;

Avaliar a atividade do SG em ratos Wistar adultos em 24 horas e em 10 dias após indução do modelo experimental de TCE leve.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

O presente estudo foi realizado no Laboratório de Neurologia Experimental, na Universidade do Extremo Sul Catarinense (UNESC), localizada em Criciúma - Santa Catarina. Para o monitoramento e o aperfeiçoamento do bem-estar animal, assim como o fomento de normas que regulamentassem e padronizassem os procedimentos realizados no Centro de Experimental Animal (CEA), a UNESC adotou como base as normativas e regulamentações do CONCEA, além das regulamentações da Comissão de Ética em Uso de Animais (CEUA) da própria universidade. O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética em Pesquisa no Uso Animal (CEUA), da Universidade do Extremo Sul Catarinense (UNESC) Brasil, sob o protocolo 82/2024 (anexo A).

3.2. DESENHO EXPERIMENTAL

Foram utilizados 66 ratos Wistar machos com 60 dias de vida, subdivididos entre os grupos controle e TCE leve.

Protocolo 1 (24 h): foram utilizados 33 animais divididos em dois grupos experimentais: TCE leve $n= 18$ e controle $n= 15$. Os animais foram anestesiados por inalação de isoflurano (1 L/min de O_2 e 1 L/min O_2 ambiente). Para a realização do TCE leve, um capacete foi fixado no crânio do animal com auxílio de fio dental e um peso de 400 g caiu da altura de 1 metro por meio de um tubo de aço inoxidável. Levando em consideração a mortalidade de 30% no grupo TCE, foram acrescidos 4 animais nesse grupo. Para a avaliação de citocinas e parâmetros de estresse oxidativo no hipocampo, córtex frontal, cerebelo e sangue periférico foram utilizados 04 animais TCE e 04 controles. Para avaliação do funcionamento do sistema glinfático foram utilizados 05 animais TCE e 05 controles, que foram submetidos à injeção, via cisterna magna de albumina + azul de *Evans* (EBA), com posterior coleta de sangue e encéfalo.

Protocolo 2 (10 dias): foram utilizados 33 animais divididos em dois grupos de análise (TCE leve $n= 18$ e controle $n= 15$). Os animais foram

anestesiados por inalação de isoflurano (1 L/min de O₂ e 1 L/min O₂ ambiente). Para a realização do TCE leve, um capacete foi fixado no crânio do animal com auxílio de fio dental e um peso de 400 g caiu da altura de 1 metro por meio de um tubo de aço inoxidável. Levando em consideração a mortalidade de 30% no grupo TCE, foram acrescentados 4 animais nesse grupo. Para a avaliação de citocinas e parâmetros de estresse oxidativo no hipocampo, córtex frontal, cerebelo e sangue periférico foram utilizados 04 animais TCE e 04 controles. Para avaliação do funcionamento do sistema glnfático foram utilizados 05 animais TCE e 05 controles, que foram submetidos à injeção, via cisterna magna de EBA, com posterior coleta de sangue e encéfalo.

3.3. MODELO ANIMAL DE TCE

O dispositivo que foi utilizado para provocar o TCE leve consistiu 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 pudessem ser conectados para produzir um peso de 400 g, considerando a queda livre de uma altura designada (Marmarou *et al.*, 1994). Os animais foram devidamente anestesiados por inalação de isoflurano (1 L/min de O₂ e 1L/min O₂ ambiente) e alocados em uma cama de espuma frouxamente fixada, com a cabeça levemente elevada para evitar danos à medula espinhal. O capacete espalhou o impacto gerado. Os animais dos grupos controles foram submetidos aos mesmos procedimentos, porém não sofreram o TCE induzido por queda de peso. Após o TCE, os animais receberam oxigenação de suporte com 100% de O₂ e foram mantidos em almofada de aquecimento até que estivessem totalmente acordados e, então, foram devolvidos para suas gaiolas. Os animais foram monitorados quanto a temperatura retal e piloereção, e receberam analgesia com dipirona sódica (7 mg/Kg, intramuscular, a cada 12 horas, durante 10 dias).

3.4. INJEÇÃO INTRACISTERNAL DE EBA

Em 24 horas e em 10 dias após a indução do TCE, os animais do grupo TCE e do grupo controle receberam uma injeção de EBA através da cisterna magna, para avaliação do funcionamento do SG. Após 4 horas da injeção de EBA, foram coletadas amostras sanguíneas por meio da artéria femoral para coleta de soro e encéfalo para quantificação de EBA.

O corante EBA tem características fluorescentes (excitação 620 nm e emissão de 680nm) e colorimétricas. Por ligar-se com alta afinidade à albumina (Lundblad, Saria *et al.*, 1983) tem sido utilizado como uma injeção intravenosa para avaliar a integridade da BHE. A solução de EBA que foi injetada na cisterna magna dos animais contém 100 mg de EB (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) + 100 mg de albumina de rato (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) diluída em 10 mL de LCR artificial, com o intuito de produzir uma solução a 1% de EBA (Wolf, Chen *et al.*, 2019).

Os animais foram anestesiados (cetamina + xilazina) e posteriormente realizado a tricotomia na extremidade posterior da cabeça para expor a pele. Em seguida, o animal foi posicionado no aparato estereotáxico tendo a cabeça fixada, sendo que o nariz ficou ligeiramente inclinado para baixo. Foi realizada uma incisão, ao nível das orelhas, de aproximadamente 1 cm, ao longo da linha média, com o auxílio de uma tesoura Íris reta. A crista occipital foi utilizada como ponto de referência. O tecido conjuntivo superficial foi divulsionado com o auxílio de uma pinça Halstead curva para expor os músculos do pescoço, que também foram divulsionados cuidadosamente na linha média no eixo anterior-posterior, expondo a cisterna magna. Uma cânula foi inserida na cisterna magna, de forma perpendicular à dura-máter. Algumas gotas de cola de cianoacrilato ou cimento dental misturado com cola de cianoacrilato foram aplicadas no local de inserção da agulha. Assim que a colocação da cânula for finalizada, foi iniciada a injeção de EBA na cisterna magna, com o auxílio de uma seringa Hamilton acoplada em uma bomba de microinjeção a uma taxa de 1 μ L por minuto, durante 25 minutos, resultando em um volume total injetado de 25 μ L (Ramos, Burdon Bechet *et al.*, 2019).

3.5. ANÁLISES BIOQUÍMICAS E IMUNOQUÍMICAS

3.5.1. Avaliação dos níveis de TNF- α , IL-1 β , IL-6 e IL-10

As amostras de hipocampo, córtex cerebral, cerebelo e soro foram removidas e isoladas em gelo seco e armazenadas a - 80 °C para as análises bioquímicas. As quantificações de TNF- α , IL-1 β , IL-6 e IL-10 foram mensuradas por kits ELISA, de acordo com as recomendações do fabricante.

3.5.2. Medida de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)

Como indício de peroxidação lipídica foram medidos os níveis de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) durante uma reação ácida aquecida como previamente descrito. Brevemente, as amostras obtidas foram misturadas com 1 ml de ácido tricloroacético 10% e 1ml de ácido tiobarbitúrico, fervidas por 15 minutos e após a quantidade de TBARS foi determinada pela absorbância em 535 nm (Draper and Hadley 1990).

3.5.3. Medida do dano oxidativo em proteínas do grupo carbonil

O dano oxidativo em proteínas foi determinado pela medida de grupos carbonil, conforme previamente descrito. Brevemente, as amostras obtidas foram precipitadas e as proteínas dissolvidas com dinitrofenilidrazina. Os grupamentos carbonil foram medidos pela absorbância em 370 nm (Levine, Garland *et al.*, 1990).

3.5.4. Medidas do DCF- DA

A produção de ROS intramitocondrial foi detectada usando o composto permeador de células não fluorescentes, diacetato de 2'7'-diclorofluoresceína (DCFH-DA). Esterases intracelulares hidrolisadas DCFH-DA em diclorofluoresceína (DCFH). Esta molécula não fluorescente é então oxidada em diclorofluoresceína fluorescente (DCF) pela ação de oxidantes celulares. As amostras mitocondriais foram tratadas com DCFH-DA (10 μ M) por 30 min a 37 °C. Após a exposição ao DCFH-DA, as amostras foram lavadas com solução de PBS com 0,2% de Triton X-100. A fluorescência foi medida em um leitor de placas (Spectra Max GEMINI XPS,

Molecular Devices, EUA) com excitação a 485 nm e emissão a 520 nm. Os valores foram expressos em unidades de fluorescência/ μ g de proteína.

3.5.5. Quantificação da albumina azul de Evans

Em 4 h após a injeção de EBA, foram coletadas amostras de sangue por meio da artéria femoral. Essas amostras foram centrifugadas por 10 minutos a 2000 $\times$ g para isolar o soro. Após a eutanásia, os encéfalos foram retirados e colocados em 3 mL de formamida (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) para permitir a difusão do EB no tecido cerebral. As concentrações de EBA foram medidas em amostras de soro e formamida, usando espectrofotometria (620 nm) contra uma curva padrão gerada com soluções de concentração de EBA conhecida em aCSF ou formamida (Wolf, Chen *et al.*, 2019).

3.6. ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os dados coletados foram analisados quanto à normalidade por meio do teste de *Shapiro-Wilk* e quanto à homogeneidade por meio do teste de *Levene*. Caso os dados obtidos fossem normais e homogêneos, foram utilizados testes paramétricos; caso os dados não atendessem a estas condições, foram utilizados os testes não-paramétricos. Para as análises bioquímicas os dados foram apresentados como média $\pm$ EPM e analisados pelo teste *t* de *Student*. Para as análises da função do SG (quantificação da EBA) os dados foram apresentados como média e desvio padrão e analisados pelo teste *t* de *Student*. Para todas as análises, foi adotado um nível de significância de 95% ($p < 0,05$). Todas as análises foram realizadas utilizando o programa *Statistical Package for the Social Science* (SPSS) versão 22.0.

4. RESULTADOS

A dosagem de TNF- α , figura 2, revelou um aumento difuso e significativo nas quatro amostras analisadas, quando comparado o grupo TCE leve ao grupo controle, hipocampo (Figura 2A; $p < 0,0001$), córtex frontal (Figura 2B; $p < 0,01$), cerebelo (Figura 2C; $p < 0,001$) e soro (Figura 2D; $p < 0,0001$). Esse padrão demonstra que, já nas primeiras 24 horas após o TCE leve, há um estado de neuroinflamação global, com repercussão sistêmica precoce.

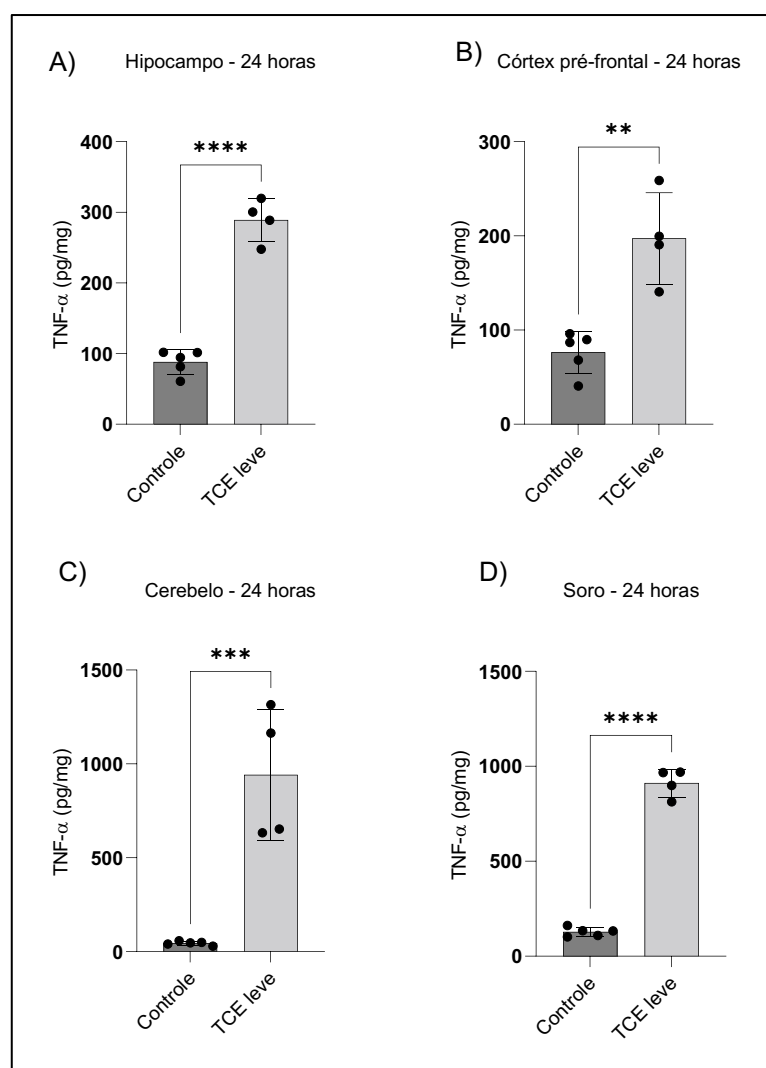


Figura 2. Concentração de TNF- α em 24 horas no hipocampo, córtex frontal, cerebelo e soro de ratos Wistar induzidos ao modelo de TCE leve. As barras representam a média $\pm$ desvio-padrão ($n = 4$ por grupo). Os dados foram relatados como média $\pm$ EPM, de 4 animais por grupo e as comparações utilizando teste t de Student * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ e **** $p < 0,0001$ indicam diferença estatisticamente significativa quando comparado entre os grupos. Fonte: Do autor, 2025.

Na avaliação dos níveis da citocina IL-1 β em 24 horas, figura 3, revelou-se elevação significativa no hipocampo (Figura 3A), córtex frontal (Figura 3B) e cerebelo (Figura 3C), sem alterações significativas no soro (Figura 3D), quando comparado o grupo TCE leve ao grupo controle. Essa figura evidencia que a IL-1 β é um mediador-chave da inflamação central aguda após o TCE leve. Seu aumento localizado em hipocampo, córtex frontal e cerebelo revela que múltiplas regiões cerebrais são rapidamente ativadas. No entanto, a ausência de elevação sérica demonstra que essa citocina ainda não está refletida na circulação periférica.

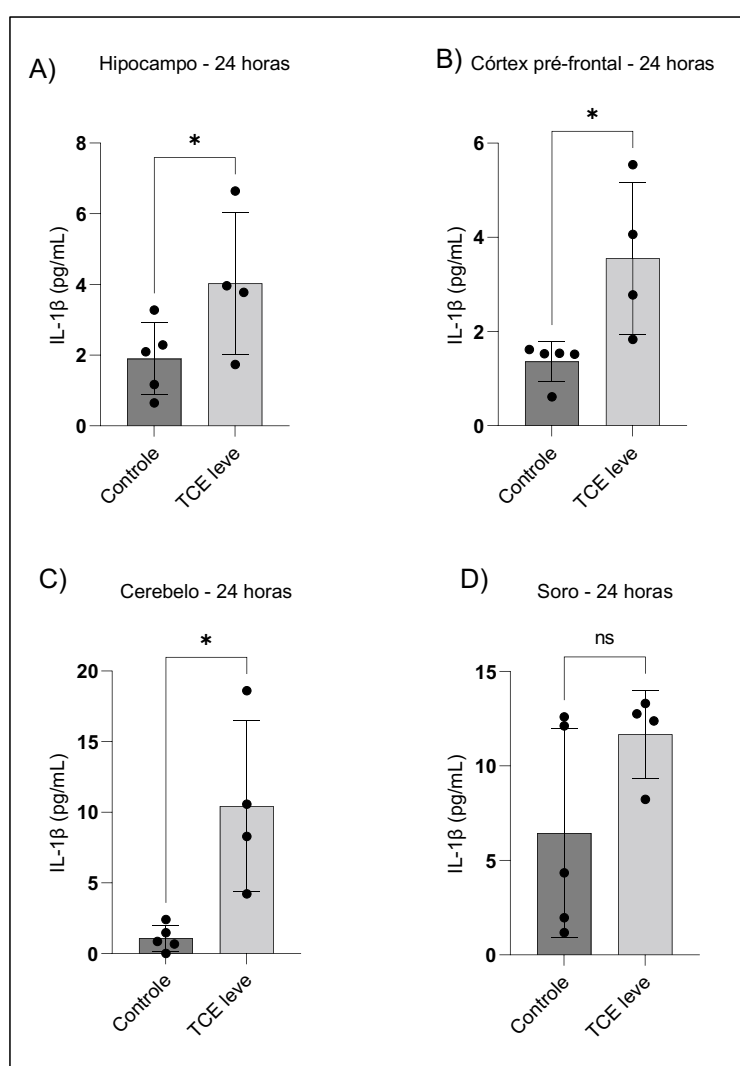


Figura 3. Concentração de IL-1 β em 24 horas no hipocampo, córtex cerebral, cerebelo e sangue de ratos Wistar induzidos ao modelo de TCE leve. As barras representam a média $\pm$ desvio-padrão (n = 4 por grupo). Os dados foram relatados como média $\pm$ EPM, de 4 animais por grupo e as comparações utilizando teste *t* de Student, * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ e **** $p < 0,0001$ indicam diferença estatisticamente significativa quando comparado entre os grupos. Fonte: Do autor, 2025.

Na avaliação dos níveis de IL-6 demonstrou elevação significativa em todas as regiões investigadas, hipocampo (Figura 4A; $p < 0,0001$), córtex frontal (Figura 4B; $p < 0,05$), cerebelo (Figura 4C; $p < 0,001$) e soro (Figura 4D; $p < 0,05$) quando comparados o grupo TCE leve e controle. Este padrão difuso reforça o papel da IL-6 como uma citocina-chave na mediação da neuroinflamação e da resposta sistêmica precoce.

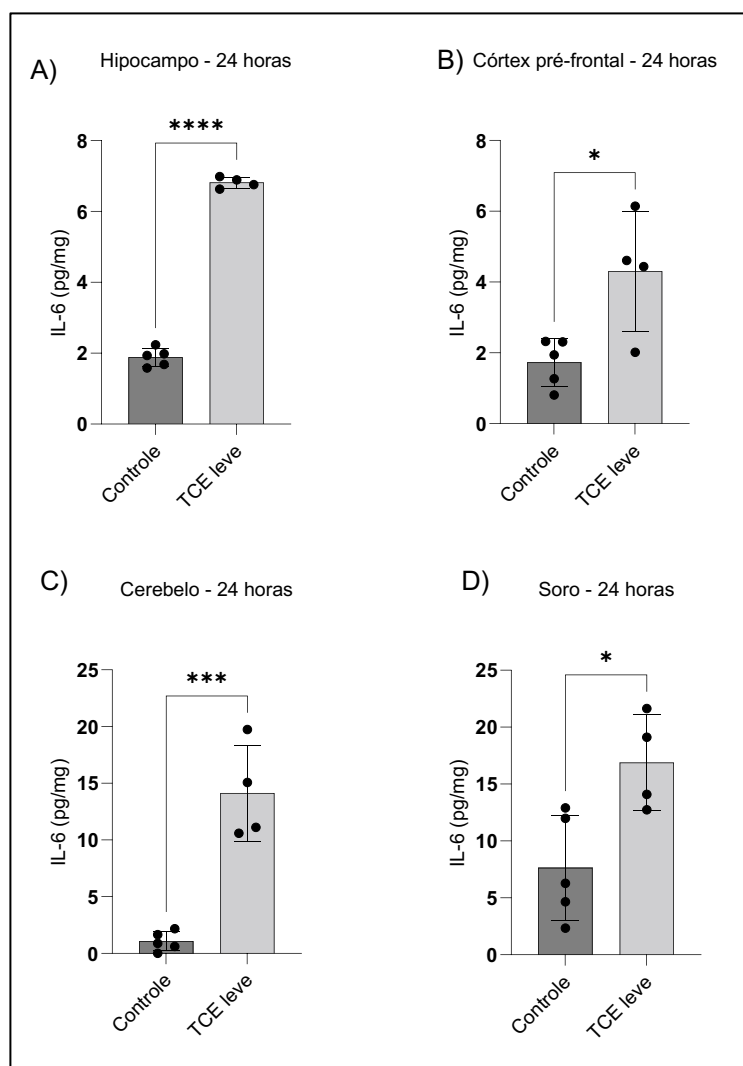


Figura 4. Concentração de IL-6 em 24 horas no hipocampo, córtex cerebral, cerebelo e sangue de ratos Wistar induzidos ao modelo de TCE leve. As barras representam a média $\pm$ desvio-padrão ($n = 4$ por grupo). Os dados foram relatados como média $\pm$ EPM, de 4 animais por grupo e as comparações utilizando teste t de Student, * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ e **** $p < 0,0001$ indicam diferença estatisticamente significativa quando comparado entre os grupos. Fonte: Do autor, 2025.

Na análise dos níveis de IL-10 revelou um padrão singular. Apenas no hipocampo (Figura 5A) observou-se aumento significativo no grupo TCE leve

quando comparado ao controle. No córtex frontal (Figura 5B), cerebelo (Figura 5C) e soro (Figura 5D), por outro lado, não houve alterações significativas nos níveis de IL-10.

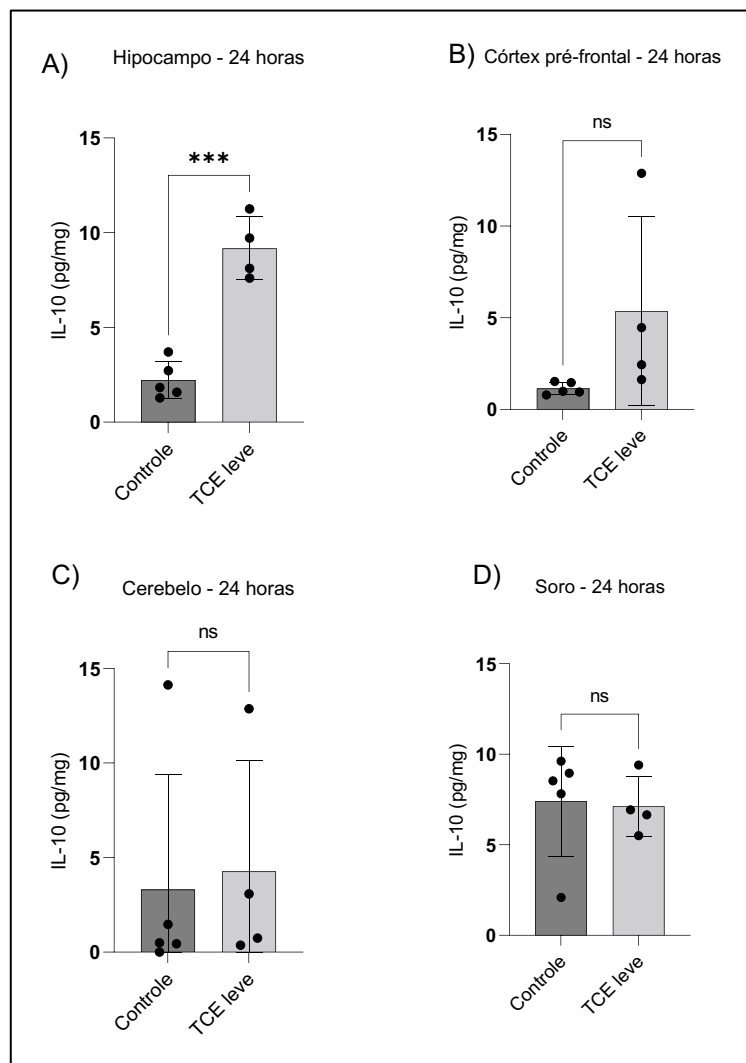


Figura 5. Concentração de IL-10 em 24 horas no hipocampo, córtex cerebral, cerebelo e sangue de ratos Wistar induzidos ao modelo de TCE leve. As barras representam a média $\pm$ desvio-padrão ($n = 4$ por grupo). Os dados foram relatados como média $\pm$ EPM, de 4 animais por grupo e as comparações utilizando teste *t* de Student, * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ e **** $p < 0,0001$ indicam diferença estatisticamente significativa quando comparado entre os grupos. Fonte: Do autor, 2025.

A figura 6, representando os níveis de TNF- α 10 dias após o TCE leve, demonstra uma permanência de sua elevação em todas as regiões analisadas, hipocampo (Figura 6A; $p < 0,001$), córtex frontal (Figura 6B; $p < 0,01$), cerebelo (Figura 6C; $p < 0,0001$) e soro (Figura 6D; $p < 0,01$) nos grupos TCE leve quando comparados ao controle. Esses dados evidenciam que a resposta inflamatória não é transitória,

mas sim sustentada, caracterizando um estado de neuroinflamação crônica com repercussão sistêmica.

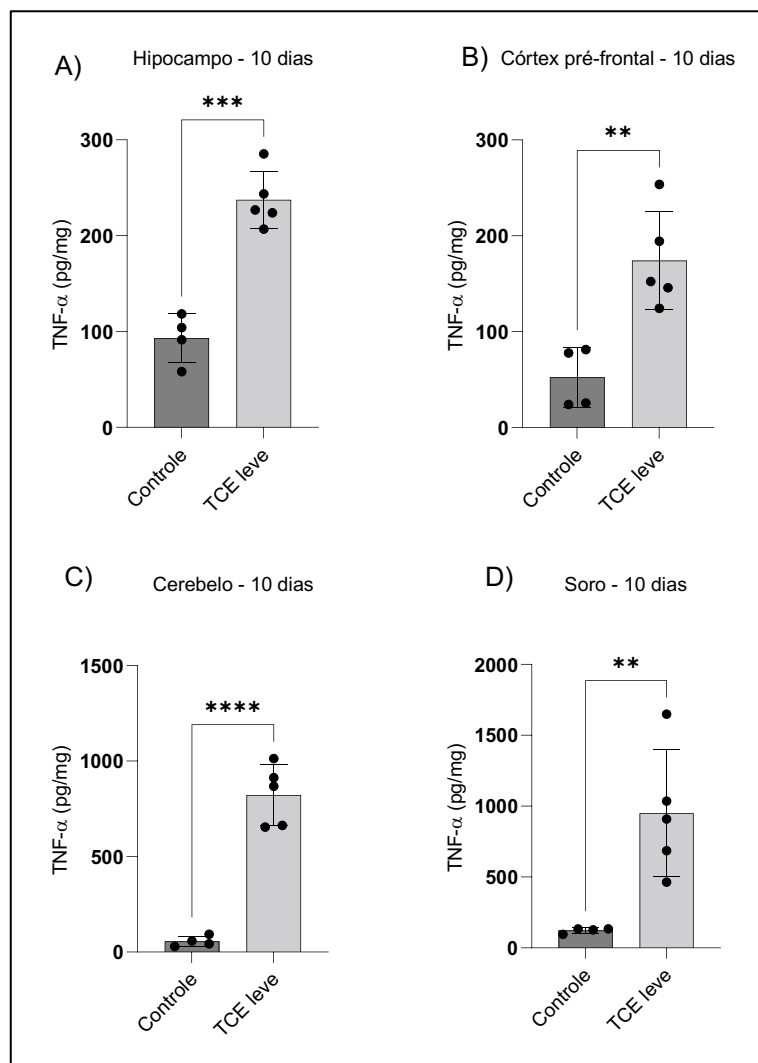


Figura 6. Concentração de TNF- α em 10 dias no hipocampo, córtex cerebral, cerebelo e sangue de ratos Wistar induzidos ao modelo de TCE leve. As barras representam a média $\pm$ desvio-padrão ($n = 4$ por grupo). Os dados foram relatados como média $\pm$ EPM, de 4 animais por grupo e as comparações utilizando teste t de Student, * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ e **** $p < 0,0001$ indicam diferença estatisticamente significativa quando comparado entre os grupos. Fonte: Do autor, 2025.

Dez dias após o TCE leve, observa-se elevação significativa da IL-1 β nos grupos TCE leve quando comparados ao grupo controle, em todas as regiões analisadas, hipocampo (Figura 7A; $p < 0,05$), córtex frontal (Figura 7B; $p < 0,01$), cerebelo (Figura 7C; $p < 0,001$) e soro (Figura 7D; $p < 0,0001$). O achado mais marcante foi o aumento significativo da IL-1 β no soro ($p < 0,0001$), demonstrando

que, após 10 dias, a inflamação não está mais confinada ao SNC, mas se manifesta de forma clara na circulação periférica.

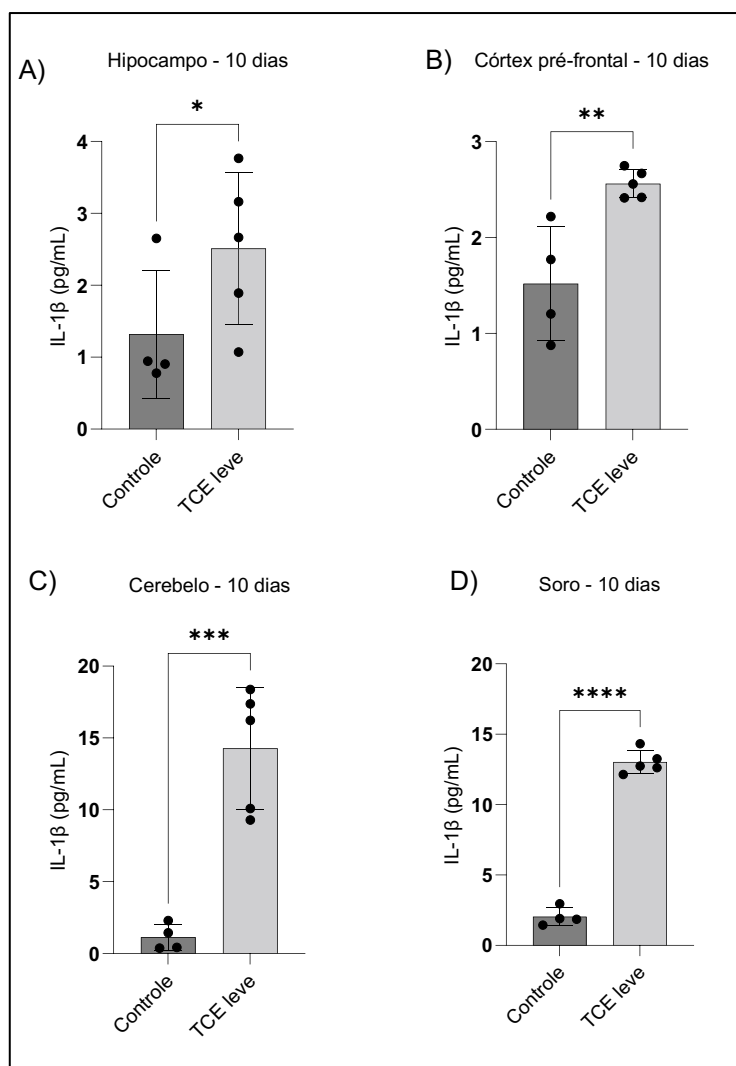


Figura 7. Concentração de IL-1β em 10 dias no hipocampo, córtex cerebral, cerebelo e sangue de ratos Wistar induzidos ao modelo de TCE leve. As barras representam a média $\pm$ desvio-padrão (n = 4 por grupo). Os dados foram relatados como média $\pm$ EPM, de 4 animais por grupo e as comparações utilizando teste *t* de Student, * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ e **** $p < 0,0001$ indicam diferença estatisticamente significativa quando comparado entre os grupos. Fonte: Do autor, 2025.

A IL-6 apresentou uma manutenção da elevação no grupo TCE quando comparado ao grupo controle no hipocampo (Figura 8A; $p < 0,001$), no cerebelo (Figura 8C; $p < 0,01$) e no soro (Figura 8D; $p < 0,05$), dez dias após a indução do modelo experimental, enquanto no córtex frontal (Figura 8B) não se observaram diferenças em relação ao grupo controle. Esse perfil sugere que a IL-6 apresenta persistência seletiva, com algumas regiões resolvendo a inflamação enquanto outras continuam ativamente envolvidas.

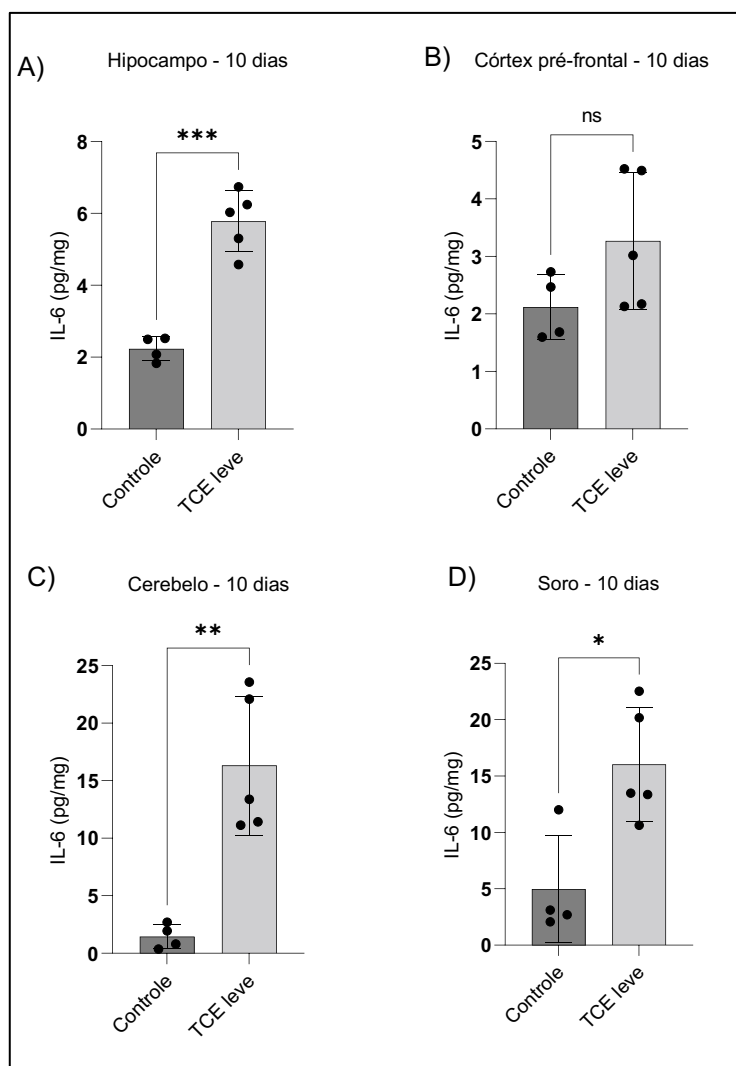


Figura 8. Concentração de IL-6 em 10 dias no hipocampo, córtex cerebral, cerebelo e sangue de ratos Wistar induzidos ao modelo de TCE leve. As barras representam a média $\pm$ desvio-padrão ($n = 4$ por grupo). Os dados foram relatados como média $\pm$ EPM, de 4 animais por grupo e as comparações utilizando teste t de *Student*, * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ e **** $p < 0,0001$ indicam diferença estatisticamente significativa quando comparado entre os grupos. Fonte: Do autor, 2025.

A IL-10, principal citocina antinflamatória, apresentou um padrão restrito mesmo após 10 dias com elevação significativa apenas no hipocampo (Figura 9A; $p < 0,001$) dos animais do grupo TCE leve quando comparados ao controle, enquanto o córtex frontal (Figura 9B), o cerebelo (Figura 9C) e o soro (Figura 9D) permaneceram sem alterações entre os grupos. Esse resultado é consistente com o observado em 24 horas, indicando que, embora haja tentativa local de regulação, ela é limitada espacialmente e insuficiente para conter a inflamação difusa.

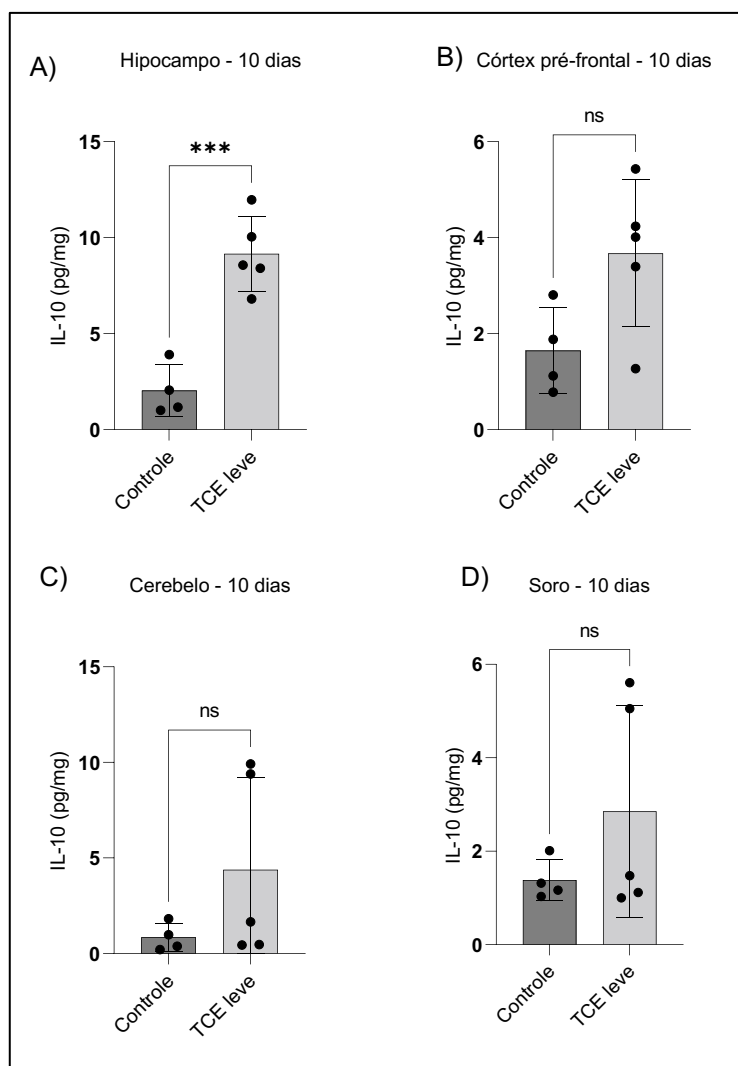


Figura 9. Concentração de IL-10 em 10 dias no hipocampo, córtex cerebral, cerebelo e sangue de ratos Wistar induzidos ao modelo de TCE leve. As barras representam a média $\pm$ desvio-padrão ($n = 4$ por grupo). Os dados foram relatados como média $\pm$ EPM, de 4 animais por grupo e as comparações utilizando teste *t* de Student, * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ e **** $p < 0,0001$ indicam diferença estatisticamente significativa quando comparado entre os grupos. Fonte: Do autor, 2025.

O MDA é um dos principais marcadores de peroxidação lipídica, indicando degradação de membranas celulares pela ação de EROs. A figura 10 mostra aumento significativo em 24 horas, em todas as regiões analisadas, hipocampo (Figura 10A; $p < 0,05$), córtex frontal (Figura 10B; $p < 0,05$), cerebelo (Figura 10C; $p < 0,01$) e soro (Figura 10D; $p < 0,05$), quando comparado o grupo TCE leve ao grupo controle. Esse perfil indica que já nas primeiras 24 horas ocorre dano oxidativo difuso, afetando tanto o SNC quanto a periferia.

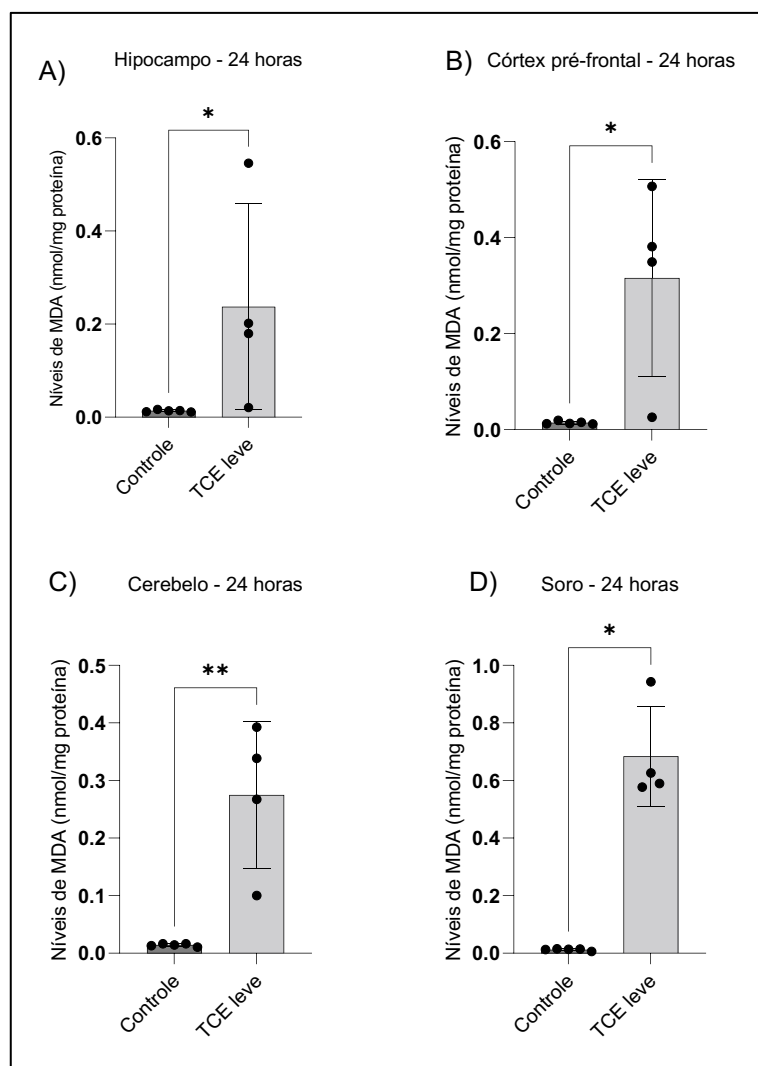


Figura 10. Concentração de TBA em 24 horas no hipocampo, córtex cerebral, cerebelo e sangue de ratos Wistar induzidos ao modelo de TCE leve. As barras representam a média $\pm$ desvio-padrão ($n = 4$ por grupo). Os dados foram relatados como média $\pm$ EPM, de 4 animais por grupo e as comparações utilizando teste t de Student, * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ e **** $p < 0,0001$ indicam diferença estatisticamente significativa quando comparado entre os grupos. Fonte: Do autor, 2025.

As proteínas carboniladas são um dos principais marcadores de dano oxidativo proteico, resultante da modificação estrutural de proteínas por EROs. Na figura 11 verificou-se um aumento significativo no grupo TCE leve quando comparado ao grupo controle, em 24 horas, em todas as estruturas analisadas, hipocampo (Figura 11A; $p < 0,05$), córtex frontal (Figura 11B; $p < 0,01$), cerebelo (Figura 11C; $p < 0,05$) e soro (Figura 11D; $p < 0,0001$).

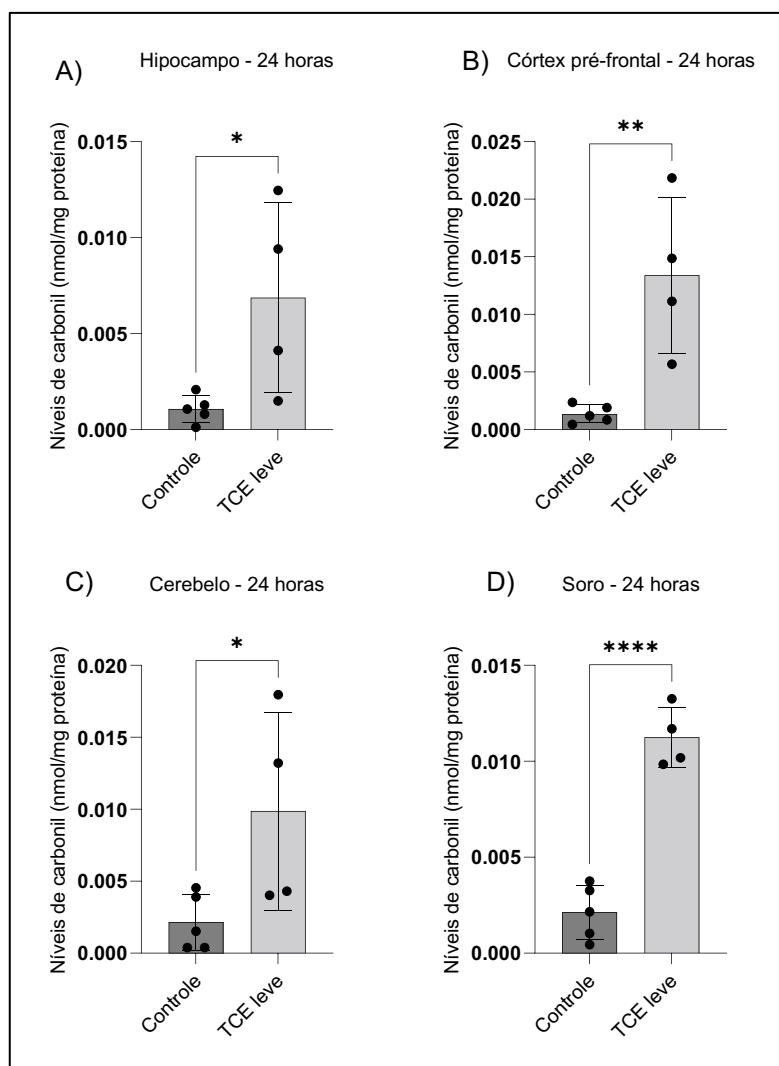


Figura 11. Níveis de carbonil em 24 horas no hipocampo, córtex cerebral, cerebelo e sangue de ratos Wistar induzidos ao modelo de TCE leve. As barras representam a média $\pm$ desvio-padrão ($n = 4$ por grupo). Os dados foram relatados como média $\pm$ EPM, de 4 animais por grupo e as comparações utilizando teste *t* de Student, * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ e **** $p < 0,0001$ indicam diferença estatisticamente significativa quando comparado entre os grupos. Fonte: Do autor, 2025.

A fluorescência de DCF-DA é um marcador direto da produção intracelular de radicais livres. A figura 12 mostra elevação significativa em 24 horas no hipocampo (Figura 12A; $p < 0,05$) e no cerebelo (Figura 12C; $p < 0,01$), enquanto o córtex frontal (Figura 12B) e o soro (Figura 12D) não apresentaram diferenças nas comparações entre os grupos.

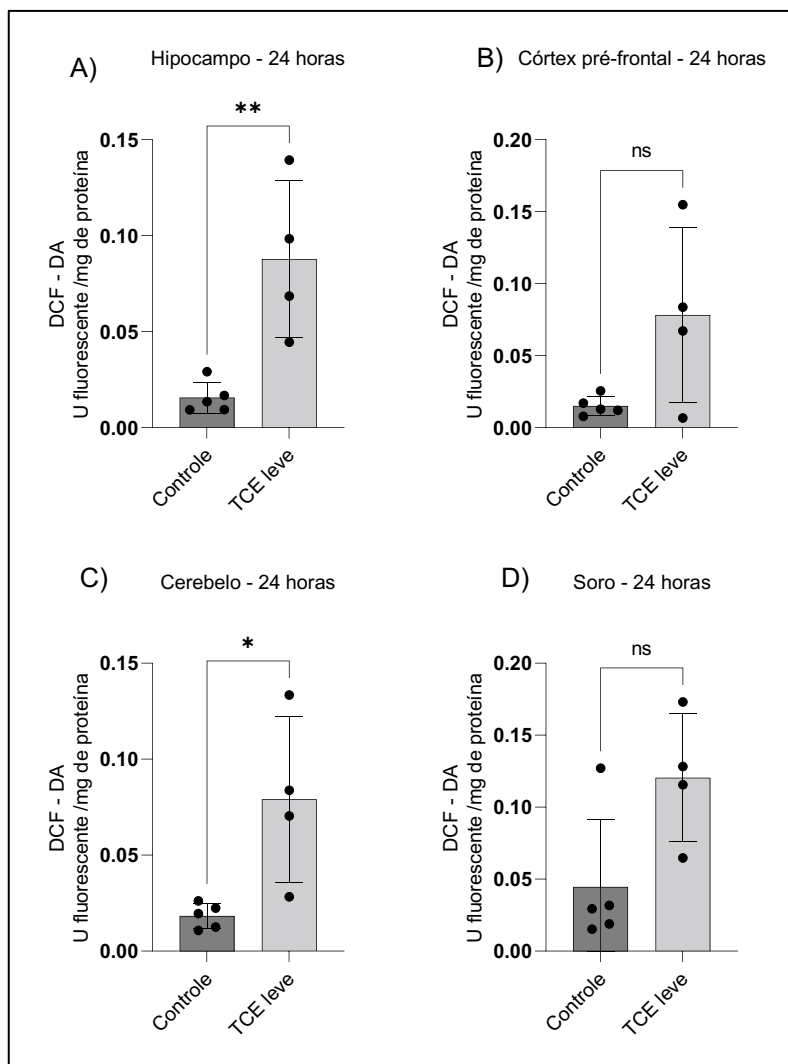


Figura 12. Níveis de DCF em 24 horas no hipocampo, córtex cerebral, cerebelo e sangue de ratos Wistar induzidos ao modelo de TCE leve. As barras representam a média $\pm$ desvio-padrão ($n = 4$ por grupo). Os dados foram relatados como média $\pm$ EPM, de 4 animais por grupo e as comparações utilizando teste *t* de Student, * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ e **** $p < 0,0001$ indicam diferença estatisticamente significativa quando comparado entre os grupos. Fonte: Do autor, 2025.

Na avaliação dos níveis de MDA em 10 dias após o modelo experimental verificou-se a manutenção de níveis elevados no hipocampo (Figura 13A; $p < 0,01$), no cerebelo (Figura 13C; $p < 0,05$) e no soro (Figura 13D; $p < 0,001$) dos animais do grupo TCE quando comparado ao grupo controle, enquanto no córtex frontal (Figura 13B) não houve diferença significativa na comparação entre os grupos.

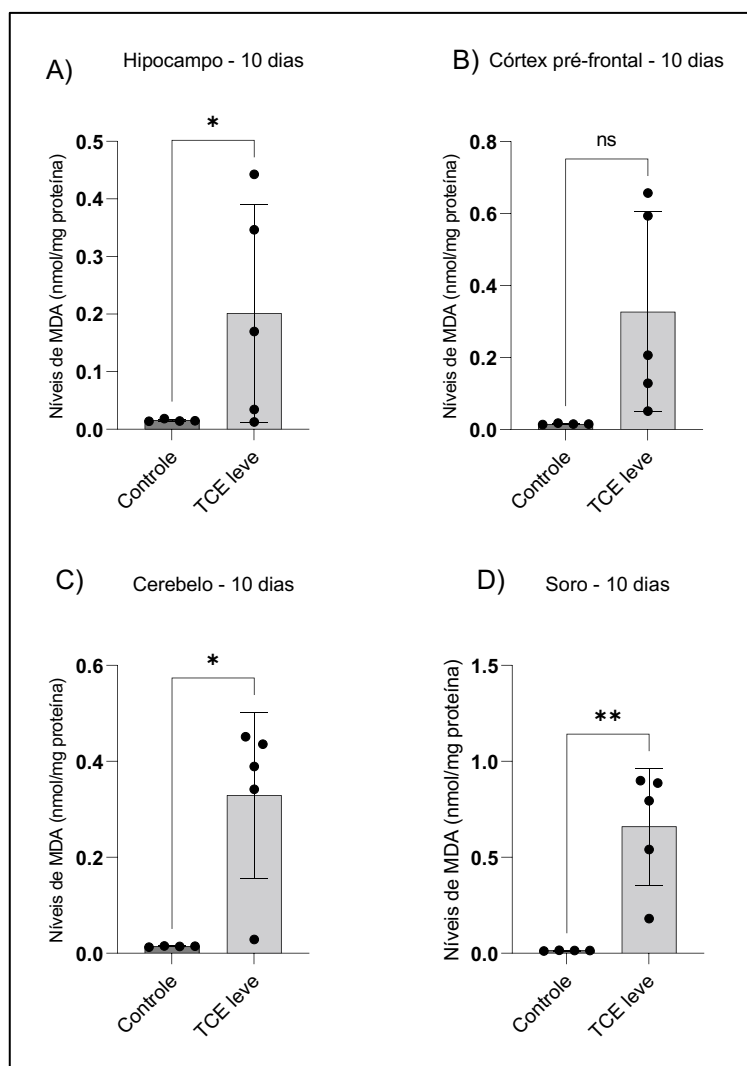


Figura 13. Concentração de TBA em 10 dias no hipocampo, córtex cerebral, cerebelo e sangue de ratos Wistar induzidos ao modelo de TCE leve. As barras representam a média $\pm$ desvio-padrão ($n = 4$ por grupo). Os dados foram relatados como média $\pm$ EPM, de 4 animais por grupo e as comparações utilizando teste *t* de Student, * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ e **** $p < 0,0001$ indicam diferença estatisticamente significativa quando comparado entre os grupos. Fonte: Do autor, 2025.

A figura 14 representa os níveis de carbonil após 10 dias da indução do modelo experimental. Houve elevação significativa no grupo TCE leve quando comparado ao grupo controle, em todas as regiões analisadas, hipocampo (Figura 14A; $p < 0,001$), córtex frontal (Figura 14B; $p < 0,05$), cerebelo (Figura 14C; $p < 0,01$) e soro (Figura 14D; $p < 0,0001$).

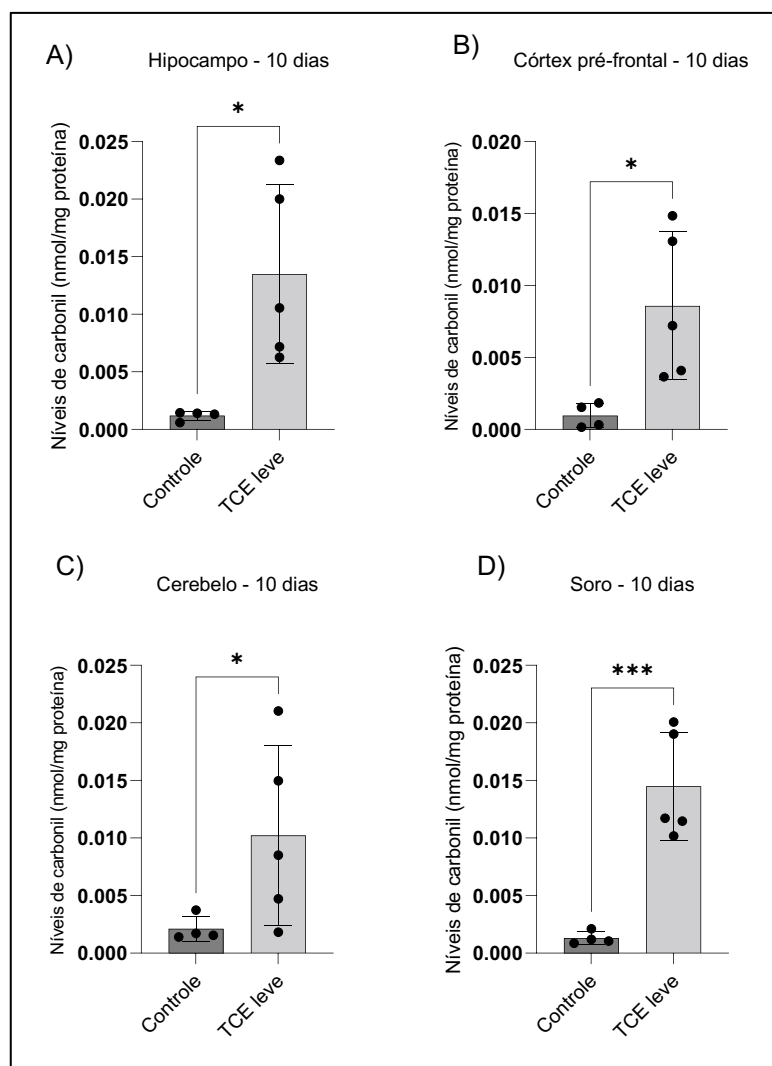


Figura 14. Níveis de carbonil em 10 dias no hipocampo, córtex cerebral, cerebelo e sangue de ratos Wistar induzidos ao modelo de TCE leve. As barras representam a média $\pm$ desvio-padrão ($n = 4$ por grupo). Os dados foram relatados como média $\pm$ EPM, de 4 animais por grupo e as comparações utilizando teste t de Student, $*p < 0,05$, $**p < 0,01$, $***p < 0,001$ e $****p < 0,0001$ indicam diferença estatisticamente significativa quando comparado entre os grupos. Fonte: Do autor, 2025.

Na análise da fluorescência de DCF-DA 10 dias após a indução do modelo experimental demonstrou-se aumento significativo em todas as regiões analisadas, hipocampo (Figura 15A; $***p < 0,001$), córtex frontal (Figura 15B; $*p < 0,05$), cerebelo (Figura 15C; $**p < 0,01$) e soro (Figura 15D; $****p < 0,0001$), quando comparado o grupo TCE leve ao grupo controle. Esse padrão difere de 24 horas quando o aumento estava restrito a hipocampo e cerebelo, mostrando que a produção de radicais livres deixa de ser localizada e passa a ser global.

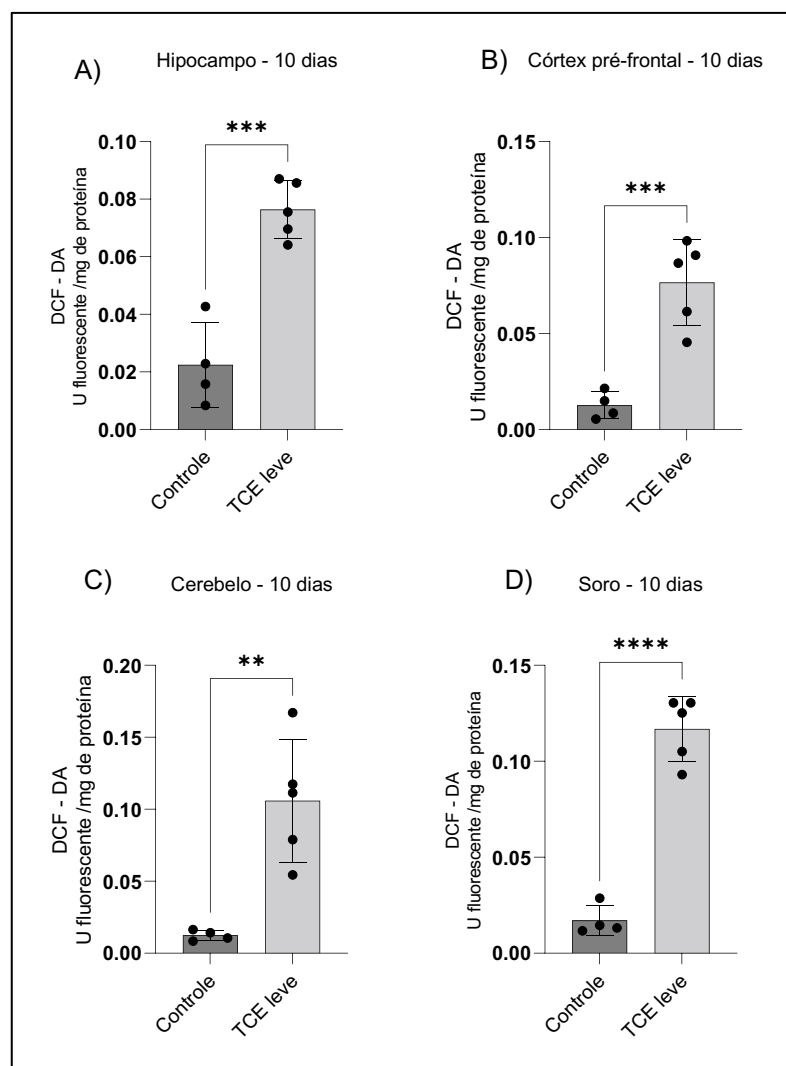


Figura 15. Níveis de DCF em 10 dias no hipocampo, córtex cerebral, cerebelo e sangue de ratos Wistar induzidos ao modelo de TCE leve. As barras representam a média $\pm$ desvio-padrão ($n = 4$ por grupo). Os dados foram relatados como média $\pm$ EPM, de 4 animais por grupo e as comparações utilizando teste *t* de Student, * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ e **** $p < 0,0001$ indicam diferença estatisticamente significativa quando comparado entre os grupos. Fonte: Do autor, 2025.

A figura 16 apresenta a ativação do SG em 24 horas após a indução do modelo experimental. No grupo TCE os níveis de EBA no cérebro foram significativamente maiores do que aqueles observados no grupo controle (16A). Sendo assim, houve uma diminuição nos níveis de EBA no soro em comparação com o grupo controle, demonstrando que os animais apresentaram comprometimento do sistema glinfático (Figura 16B). Em 10 dias após a indução do modelo não houve diferença estatística entre os grupos analisados nem no cérebro e nem no soro (Figura 16C e 16D).

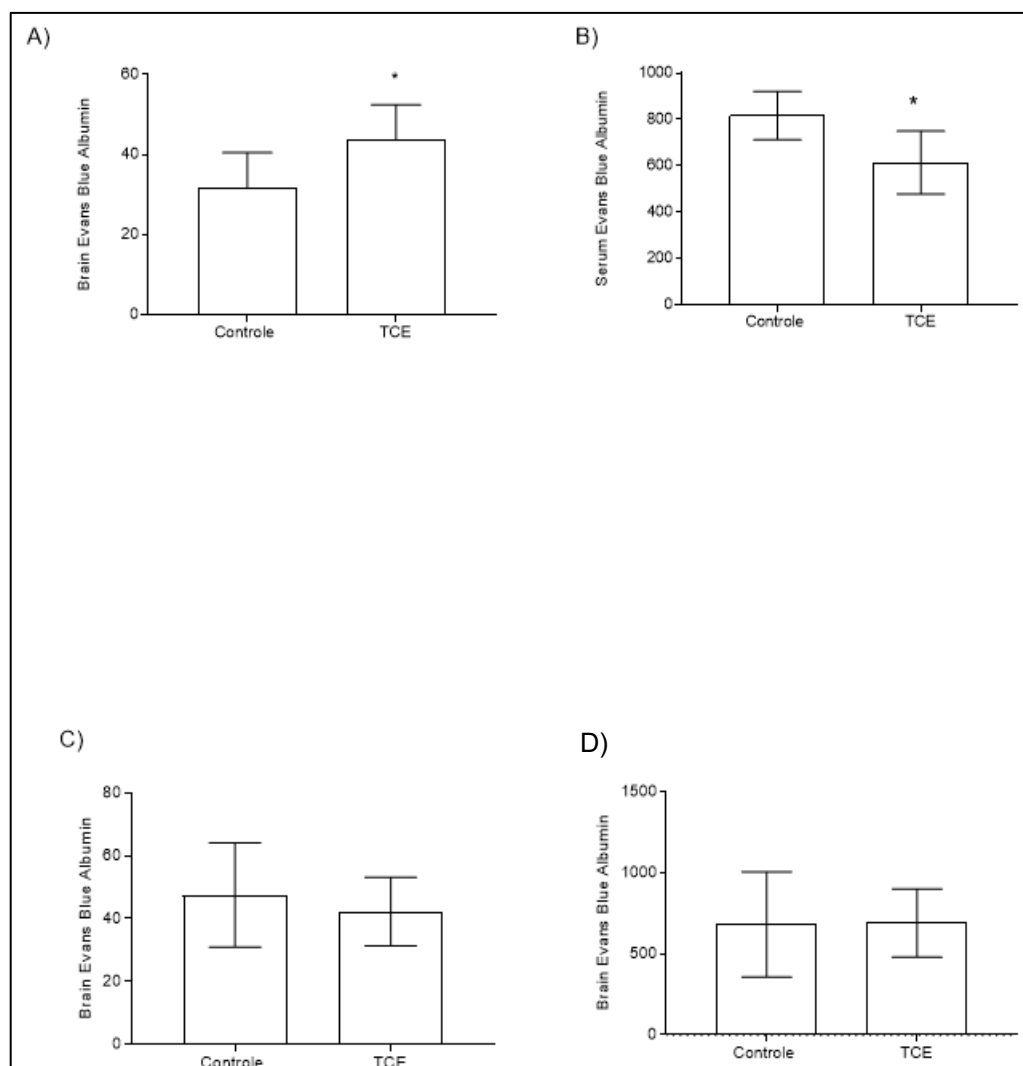


Figura 16. Quantificação de EBA em 24h e em 10 dias após a indução do TCE leve. As barras representam a média $\pm$ desvio-padrão ($n = 4$ por grupo). Os dados foram relatados como média $\pm$ desvio padrão, de 5 animais por grupo e as comparações utilizando teste *t* de Student, * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ e **** $p < 0,0001$ indicam diferença estatisticamente significativa quando comparado entre os grupos. Fonte: Do autor, 2025.

5. DISCUSSÃO

A elevação precoce das citocinas TNF- α , IL-1 β e IL-6, observada neste trabalho nas primeiras horas após o TCE leve, reflete a rápida ativação da micróglia e dos astrócitos, células centrais na resposta imune do SNC. Embora essa ativação tenha, inicialmente, um papel protetor, a sua manutenção prolongada acaba por favorecer o desequilíbrio oxidativo, ampliando a produção de radicais livres e comprometendo os mecanismos naturais de reparo celular.

Após o TCE, a ativação de micróglia e astrócitos induz a liberação de mediadores pró-inflamatórios, como IL-1 β , IL-6 e TNF- α , que, por sua vez, estimulam enzimas produtoras de radicais livres, incluindo NADPH oxidase e óxido nítrico sintase induzível (iNOS), promovendo a peroxidação lipídica, a oxidação proteica e o dano mitocondrial (Loane; Kumar, 2016; Hall *et al.*, 2017). Esse acúmulo de radicais livres compromete a integridade neuronal e aumenta a permeabilidade da BHE, permitindo o extravasamento de citocinas e produtos oxidativos para a circulação periférica (Chen *et al.*, 2024; Zhao *et al.*, 2025).

A perpetuação dessa resposta redox-inflamatória leva à manutenção de um estado de neuroinflamação crônica, no qual a ativação glial sustentada e o desequilíbrio entre mecanismos pró e antioxidantes perpetuam a degeneração neuronal e a disfunção sináptica (Dash *et al.*, 2025). Assim, o estresse oxidativo não apenas atua como um subproduto da inflamação, mas também como um amplificador do dano secundário, agravando os desfechos neurológicos pós TCE (Moldogazieva; Lobanova; Popov, 2018).

Modelos experimentais em roedores com trauma por impacto fechado (*weight-drop models*) descrevem fenômeno semelhante, com elevação rápida de IL-1 β em áreas ligadas à memória e coordenação motora (Luo *et al.*, 2013; Baratz *et al.*, 2015). Esse comportamento parece estar relacionado à reatividade microglial inicial, considerada o principal gatilho para a liberação de mediadores pró-inflamatórios no parênquima. No presente estudo, esse mecanismo pode explicar a vulnerabilidade do hipocampo, estrutura especialmente sensível ao estresse oxidativo e à modulação sináptica inflamatória. A ativação microglial e o estresse oxidativo subsequente após TCE leve foram amplamente descritos em modelos murinos recentes (Morganti *et al.*, 2023). Evidenciou-se que neste estudo os níveis de TNF- α em 24 horas estiveram elevados no hipocampo, córtex frontal, cerebelo e

soro periférico. O TNF- α é uma citocina central na modulação da inflamação e exerce efeitos tanto neurotóxicos quanto neuroprotetores, dependendo da duração e intensidade da resposta (Smith; Iliff, 2022; Morganti; Rizzi, 2023). A manutenção de sua elevação por dez dias sugere falha nos mecanismos regulatórios anti-inflamatórios, como a via IL-10/STAT3, o que perpetua o recrutamento microglial e a produção de EROs (Dash *et al.*, 2025; Zhao *et al.*, 2025).

O aumento de IL-1 β em 24 horas também foi observado em hipocampo, córtex frontal, cerebelo neste estudo. Já ausência de aumento sérico de IL-1 β nas primeiras 24 horas, observada também em estudos clínicos de concussão, sugere que a resposta permanece compartimentalizada ao SNC (Sun *et al.*, 2019; Edwards *et al.*, 2020). Em conjunto, os resultados indicam que a IL-1 β atua como marcador inicial de neuroinflamação regionalizada, sendo compatível com achados experimentais e translacionais recentes (Dash *et al.*, 2025).

Neste estudo a IL-6 elevou-se no hipocampo, córtex frontal e cerebelo em 24 horas, o que é coerente com o pico cerebral descrito para as primeiras 6 a 24 horas em modelos de TCE leve (Chen *et al.*, 2024; Wang *et al.*, 2023; Morganti; Rizzi, 2023).

Esse comportamento, que acompanha o padrão da IL-1 β , sugere uma amplificação coordenada da resposta inflamatória central. A coexpressão precoce de IL-1 β e IL-6 após o TCE já foi descrita em humanos por microdiálise cerebral, com IL-1 β surgindo primeiro e estimulando a produção de IL-6 pelas células gliais, caracterizando um eixo inflamatório em cascata nas primeiras 24 horas (Folkersma *et al.*, 2008). Achados experimentais mostram que essa resposta é potencializada pela ativação do inflamassoma NLRP3, que promove maturação de IL-1 β e, paralelamente, contribui para a disfunção da BHE, favorecendo a amplificação da neuroinflamação (Irrera *et al.*, 2020; Lee *et al.*, 2025).

Neste estudo observou-se elevação dos níveis de IL-6 em 24 horas, tanto no tecido cerebral quanto no soro, indicando o início precoce da comunicação neuroimune, ainda com predomínio central. Nesse contexto, os níveis séricos de IL-6 tendem a alcançar o pico entre 48 e 72 horas após o TCE, embora o aumento inicial ocorra nas primeiras 24 horas. Essa sequência temporal sugere uma transição gradual da resposta inflamatória local para uma resposta sistêmica, relacionada ao aumento da permeabilidade da BHE. Dessa forma, a IL-6 configura-se como um

biomarcador subagudo da neuroinflamação e um potencial alvo terapêutico nas fases intermediárias do TCE (Mendoza *et al.*, 2020).

A literatura descreve a IL-6 como uma citocina de dupla função, capaz de exercer papéis pró-inflamatórios nos estágios iniciais e reparadores nas fases subagudas (Morganti; Rizzi, 2023). Em modelos experimentais de TCE leve, seu pico cerebral costuma ocorrer entre 6 e 24 horas após a lesão, permanecendo elevado até 72 horas, sobretudo em regiões límbicas e corticais (Chen *et al.*, 2024; Wang *et al.*, 2023). Essa cinética se alinha aos dados observados no presente estudo, nos quais a elevação de IL-6 foi precoce e concentrada no tecido cerebral.

No hipocampo, a IL-6 parece atuar na regulação da plasticidade e da consolidação de memória; no córtex frontal, pode estar relacionada à modulação executiva e comportamental; e no cerebelo, à coordenação motora e integração sensório-motora (Smith; Iliff, 2022; Dash *et al.*, 2025). Essa distribuição anatômica sugere que a neuroinflamação após TCE leve é mais ampla do que se reconhecia, alcançando circuitos cognitivos e motores interconectados.

A ausência de resposta sérica neste momento indica que a IL-6 periférica é um marcador tardio, como também relatado em estudos clínicos de concussão, nos quais seu aumento plasmático costuma ocorrer entre 48 e 72 horas (Visser *et al.*, 2022; Edwards *et al.*, 2020). Evidências experimentais recentes também reforçam o papel da IL-6 na transição entre inflamação aguda e reparo axonal, integrando processos de neuroplasticidade e recuperação tecidual (Morganti *et al.*, 2023). Em síntese, os achados apontam que a IL-6 atua como elo entre a fase inflamatória inicial e o início da regeneração neuronal, o que a torna um possível alvo de intervenção terapêutica precoce no TCE leve.

Entre as citocinas avaliadas, a IL-10 apresentou um comportamento singular: apenas o hipocampo mostrou aumento significativo, enquanto o córtex frontal, o cerebelo e o soro permaneceram sem alterações detectáveis. A presença de IL-10 no hipocampo após o TCE leve sugere sua participação na tentativa do cérebro de contrabalançar o dano inflamatório e facilitar o processo de recuperação tecidual. Essa resposta integra um padrão mais amplo de alterações nas citocinas após o TCE, envolvendo mediadores tanto pró-inflamatórios quanto anti-inflamatórios, que juntos determinam o equilíbrio entre lesão e reparo neural (Ggu *et al.*, 2022; Shanaki-Bavarsad *et al.*, 2022).

Estudos experimentais demonstram que a produção de IL-10 é uma resposta endógena regulatória da micróglia, ativada logo após o início da neuroinflamação (Knobloch; Faden, 1998; Uhde *et al.*, 2018). No hipocampo, essa citocina desempenha papel essencial na contenção da liberação de IL-1 β e TNF- α , na redução do estresse oxidativo e na preservação da viabilidade neuronal (Garcia *et al.*, 2017). Essa característica pode explicar por que a elevação se limita ao hipocampo, uma região particularmente vulnerável a desequilíbrios inflamatórios e oxidativos. Além disso, estudos recentes confirmam que a IL-10 modula a ativação microglial, reduzindo a secreção de citocinas pró-inflamatórias e promovendo um fenótipo anti-inflamatório associado à neuroproteção (Nelson *et al.*, 2024).

A ausência de aumento nas demais regiões sugere que a resposta anti-inflamatória não ocorre de maneira uniforme no encéfalo nas fases iniciais. Essa heterogeneidade provavelmente reflete diferenças na sensibilidade celular e na demanda metabólica de cada área, considerando que regiões como o hipocampo, o córtex pré-frontal e a amígdala são particularmente vulneráveis à neuroinflamação e ao estresse oxidativo, o que contribui para déficits cognitivos decorrentes do processo inflamatório (Tan *et al.*, 2020; Blossom *et al.*, 2025). Também é possível que, em 24 horas, a resposta de IL-10 ainda esteja restrita a focos de inflamação mais intensos, expandindo-se apenas em fases posteriores, conforme relatado em estudos clínicos e experimentais (Visser *et al.*, 2022).

O aumento isolado de IL-10 no hipocampo parece representar um mecanismo compensatório precoce de proteção neuronal. Trabalhos recentes associam esse aumento à ativação da via IL-10/STAT3, responsável por regular a polarização microglial para um fenótipo reparador (Zhao *et al.*, 2025; Gu *et al.*, 2022). Além disso, pesquisas contemporâneas apontam que a modulação farmacológica dessa via pode reduzir o dano neuronal e favorecer a recuperação funcional em modelos de TCE (Shanaki-Bavarsad *et al.*, 2022). Em conjunto, esses achados indicam que a IL-10 exerce papel crucial no equilíbrio entre inflamação e reparo, sendo uma das principais mediadoras de neuroproteção após TCE leve.

Dez dias após o TCE leve, os níveis de TNF- α permaneceram elevados no hipocampo, córtex frontal, cerebelo e soro, indicando uma neuroinflamação persistente com possível repercussão sistêmica. Embora os níveis cerebrais possam reduzir com o tempo, os níveis séricos tendem a permanecer altos por semanas a meses, o que contribui para a manutenção da inflamação e pode estar associado a

déficits cognitivos e piora da recuperação (Qiu; Liu; Wang, [s.d.]; Xu *et al.*, [s.d.]; *Inflammatory Biomarkers in mTBI*, 2023).

O aumento significativo no soro demonstra a expansão da resposta inflamatória para a periferia, indicando que o TCE leve é capaz de induzir uma inflamação sistêmica de baixo grau. Esse padrão é corroborado por estudos clínicos, nos quais níveis séricos de TNF- α permanecem elevados por até duas semanas em pacientes com concussão, correlacionando-se com fadiga, cefaleia e déficit cognitivo (Visser *et al.*, 2022; Edwards *et al.*, 2020).

Esse nível elevado de TNF- α está associado ao desenvolvimento de neuroinflamação crônica, que se manifesta por alterações comportamentais. A neuroinflamação persistente observada no 30º dia após a lesão sugere que o TNF- α desempenha um papel crucial na progressão da neuropatologia subsequente ao TCE (Филатенкова *et al.*, 2024).

A elevação periférica da IL-1 β observada aos 10 dias é particularmente relevante, pois indica comprometimento da BHE. A permeabilidade aumentada permite a difusão de mediadores inflamatórios do SNC para o sangue, ampliando o impacto sistêmico do trauma (Uhde *et al.*, 2018). Em humanos, níveis séricos elevados de IL-1 β após concussão correlacionam-se com lentificação cognitiva e sintomas persistentes (Edwards *et al.*, 2020; Visser *et al.*, 2022).

A elevação sustentada de IL-1 β após 10 dias de TCE leve, com destaque para o aumento expressivo no soro, reforça a hipótese de que a resposta inflamatória inicialmente restrita ao SNC se expande para a circulação periférica, caracterizando a transição de um processo local para um estado inflamatório sistêmico (Ponomarenko *et al.*, 2021). Essa expansão inflamatória está associada ao comprometimento da BHE, cuja permeabilidade aumentada permite a difusão de mediadores inflamatórios do SNC para o sangue, intensificando o impacto sistêmico do trauma (Uhde *et al.*, 2018). Tais achados são consistentes com evidências clínicas que demonstram níveis séricos elevados de IL-1 β após concussão, correlacionados a déficits cognitivos subagudos e crônicos observados em pacientes com TCE, sugerindo que a neuroinflamação persistente exerce papel central nas disfunções cognitivas pós-traumáticas (Edwards *et al.*, 2020; Visser *et al.*, 2022; Xu *et al.*, [s.d.]; Malik *et al.*, 2023).

A persistência da IL-1 β no hipocampo e no córtex frontal indica que a resolução inflamatória local é ineficiente, prolongando o estado pró-oxidativo e a

ativação glial. Esse achado é coerente com estudos que demonstram neuroinflamação e estresse oxidativo persistentes como mecanismos centrais da disfunção neural crônica após o TCE, caracterizados por expressão aumentada de IL-1 β e TNF- α , bem como ativação sustentada de micróglia e astrócitos reativos (Drieu *et al.*, 2022; Chen *et al.*, 2023). Assim, o padrão observado reforça o papel da IL-1 β como marcador de cronicidade inflamatória, cuja permanência reflete falhas nos mecanismos regulatórios anti-inflamatórios e contribui para déficits cognitivos e comportamentais de longo prazo.

Os achados do presente estudo reforçam o entendimento de que a IL-6 exerce um papel central e multifacetado na resposta inflamatória e nos processos de reparo que ocorrem após o TCE, mesmo em sua forma leve. Diversos estudos demonstram que a IL-6 atua tanto como mediadora pró-inflamatória quanto como agente neuroprotetor, dependendo do contexto e do momento pós-lesão (Sanchis *et al.*, 2020; Yang *et al.*, 2013; Ooi *et al.*, 2022; Gober *et al.*, 2024; Kostyunina *et al.*, 2024).

Durante a fase aguda e subaguda do TCE, a IL-6 é essencial para a ativação da micróglia e dos astrócitos, células-chave na resposta inflamatória do SNC. Em modelos experimentais com camundongos deficientes em IL-6, observou-se redução significativa da ativação glial e comprometimento da resposta inflamatória, indicando o papel crucial dessa citocina na promoção da neuroinflamação e no recrutamento celular (Sanchis *et al.*, 2020; Kostyunina *et al.*, 2024).

Níveis persistentemente elevados de IL-6 também estão associados à neuroinflamação prolongada e a piores desfechos funcionais após o TCE. Contudo, há evidências de que essa mesma citocina desempenha um papel importante na neurogênese e na cicatrização tecidual, reforçando seu caráter dual — simultaneamente inflamatório e reparador — o que depende do equilíbrio entre a intensidade da inflamação e os mecanismos regenerativos ativados (Sanchis *et al.*, 2020; Ooi *et al.*, 2022; Gober *et al.*, 2024).

Outro aspecto relevante é sua relação com a BHE. Embora a IL-6 possa contribuir para a disfunção da BHE, favorecendo o edema cerebral e a infiltração de células inflamatórias, há evidências de que também participe da restauração da integridade endotelial e da reparação tecidual subsequente, reforçando sua natureza complexa e multifuncional (Kostyunina *et al.*, 2024).

Mesmo 10 dias após a lesão, a IL-6 continua sendo detectável em níveis elevados, o que indica uma neuroinflamação subaguda persistente associada a déficits cognitivos e motores. Estudos em modelos murinos demonstram que a deficiência de IL-6 pode alterar o comportamento exploratório e aumentar os níveis de ansiedade, evidenciando que essa citocina influencia não apenas a inflamação, mas também os desfechos comportamentais e neurofuncionais após o TCE (Sanchis *et al.*, 2020; Gober *et al.*, 2024).

O malondialdeído (MDA) é um dos principais marcadores de peroxidação lipídica, refletindo a degradação de membranas celulares pela ação de EROs. A análise dos resultados revelou aumento significativo de MDA em todas as regiões avaliadas hipocampo, córtex frontal, cerebelo e soro já nas primeiras 24 horas após o TCE leve. O aumento de MDA em 24 horas após o TCE indica um dano oxidativo precoce, com sinal detectável tanto no SNC quanto no soro, sugerindo que a peroxidação lipídica constitui um dos eventos iniciais da cascata pós-traumática. Esse achado é compatível com o modelo de resposta oxidativa aguda, no qual a ativação microglial e a produção de EROs ocorrem rapidamente, resultando em disfunção mitocondrial e comprometimento parcial da BHE (Rana *et al.*, 2020; Knopp *et al.*, 2020).

Com a progressão para 10 dias pós-lesão, observa-se a manutenção da elevação do MDA e de marcadores inflamatórios como IL-6, tanto em regiões encefálicas como hipocampo e cerebelo quanto no soro, evidenciando uma resposta subaguda persistente que se estende do SNC à circulação periférica. Esse padrão caracteriza a transição de uma fase inflamatória local para uma inflamação sistêmica, sustentada pelo “ciclo inflam-oxidativo”, no qual o estresse oxidativo e a inflamação se retroalimentam, perpetuando o dano tecidual e comprometendo os mecanismos de reparo neural (Bielanin *et al.*, 2024; Rehman *et al.*, 2025; Darmanto *et al.*, 2024; Guo *et al.*, 2024).

Assim, os resultados indicam que mesmo o TCE leve desencadeia efeitos neuroinflamatórios e oxidativos de alcance sistêmico, sustentando a hipótese de uma comunicação neuroimune ativa entre o SNC e o compartimento periférico. O MDA, nesse contexto, consolida-se como um biomarcador sensível tanto do dano oxidativo precoce quanto da progressão inflamatória subaguda (Adamovych; Kostenko, 2025; Rana *et al.*, 2020).

As proteínas carboniladas representam um dos principais marcadores de dano oxidativo proteico, resultante da modificação estrutural de proteínas pela ação de EROs. Observou-se aumento significativo desse marcador em todas as estruturas analisadas 24 horas após o TCE leve, quando comparado ao grupo controle. Esse achado demonstra que o dano oxidativo não se limita aos lipídios, mas também compromete proteínas estruturais e enzimáticas. Estudos prévios demonstram que a oxidação proteica está relacionada à perda de função de enzimas antioxidantes, como a superóxido dismutase (SOD) e a catalase, perpetuando o estresse oxidativo (Dash *et al.*, 2025; Zhao *et al.*, 2025).

A presença de níveis elevados de proteínas carboniladas no soro indica transbordamento de metabólitos oxidativos para a periferia, o que pode contribuir para alterações inflamatórias e metabólicas sistêmicas, conforme demonstrado por (Visser *et al.*, 2022) em pacientes com concussão.

Dez dias após a indução do modelo experimental, verificou-se elevação significativa de proteínas carboniladas em todas as regiões analisadas (hipocampo, córtex pré-frontal, cerebelo e soro). O aumento tardio sugere que o dano oxidativo persiste durante a fase subaguda, acompanhando a inflamação prolongada mediada por IL-1 β , IL-6 e TNF- α . Essa manutenção indica que o estresse oxidativo é crônico e desempenha papel ativo na neurodegeneração progressiva (Chen *et al.*, 2024; Dash *et al.*, 2025).

A elevação persistente de proteínas carboniladas no soro após o TCE indica que o dano oxidativo cerebral ultrapassa os limites do SNC, promovendo alterações metabólicas sistêmicas sustentadas. Esse fenômeno reflete a liberação contínua de produtos de oxidação proteica e lipídica neuronais para a circulação, favorecida pela disfunção mitocondrial e aumento da permeabilidade da BHE (Darmanto *et al.*, 2024; Rana *et al.*, 2020).

A persistência desses biomarcadores oxidativos por até 10 dias reforça a interação entre estresse oxidativo e inflamação, configurando um eixo inflam-oxidativo crônico que amplifica a vulnerabilidade neuronal e compromete a plasticidade sináptica. Estudos experimentais demonstram que esse estado redox desequilibrado está associado à redução de proteínas antioxidantes, à acumulação de produtos carbonilados e ao declínio cognitivo progressivo em modelos murinos e em pacientes com TCE leve repetitivo (Bielanin *et al.*, 2024; Knopp *et al.*, 2020; Guo *et al.*, 2024).

A fluorescência de DCF-DA (2',7'-diclorofluoresceína diacetato) é um marcador direto da produção intracelular de radicais livres, permitindo a quantificação global do estresse oxidativo. Nas primeiras 24 horas após o TCE leve, observou-se elevação significativa nos níveis de DCF-DA no hipocampo e no cerebelo, enquanto o córtex frontal e o soro não apresentaram alterações relevantes. Esses achados indicam que o aumento na produção de EROs é inicialmente regional e localizado, afetando estruturas mais vulneráveis ao desequilíbrio redox, como o hipocampo e o cerebelo. Ambos apresentam elevada densidade mitocondrial e alta demanda energética, tornando-os mais suscetíveis ao estresse oxidativo (Dash *et al.*, 2025; Chen *et al.*, 2024). O comportamento observado é compatível com a ativação precoce da micróglia e o acúmulo de cálcio intracelular descritos em modelos de TCE leve. A ausência de alteração no córtex e no soro reforça que a produção de radicais livres ainda está confinada ao ambiente neural, sem transbordamento sistêmico (Smith; Iliff, 2022).

Aos 10 dias, a positividade difusa de DCF-DA no SNC e no soro confirma a generalização do estresse oxidativo e sustenta a passagem do sinal neuroimune para a periferia. Esse padrão difere do observado em 24 horas, quando o aumento era restrito ao hipocampo e cerebelo, evidenciando que o estresse oxidativo evolui de forma localizada para difusa ao longo do tempo. Essa generalização indica que a produção de radicais livres se torna sustentada e sistêmica, consolidando o papel do estresse oxidativo como um dos principais mecanismos de lesão secundária no TCE leve (Dash *et al.*, 2025; Zhao *et al.*, 2025).

O aumento observado no soro sugere que o desequilíbrio redox ultrapassa as barreiras encefálicas, repercutindo em tecidos periféricos. Estudos demonstram que, após TCE, há ativação de vias inflamatórias sistêmicas, com liberação de EROs e citocinas que retroalimentam o processo central (Visser *et al.*, 2022; Morganti; Rizzi, 2023).

Verificou-se ainda no presente estudo que o TCE experimental leve, em sua apresentação aguda de 24 horas causou alteração do SG, passível de visualização por meio da retenção de EBA no parênquima cerebral. Esses dados condizem com os mesmos dados encontrados por Li e colegas em 2020, que por meio de imagens de ressonância magnética com contraste evidenciaram alterações no influxo e efluxo do SG pós-TCE leve em um período de até 6 horas (Li *et al.*, 2020). Outros estudos com modelos de TCE moderados, verificaram

comprometimento do influxo de LCR com início em 2 horas após o trauma, atingindo o pico 7 dias após a lesão, e permanecendo significativamente prejudicado mesmo 28 dias após o TCE, demonstrando que o grau de lesão pode influenciar no dano do SG (Iliff *et al.*, 2014; Bolte *et al.*, 2020).

Apesar do resultado no protocolo de 24 horas, não houve manutenção das alterações de EBA na avaliação após 10 dias no grupo TCE, que apresentou valores de EBA em soro periférico semelhantes aos do grupo controle. Esse fato se assemelha ao que foi relatado por Ren e colaboradores (2013), ao utilizarem como parâmetro para análise do SG a distribuição dos canais perivascularares de proteína AQP4, que, após o TCE, sofreram readequação dentro de duas semanas.

Esses achados reforçam a hipótese de que o TCE leve, mesmo sem lesão macroscópica, induz uma neuroinflamação crônica acompanhada de estresse oxidativo progressivo, cuja persistência pode estar associada à disfunção cognitiva e metabólica de longo prazo.

6. CONCLUSÃO

Os achados deste trabalho mostram que o TCE leve não é um evento simples, tampouco sem repercussões duradouras. Mesmo nas formas consideradas brandas, o cérebro reage de maneira intensa, desencadeando uma série de processos inflamatórios e oxidativos que se entrelaçam e podem influenciar de forma significativa a recuperação neurológica. Além disso o comprometimento do SG tem um papel relevante no episódio traumático, gerando consequências agudas importantes.

Esses fenômenos ajudam a explicar por que muitos pacientes com TCE leve desenvolvem alterações cognitivas e emocionais persistentes, mesmo sem evidências de lesões estruturais em exames de imagem. O cérebro, ao tentar se defender, acaba criando um ambiente em que a inflamação e o estresse oxidativo se alimentam mutuamente, tornando o processo de recuperação mais complexo do que se supunha.

Assim, este estudo reforça a importância de reconhecer precocemente os marcadores inflamatórios e oxidativos e de compreender suas interações. Esse conhecimento pode contribuir para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas mais precisas e neuroprotetoras, capazes de reduzir o dano secundário e preservar as funções cognitivas.

Mais do que identificar substâncias e reações, esta pesquisa pretende chamar atenção para o fato de que o TCE leve deve ser encarado como uma condição dinâmica, merecedora de cuidado contínuo, multifatorial e entender essa complexidade é o primeiro passo para que se possa tratar não apenas a lesão, mas o indivíduo em sua totalidade.

REFERÊNCIAS

- ADAMOVYCH, O.; KOSTENKO, S. Oxidative stress and inflammatory crosstalk in mild traumatic brain injury: experimental and therapeutic insights. ***Redox Biology***, v. 75, p. 103456, 2025.
- AEBI, H. Catalase in vitro. ***Methods in Enzymology***, v. 105, p. 121–126, 1984.
- BIELANIN, J. P. *et al.*, NHE1 Protein in Repetitive Mild TBI-Mediated Neuroinflammation and Neurological Function Impairment. ***Antioxidants***, v. 13, n. 7, p. 836, 2024.
- BLENNOW, K.; HARDY, J.; ZETTERBERG, H. The neuropathology and neurobiology of traumatic brain injury. ***Neuron***, v. 76, n. 5, p. 886–899, 2012.
- BOLTE, A. C. *et al.*, (2020). Meningeal lymphatic dysfunction exacerbates traumatic brain injury pathogenesis. **Nat. Commun.** 11:4524. doi: 10.1038/s41467-020-18113-4
- BUTLER, A. A. *et al.*, Glymphatic dysfunction after traumatic brain injury is associated with neurodegeneration and cognitive decline. **Brain**, Oxford, v. 145, n. 7, p. 2616–2632, 2022. DOI: 10.1093/brain/awac048.
- BUTLER, A. A. *et al.*, Associations between glymphatic dysfunction, neurofilament light chain, and outcome following traumatic brain injury. **Brain Communications**, Oxford, v. 5, n. 2, fcad079, 2023. DOI: 10.1093/braincomms/fcad079.
- CHEN, G. *et al.*, Redox imbalance and neuroinflammation after traumatic brain injury: mechanisms and therapeutic perspectives. ***Frontiers in Cellular Neuroscience***, v. 18, p. 129, 2024.
- DARMANTO, W. *et al.*, Role of Rev-erba in regulating oxidative stress and neuroinflammation after traumatic brain injury. ***Free Radical Biology & Medicine***, v. 216, p. 73–85, 2024.
- DAS, M. *et al.*, Lateral fluid percussion injury of the brain induces CCL20 inflammatory chemokine expression in rats. ***Journal of Neuroinflammation***, v. 8, p. 148, 2011.

DASH, P. K. *et al.*, Oxidative stress and neuroinflammation in traumatic brain injury: from mechanisms to targeted therapy. ***Journal of Neuroinflammation***, v. 22, n. 1, p. 45–60, 2025.

DE LIMA, M. N. *et al.*, Reversal of age-related deficits in object recognition memory in rats with l-deprenyl. ***Experimental Gerontology***, v. 40, n. 6, p. 506–511, 2005.

DE OLIVEIRA, P. A. *et al.*, Moderate traumatic brain injury increases the vulnerability to neurotoxicity induced by systemic administration of 6-hydroxydopamine in mice. ***Brain Research***, v. 1663, p. 78–86, 2017.

DRAPER, H. H.; HADLEY, M. Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. ***Methods in Enzymology***, v. 186, p. 421–431, 1990.

EME, R. Neurobehavioral Outcomes of Mild Traumatic Brain Injury: A Mini Review. ***Brain Sciences***, v. 7, n. 5, 2017.

FERNANDES, L. A.; WATERS, C. Perfil sociodemográfico, clínico e fatores relacionados ao Traumatismo Cranioencefálico. ***Brazilian Journal of Health Review***, v. 5, n. 5, p. 20943–20962, 2022.

FERRARA, M. *et al.*, Glymphatic System a Window on TBI Pathophysiology: A Systematic Review. ***International Journal of Molecular Sciences***, v. 23, n. 16, 2022.

FESHARAKI-ZADEH, A. *et al.*, Oxidative stress in traumatic brain injury. ***Frontiers in Neuroscience***, v. 16, art. 812763, 2022.

GIRIDHARAN, V. V. *et al.*, Neuroinflammation trajectories precede cognitive impairment after experimental meningitis: evidence from an in vivo PET study. ***Journal of Neuroinflammation***, v. 17, n. 1, p. 5, 2020.

GOUVEIA-FREITAS, K.; BASTOS-LEITE, A. J. *Perivascular spaces and brain waste clearance systems: relevance for neurodegenerative and cerebrovascular pathology*. *Neuroradiology*, v. 63, p. 1581–1597, 2021.

GU, Y. *et al.*, Interleukin-10 deficiency aggravates traumatic brain injury in mice. ***Brain Research***, v. 1761, p. 147422, 2022.

GUO, L. *et al.*, Curcumin mitigates oxidative stress and neuroinflammation after traumatic brain injury by activating the Nrf2 signaling pathway. ***Frontiers in Neuroscience***, v. 18, 2024.

HABLITZ, L. M.; NEDERGAARD, M. The Glymphatic System: A Novel Component of Fundamental Neurobiology. ***Journal of Neuroscience***, v. 41, n. 37, p. 7698–7711, 2021.

HALL, E. D. *et al.*, Oxidative stress and secondary injury in traumatic brain injury: therapeutic targets and challenges. ***Journal of Neurotrauma***, v. 34, n. 10, p. 1369–1378, 2017.

HINZMAN, J. M. *et al.*, Excitotoxicity and Metabolic Crisis Are Associated with Spreading Depolarizations in Severe Traumatic Brain Injury Patients. ***Journal of Neurotrauma***, v. 33, n. 19, p. 1775–1783, 2016.

ILIFF, J. J. *et al.*, A paravascular pathway facilitates CSF flow through the brain parenchyma and the clearance of interstitial solutes, including amyloid β . **Science Translational Medicine**, Washington, v. 4, n. 147, p. 147ra111, 2012. DOI: 10.1126/scitranslmed.3003748.

ILIFF, J. J. *et al.*, Impairment of glymphatic pathway function promotes tau pathology after traumatic brain injury. **Journal of Neuroscience**, Washington, v. 34, n. 49, p. 16180–16193, 2014. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.3020-14.2014.

IRRERA, N. *et al.*, The role of NLRP3 inflammasome in the pathogenesis of traumatic brain injury. ***International Journal of Molecular Sciences***, v. 21, n. 16, 2020.

JHA, R. M.; KOCHANKEK, P. M.; SIMARD, J. M. Pathophysiology and treatment of cerebral edema in traumatic brain injury. ***Neuropharmacology***, v. 145, Pt B, p. 230–246, 2019.

JOHNSON, N. H. *et al.*, Inflammasome activation in traumatic brain injury and Alzheimer's disease. ***Translational Research***, v. 254, p. 1–12, 2023.

KADRY H, NOORANI B, CUCULLO L. A blood–brain barrier overview on structure, function, impairment, and biomarkers of integrity. **Fluids Barriers CNS** 2020;17(1); doi: 10.1186/s12987-020-00230-3

KRESS, B. T. *et al.*, Impairment of paravascular clearance pathways in the aging brain. **Annals of Neurology**, Hoboken, v. 76, n. 6, p. 845–861, 2014. DOI: 10.1002/ana.24271.

KNOPP, R. C. *et al.*, Interaction of oxidative stress and neurotrauma in ALDH2^{-/-} mice causes significant and persistent behavioral and pro-inflammatory effects. ***Redox Biology***, v. 32, p. 101486, 2020.

LEE, J. *et al.*, NLRP3 activation induces blood–brain barrier disruption and neutrophil infiltration after traumatic brain injury. ***Journal of Neuroinflammation***, 2025.

LEVIN, H. S.; KRAUS, M. F. The frontal lobes and traumatic brain injury. **Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry**, London, v. 91, n. 12, p. 1321–1330, 2020. DOI: 10.1136/jnnp-2019-321933.

Li L, Chopp M, Ding G, Davoodi-Bojd E, Zhang L, Li Q, *et al.*, MRI detection of impairment of glymphatic function in rat after mild traumatic brain injury. **Brain Res** [Internet]. 2020;1747(147062):147062. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0006899320304200>

LIU, X. *et al.*, Traumatic brain injury-induced inflammatory changes in the olfactory bulb and related brain regions. ***Journal of Neuroinflammation***, 2023.

LOANE, D. J.; KUMAR, A. Microglia in the TBI brain: The good, the bad, and the dysregulated. ***Experimental Neurology***, v. 275, p. 316–327, 2016.

MARMAROU, A. *et al.*, A new model of diffuse brain injury in rats. Part I: Pathophysiology and biomechanics. ***Journal of Neurosurgery***, v. 80, n. 2, p. 291–300, 1994.

MAVROUDIS, J. *et al.*, Systematic review and meta-analysis of the inflammatory response in mild traumatic brain injury. ***Frontiers in Immunology***, v. 15, 2024.

MIRA, J. C.; LIRA, A. *et al.*, Inflammatory cytokines in traumatic brain injury and their role in oxidative stress and neuronal damage. **Neurocritical Care**, New York, v. 35, n. 2, p. 1–12, 2021. DOI: 10.1007/s12028-021-01256-3.

MOLDOGAZIEVA, N. T.; LOBANOVA, Y. S.; POPOV, I. N. Crosstalk between oxidative stress and inflammation in the pathogenesis of chronic diseases. ***Frontiers in Physiology***, v. 9, p. 1–14, 2018.

MORGANTI-KOSSMANN, M. C. *et al.*, Role of cerebral inflammation after traumatic brain injury: a revisited concept. ***Shock***, v. 16, n. 3, p. 165–177, 2001.

PRINCE, C.; BRUHNS, M. E. Evaluation and Treatment of Mild Traumatic Brain Injury: The Role of Neuropsychology. ***Brain Sciences***, v. 7, n. 8, 2017.

PLOG, B. A.; NEDERGAARD, M. The glymphatic system in central nervous system health and disease: past, present, and future. **Annual Review of Pathology**, Palo Alto, v. 13, p. 379–394, 2018. DOI: 10.1146/annurev-pathol-051217-111018.

RAITH, E.; REDDY, U. Oxidative stress and mitochondrial dysfunction in traumatic brain injury. **Neurochemistry International**, Oxford, v. 159, 105393, 2023. DOI: 10.1016/j.neuint.2023.105393.

RANA, P. *et al.*, Oxidative stress contributes to cerebral metabolomic profile changes in an animal model of blast-induced traumatic brain injury. ***Metabolomics***, v. 16, n. 3, p. 39, 2020.

RASMUSSEN, M. K.; MESTRE, H. The glymphatic pathway in neurological disorders. **The Lancet Neurology**, London, v. 17, n. 11, p. 1016–1024, 2018. DOI: 10.1016/S1474-4422(18)30318-1.

REHMAN, S. *et al.*, Inflammatory and oxidative biomarkers in traumatic brain injury: mechanisms and therapeutic perspectives. ***Frontiers in Cellular Neuroscience***, 2025.

REN, Z. *et al.*, 'Hit & Run' model of closed-skull traumatic brain injury (TBI) reveals complex patterns of post-traumatic AQP4 dysregulation. ***Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism***, v. 33, n. 6, p. 834–845, 2013.

SHANAKI-BAVARSAAD, M.; ALMOLDA, B.; GONZÁLEZ, B.; CASTELLANO, B. Astrocyte-targeted overproduction of IL-10 reduces neurodegeneration after TBI. ***Experimental Neurobiology***, 2022.

SHAW, B. C. *et al.*, Immunity impacts cognitive deficits across neurological disorders. ***Journal of Neurochemistry***, 2023.

SHAW, K. E.; ANDERS, J. J. *et al.*, Pro-inflammatory cytokines and long-term cognitive outcomes after mild traumatic brain injury. **Journal of Neuroinflammation**, London, v. 20, n. 1, p. 1–15, 2023. DOI: 10.1186/s12974-023-02671-1.

SHI, K. *et al.*, Dissemination of brain inflammation in traumatic brain injury. ***Cellular & Molecular Immunology***, v. 16, n. 6, p. 523–530, 2019.

SUN, Y. *et al.*, Elevated Serum Levels of Inflammation-Related Cytokines in Mild Traumatic Brain Injury Are Associated With Cognitive Performance. ***Frontiers in Neurology***, v. 10, p. 1120, 2019.

SWEENEY, M. D.; SAGARE, A. P.; ZLOKOVIC, B. V. Blood-brain barrier breakdown in Alzheimer disease and other neurodegenerative disorders. ***Nature Reviews Neurology***, v. 14, n. 3, p. 133–150, 2018.

SWEENEY MD, ZHAO Z, MONTAGNE A, *et al.* Blood-brain barrier: From physiology to disease and back. **Physiol Rev** 2019;99(1):21–78; doi: 10.1152/physrev.00050.2017.

UEMURA, M. T. *et al.*, Brain Microvascular Pericytes in Vascular Cognitive Impairment and Dementia. ***Frontiers in Aging Neuroscience***, v. 12, p. 80, 2020.

VIANNA, M. R. *et al.*, Role of hippocampal signaling pathways in long-term memory formation of a nonassociative learning task in the rat. ***Learning & Memory***, v. 7, n. 5, p. 333–340, 2000.

WILSON, L. *et al.*, The chronic and evolving neurological consequences of traumatic brain injury. ***Lancet Neurology***, v. 16, n. 10, p. 813–825, 2017.

YANG, G. *et al.*, Glymphatic dysfunction mediates cognitive impairment through white matter damage in traumatic brain injury. **NeuroImage: Clinical**, Amsterdam, v. 38, 103361, 2023. DOI: 10.1016/j.nicl.2023.103361.

ZHAO, X. *et al.*, Inflammation and oxidative stress in traumatic brain injury: pathways, biomarkers, and interventions. ***Neuroscience Letters***, v. 827, p. 137438, 2025.

ZHENG, W. *et al.*, Neuroinflammation and oxidative stress interplay in mild traumatic brain injury: emerging insights. ***Journal of Neuroinflammation***, v. 19, 2022.

BAKKER, E. N. T. P. *et al.* *Lymphatic clearance of the brain: perivascular, paravascular and significance for neurodegenerative diseases*. Cellular and Molecular Neurobiology, v. 36, n. 2, p. 181–194, 2016.

ILIFF, J. J. *et al.* *A paravascular pathway facilitates CSF flow through the brain parenchyma and the clearance of interstitial solutes, including amyloid β* . Science Translational Medicine, v. 4, n. 147, p. 147ra111, 2012.

NEDERGAARD, M. *Garbage truck of the brain*. Science, v. 340, n. 6140, p. 1529–1530, 2013.

PLOG, B. A.; NEDERGAARD, M. *The glymphatic system in central nervous system health and disease: past, present, and future*. Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease, v. 13, p. 379–394, 2018.

RASMUSSEN, M. K.; MESTRE, H.; NEDERGAARD, M. *The glymphatic pathway in neurological disorders*. The Lancet Neurology, v. 17, n. 11, p. 1016–1024, 2018.

SWEENEY, M. D. et al. *Blood-brain barrier: from physiology to disease and back*. Physiological Reviews, v. 99, n. 1, p. 21–78, 2019.

ANEXOS

ANEXO A- CERTIFICADO DE APROVAÇÃO CEUA



Universidade do Extremo Sul Catarinense
Comissão de Ética no Uso de Animais



CERTIFICADO

Certificamos que o projeto abaixo especificado, que envolve a produção, manutenção ou utilização de 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 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 da Universidade do Extremo Sul Catarinense - UNESC, em reunião de **20/08/2024**.

Título do projeto	Avaliação da atividade do Sistema Glinfático em modelo animal de traumatismo cranioencefálico leve
Project title	"Evaluation of the activity of the Glymphatic System in an animal model of mild traumatic brain injury"
Número do protocolo Protocol number	82/2023
Pesquisador principal Principal Investigator	JAQUELINE DA SILVA GENEROSO
Pesquisadores Researchers	Amanda Christine da Silva Kursancew, Beatriz Brandão Lima, Cristiano Julio Faller, Diogo Domingui, Eduardo Jaques, Eliana Marcon Cadorin, Eloa Melpomene Piva Uchida, Ingridy da Paz Bauer, Isadora de Bittencourt Benedet, Julia Torcelli Noetzold, Luiz Guilherme Bruscatto, Natalli Studnicka, Nicole Golombieski Duarte, Samuel Brasil Stonoga, Shaiane Marques de Figueredo, Tarik Luiz Panaggio Ibrahim, Pedro Mendes Maciel, Bianca Mattos Goulart, Bruno Marcon,
Finalidade	() Ensino (X) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	01/02/2024 a 01/02/2025
Espécie/linhagem/raça	Rato heterogênico / Wistar
Idade/Peso	60 dias / 250-350 gramas
Número de animais	Masculino 120 / Feminino 0
Procedência	Biotério Unesc

The Ethics Committee on Animal Use on Research, sanctioned by the resolution number 03/2017/Câmara Propex, in accordance with federal law number 11.794/08, has analyzed the Project that was Approved in its ethical and methodological aspects. Any alteration of the original version of this project must be previously submitted to the Committee for further analyzes. May you have further questions, please contact us by e-mail ceua@unesc.net.