

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO

CAMILA MARTINS DE BESSA



**DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE SÓDIO NOS FLUIDOS TÊM IMPACTO
VARIÁVEL NO DANO CEREBRAL, PULMONAR E RENAL NO ACIDENTE
VASCULAR ENCEFÁLICO ISQUÊMICO EXPERIMENTAL**

Rio de Janeiro

Março de 2024



CAMILA MARTINS DE BESSA

**DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE SÓDIO NOS FLUIDOS TÊM IMPACTO VARIÁVEL NO
DANO CEREBRAL, PULMONAR E RENAL NO ACIDENTE VASCULAR ENCEFÁLICO
ISQUÊMICO EXPERIMENTAL**

Dissertação de Mestrado a ser apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Clínica Médica, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio de Janeiro, como requisito à obtenção do título de Mestre em Clínica Médica.

Orientadores: Prof^a. Dr^a. Cynthia dos Santos Samary

Prof. Dr. Pedro Leme Silva

Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Patricia Rieken Macedo Rocco

Rio de Janeiro

2024

O presente trabalho foi realizado no Laboratório de Investigação Pulmonar do Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho da Universidade Federal do Rio de Janeiro com apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq 2019/12151-0), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ E-26/202.766/2018, E-26/010.001488/2019), Universidade de São Paulo Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Paulo (FAPESP 2018/20493-6), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES 88881.371450/2019-01) e Departamento de Ciência e Tecnologia - Ministério da Saúde (DECIT/MS).

A Deus, por guiar-me pelo caminho do caráter, honestidade e humildade.

A minha avó Inez Oliveira Martins (*in memorium*), pela criação, carinho, perseverança e todos os ensinamentos.

Aos meus pais Christiane Martins Ferreira e Eduardo dos Santos Ferreira pelo apoio incondicional, pela exigência, pela confiança e por todo amor dedicado a mim. Vocês são a base do meu caráter, dedicação e profissionalismo. Amo vocês incondicionalmente.

A minha tia Samanta Felix Gomes de Mello, por nunca desistir de mim e dos meus problemas, além dos melhores conselhos, carinho e bravura admirável.

Aos meus avôs pelas histórias contadas, carinho e experiências compartilhadas.

As minhas primas e primos pela irmandade, alegria e leveza durante os anos de pós-graduação.

Aos meus tios e tias pela felicidade, confiança e conselhos dado.

Aos meus orientadores Pedro Leme Silva, Patricia Rieken Macedo Rocco e em especial Cynthia dos Santos Samary, que além dos ensinamentos do mundo científico e respeito, estiveram lutando por mim quando eu mesma já não acreditava mais.

Aos meus chefes e amigos pelo companheirismo, paciência e lealdade.

Agradeço a todos que diretamente e indiretamente ajudaram a tornar possível esse trabalho tão amado e desejado. A ciência brasileira resiste!

RESUMO

Introdução: A administração de fluidos é muitas vezes realizada no Acidente Vascular Encefálico isquêmico (AVEi) agudo. Permanecem controvérsias em relação ao efeito de diferentes concentrações de sódio em fluidos administrados após AVEi, bem como seu impacto em órgãos a distância. Nosso objetivo foi comparar os efeitos de quatro tipos de fluidos [solução salina isotônica 0,9% (ISO), solução salina hipotônica 0,45% (HIPO), solução salina hipertônica 1,5% (HIPER) e glicose 5% (GLICO)] nas áreas perilesionais do cérebro, bem como nos pulmões e rins após AVEi. **Métodos:** 28 ratos Wistar machos (peso 375 ± 23 g) foram submetidos à indução de AVEi por termocoagulação dos vasos piais no córtex sensório-motor primário direito. Após 3h, os animais foram anestesiados e aleatoriamente designados para receber um dos quatro tipos de fluidos, no qual foram infundidos por duas horas. Durante a infusão dos fluidos, os animais foram mecanicamente ventilados de forma protetora. A gasometria arterial e a função pulmonar foram mensuradas ao longo do experimento. Ao final do experimento, os pulmões, o tecido cerebral e os rins foram removidos para análise histológica e de biologia molecular, além da urina e plasma para análise de bioquímica. **Resultados:** Na histologia pulmonar, o grupo ISO apresentou menor colapso alveolar, comparado ao HIPER ($p=0,01$) e menor edema, comparado ao HIPO ($p=0,007$). O grupo ISO apresentou menor expressão de interleucina (IL)-1 β no tecido pulmonar em comparação ao HIPO ($p=0,027$), enquanto o fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) e a aquaporina (AQP)-5 foram mais expressos no grupo ISO, em comparação ao GLICO ($p= 0,0151$ e $p=0,0109$, respectivamente). A histoarquitetura cerebral demonstrou aumento de versican e hialuronano no grupo ISO em comparação ao grupo HIPER ($p=0,022$ e $p=0,018$, respectivamente). O grupo HIPER apresentou maior expressão de IL-1 β , molécula de adesão celular vascular-1 (VCAM-1) e zônula oclusão (ZO)-1 no cérebro, em comparação ao grupo GLICO ($p=0,01$, $p=0,02$, $p=0,006$, respectivamente). A expressão cerebral de IL-1 β foi maior em ISO e HIPER do que em GLICO ($p = 0,01$). No rim, os grupos ISO e HIPO induziram menor lesão das bordas em escova, comparados ao HIPER ($p=0,007$ e $p=0,032$, respectivamente). A expressão renal de lipocalina associada à gelatinase de neutrófilos (NGAL) foi maior no grupo GLICO, comparado ao grupo HIPO ($p=0,007$). As concentrações de cloreto nas amostras de sangue diminuíram ao longo do tempo durante os experimentos em ISO, em comparação aos grupos HIPO, HIPER e GLICO ($p=0,031$, $p=0,001$ e $p=0,021$). O grupo HIPO aumentou a creatinina e a osmolaridade urinária, em comparação ao HIPER ($p<0,0001$ e $p=0,0027$,

respectivamente). **Conclusões:** O fluido isotônico causa menos lesões cerebrais, pulmonares e renais no AVEi experimental.

Palavras-chave: Acidente vascular encefálico isquêmico experimental; dano cerebral; função pulmonar; função renal; concentrações de sódio; fluidos.

ABSTRACT

Background: Fluid administration is used many times in acute ischemic stroke (AIS). Controversies remain regarding the effect of different sodium concentrations in fluids administered after AIS as well as their impact on distal organ function. We aimed to compare the effects of four types of fluids [isotonic 0.9% saline (ISO), hypotonic 0.45% saline (HYPO), hypertonic 1.5% saline (HYPER) and glucose 5% (GLUCO)] on the perilesional areas of the brain, as well as on lung, and kidneys after AIS. **Methods:** AIS was induced in 28 male Wistar rats and, after 3 hours, animals were randomized to receive one of the four types of fluids. **Results:** In lung histology, ISO group showed less alveolar collapse, compared to HYPER ($p=0.01$) and less edema, compared to HYPO ($p=0.007$). ISO group presented lower interleukin (IL)-1 β expression in lung tissue compared to HYPO ($p=0.027$), whereas vascular endothelial growth factor (VEGF) and aquaporin (AQP)-5 were more pronounced in ISO, compared to GLUCO ($p=0.0151$ and $p=0.0109$, respectively). The brain histoarchitecture demonstrated an increase of versican and hyaluronan in ISO group compared to HYPER group ($p=0.022$ and $p=0.018$, respectively). HYPER group presented higher IL-1 β , vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) and zonula occludens (ZO)-1 expression in brain, compared to GLUCO group ($p=0.01$, $p=0.02$, $p=0.006$, respectively). IL-1 β brain expression was higher in ISO and HYPER than GLUCO ($p=0.01$). In kidney, ISO and HYPO groups induced less injury of the brush borders, compared to HYPER ($p=0.007$ and $p=0.032$, respectively). Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) renal expression was higher in GLUCO group, compared to HYPO ($p=0.007$). The chloride concentrations in blood samples decreased over time during experiments in ISO, compared to HYPO, HYPER and GLUCO groups ($p=0.031$, $p=0.001$ and $p=0.021$). HYPO group increased urine creatinine and osmolality, compared to HYPER ($p<0.0001$ and $p=0.0027$, respectively). **Conclusion:** Isotonic fluid causes less brain, lungs, and kidneys injury in experimental AIS.

Keywords: Experimental ischemic stroke; brain damage; lung function; kidney function; sodium concentrations; fluid.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

36B4	fosfoproteínaribossomal ácida P0
α7nAChR	receptor de acetilcolina nicotínico α -7
ΔPRS	<i>driving pressure</i> do sistema respiratório
AIT	ataque isquêmico transitório
AQP	aquaporina
ARRIVE	<i>Animal Research: Reporting of In Vivo Experiments</i>
AVE	acidente vascular encefálico
AVEi	acidente vascular encefálico isquêmico
CCS	Centro de Ciências da Saúde
CEUA	Comissão de Ética para o Cuidado e Uso de Animais
Experimentais	
Ct	<i>Cyclethreshold</i>
D	tamanho do efeito
DEPC	dietilpirocarbonato
DNA	ácido desoxirribonucleico
DNAc	ácido desoxirribonucleico complementar
DP	desvio padrão
FR	frequência respiratória
FiO₂	fração inspirada de oxigênio
GLICO	grupo com fluido glicose 5%
HCO₃	bicarbonato
HIPER	grupo com fluido hipertônico
HIPO	grupo com fluido hipotônico
IBCCF	Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho
IL	Interleucina
i.p.	intraperitoneal
irpm	incursões respiratórias por minuto
ISO	grupo com fluido isotônico
i.v.	intravenoso
KIM	molécula de lesão renal
MMP-9	metaloproteinase-9
MEC	matriz extracelular
NaCl	cloreto de sódio
NGAL	lipocalina associada à gelatinase de neutrófilos
Ng	nanogramas
nM	Nanomolar
PAM	pressão arterial média
PaO₂	pressão parcial de oxigênio arterial
PaCO₂	pressão parcial de dióxido de carbono arterial
PCR	proteína C reativa
PE	polietileno
PEEP	pressão expiratória final positiva
Pes	pressão esofagiana
pHa	pH arterial
PIC	pressão intracraniana

PMN	polimorfonucleares
Ppico,RS	pressão de pico nas vias aéreas
Pplato, RS	pressão de platô das vias aéreas
PTP	pressão produto tempo por ciclo
PTP minuto	pressão produto tempo por minuto
Ptr	pressão traqueal
Pw	parede torácica
RNA	ácido ribonucleico
RNAm	ácido ribonucleico mensageiro
RT-PCR	transcrição reversa, seguida de reação em cadeia da polimerase
seg/min	segundo por minuto
SNC	sistema nervoso central
T	temperatura
TGF	fator de crescimento transformador
Thio	tiopental
TMC	taxa metabólica cerebral
TNF	fator de necrosetumoral
TOAST	<i>Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment</i>
UFRJ	Universidade Federal do Rio de Janeiro
UPCr	razão entre proteína urinária e creatinina
V'	fluxo aéreo
VCAM	molécula de adesão vascular
VCV	ventilação controlada a volume
VEGF	fator de crescimento endotelial vascular
V_T	volume corrente
ZO	zônula de oclusão

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	12
1.1	Acidente Vascular Encefálico.....	12
2.	Fisiopatologia do AVE.....	15
2.1	Aspectos Inflamatórios no AVE.....	15
2.2	Inflamação Pulmonar.....	19
2.3	Disfunção renal.....	20
3.	Fluidoterapia.....	22
3.1	Equação de Starling.....	23
3.2	Tipos de Fluidos.....	25
4.	HIPÓTESE.....	27
5.	OBJETIVOS.....	27
5.1	Objetivo Geral.....	27
5.2	Objetivos Específicos.....	27
6.	MATERIAIS E MÉTODOS.....	28
6.1	Desenho experimental.....	28
6.2	Composição dos fluidos.....	29
6.3	Linha do tempo.....	30
6.4	Animais: Cuidados Iniciais.....	30
6.5	Protocolo Experimental.....	31
6.5.1	Procedimento Cirúrgico.....	31
6.5.2	Infusão de fluidos.....	31
6.6	Análise pulmonar	34
6.6.1	Remoção dos pulmões.....	34
6.6.2	Histologia pulmonar	34
6.7	Análise cerebral.....	35
6.7.1	Histologia cerebral.....	35
6.8	Análise renal.....	35
6.8.1	Histologia renal e bioquímica urinária e plasmática.....	35
6.9	Biologia molecular.....	36
6.9.1	Extração de RNA Total.....	36
6.9.2	Transcrição reversa.....	37

6.9.3	PCR tempo real.....	37
7.	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	38
8.	RESULTADOS.....	39
8.1	Pulmão.....	39
8.2	Cérebro.....	43
8.3	Rim.....	45
9.	DISCUSSÃO.....	49
9.1	Pulmão.....	51
9.2	Cérebro.....	52
9.3	Rim.....	54
9.4	Limitação.....	55
10	CONCLUSÃO.....	55
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	56
	ANEXO A.....	74

1. INTRODUÇÃO

1.1 Acidente Vascular Encefálico

O Acidente Vascular Encefálico (AVE) é uma das doenças mais comuns e de alto custo para a sociedade (WESTERLIND; PERSSON; SUNNERHAGEN, 2017), tendo em vista que a grande maioria dos indivíduos necessita de unidades de terapia intensiva para maior monitorização (PELOSI; FERGUSON; FRUTOS-VIVAR; ANZUETO *et al.*, 2011). De acordo com o Centro de Controle e Prevenção de Doenças, os Estados Unidos obtêm aproximadamente mais de 795.000 casos de AVE por dia, sendo que destes 80% correspondem a um primeiro evento (MOZAFFARIAN; BENJAMIN; GO; ARNETT *et al.*, 2016; VIRANI; ALONSO; BENJAMIN; BITTENCOURT *et al.*, 2020). No Canadá, cerca de 400.000 pessoas lidam com seus efeitos, além de corresponder a terceira maior causa de morte no Reino Unido e a quinta maior causa de morte nos Estados Unidos (BOULANGER; LINDSAY; GUBITZ; SMITH *et al.*, 2018; ROTHWELL, 2001). Um estudo realizado na Suécia acompanhou pacientes que sofreram AVE ao longo de 6 anos e constatou que apenas 48% retornaram ao nível de trabalho prévio ao evento, evidenciando as sequelas a longo prazo que os sobreviventes convivem, além da diminuição significativa da qualidade de vida (SINGAM; YTTERBERG; THAM; VON KOCH, 2015). Nesse contexto, o diagnóstico precoce do AVE e o tratamento adequado são fundamentais para melhorar o prognóstico (EBINGER; KUNZ; WENDT; ROZANSKI *et al.*, 2015; HACKE; DONNAN; FIESCHI; KASTE *et al.*, 2004; JAUCH; CUCCHIARA; ADEOYE; MEURER *et al.*, 2010; KUNZ; EBINGER; GEISLER; ROZANSKI *et al.*, 2016).

É evidente que a maior incidência dos casos de AVE ocorre em indivíduos acima de 60 anos, sendo a média de idade de 69 anos (KISSELA; KHOURY; ALWELL; MOOMAW *et al.*, 2012), entretanto não há exclusão que ocorra em outras idades, visto que há casos na literatura de inclusive crianças (MEKITARIAN FILHO; CARVALHO, 2009). Os casos de AVE vêm crescendo cada vez mais entre os indivíduos mais jovens, e a Organização Mundial de AVE (*World Stroke Organization*) prevê que uma a cada seis pessoas no mundo terá um AVE ao longo de sua vida (HANKEY, 2013).

O AVE pode ser definido como o surgimento de um déficit neurológico súbito causado por um problema de suprimento aos vasos sanguíneos do sistema nervoso central. Pode ser dividido em dois subtipos (HANKEY, 2017):

(1) AVE isquêmico: ocorre pela obstrução ou redução brusca do fluxo sanguíneo em uma artéria cerebral causando falta de circulação no seu território vascular. Ele é responsável por 85% dos casos de AVE nos Estados Unidos (HANKEY, 2017), sendo por isso o maior foco das pesquisas da área de AVE (BARTHELIS; DAS, 2020).

(2) AVE hemorrágico: causado pela ruptura espontânea (não traumática) de um vaso, com extravasamento de sangue para o interior do cérebro (hemorragia intracerebral), para o sistema ventricular (hemorragia intraventricular) e/ou espaço subaracnóideo (hemorragia subaracnóidea) (HANKEY, 2017).

A classificação TOAST de AVE isquêmico determina ainda cinco subtipos: 1) aterosclerose de grandes artérias, 2) cardioembolismo, 3) oclusão de pequenos vasos, 4) acidente vascular encefálico de outra etiologia determinada e 5) acidente vascular encefálico de etiologia indeterminada (ADAMS; BENDIXEN; KAPPELLE; BILLER *et al.*, 1993).

É conhecido na tradicional literatura sobre AVE que existem principais fatores de risco para a sua ocorrência, que são (ALLEN; BAYRAKTUTAN, 2008; ELKIND; SACCO, 1998):

- Hipertensão arterial, cerca de 60% de todos os pacientes com acidente vascular encefálico têm história prévia de hipertensão (BORNSTEIN; ARONOVICH; KAREPOV; GUR *et al.*, 1996; MOULIN; TATU; CREPIN-LEBLOND; CHAVOT *et al.*, 1997).
- Tabagismo.
- Diabetes.
- Aumento dos níveis de lipoproteína Lp, uma lipoproteína de baixa densidade (*low-density lipoprotein* = LDL).
- Níveis plasmáticos aumentados de fator de *von Willebrand* (FVW), uma glicoproteína plasmática e mediador de adesão plaquetária durante insulto endotelial.
- Contagem elevada de leucócitos e de proteína C reativa (PCR), uma vez que a inflamação está implicada na patogênese da aterosclerose e acidente vascular encefálico isquêmico.
- Aumento de espécies reativas do oxigênio (ROS) e estresse oxidativo.

- Hiperfibrinogenemia. O fibrinogênio é útil na formação de pontes entre as plaquetas, tendo papel importante na hemostasia (BINNIE; LORD, 1993). Tem sido sugerido que o aumento da viscosidade e maior quantidade de substrato disponível resultante da concentração elevada de fibrinogênio no plasma podem promover a coagulação e agir como um risco para a oclusão trombótica de pequenos vasos (MARTISKAINEN; POHJASVAARA; MIKKELSSON; MANTYLA *et al.*, 2003).
- Hiperhomocisteinemia.
- Sedentarismo.
- Obesidade visceral, avaliada pela relação cintura-quadril.
- Doença arterial coronariana.
- Estenose carotídea.
- Ataque isquêmico transitório (AIT).
- Fibrilação atrial, hipertrofia de ventrículo esquerdo e outras doenças cardíacas.
- Alcoolismo.
- Uso de drogas ilícitas.
- Idade, sendo que 2/3 dos AVE socorrem em pessoas com idade superior a 65 anos (ALLEN; BAYRAKTUTAN, 2008).
- Sexo masculino. Os homens têm um risco ligeiramente maior de acidente vascular encefálico, particularmente na idade adulta média para a velhice. No entanto, esta superioridade não está presente nos idosos > 65 anos, onde o sexo feminino prevalece (AYALA; CROFT; GREENLUND; KEENAN *et al.*, 2002), nem nos jovens.
- Hereditariedade.
- Etnia negra e hispânica. Foram observados que negros (21%) e hispânicos (22%) tiveram uma maior proporção de AVE lacunar que os de etnia branca (16%) (WHITE; BODEN-ALBALA; WANG; ELKIND *et al.*, 2005).

Com a doença do coronavírus 2019 (COVID-19) causada pelo vírus SARS-CoV-2 e decretada como pandemia em 11 de março de 2020, o AVE se tornou assunto popular e de grande investigação por cientistas ao redor do mundo. Um estudo realizado no epicentro da doença, Wuhan, China, notou-se que 36% dos pacientes contaminados pela COVID-19 apresentaram complicações neurológicas, sendo que de 88 casos graves da doença, 5,7% cursaram em sua maioria com AVE isquêmico (MAO; JIN; WANG; HU *et al.*, 2020). Em um relatório de painel internacional envolvendo 18 países, foi evidenciado o maior risco de desenvolver

AVE após adquirir a COVID-19, demonstrando a necessidade de estabelecer protocolos para tratamento desses pacientes (QURESHI; ABD-ALLAH; AL-SENANI; AYTAC *et al.*, 2020).

2. Fisiopatologia do AVE

O AVE é uma lesão de isquemia / reperfusão que é causada quando o suprimento de sangue para o cérebro é insuficiente (LAI; ZHANG; WANG, 2014). Um estudo europeu demonstrou que o subtipo de AVE mais encontrado é o cardioembólico (MOULIN; TATU; VUILLIER; BERGER *et al.*, 2000). Todavia, a análise recente de um estudo onde foi os AVE isquêmico agudo foi confirmado por ressonância magnética ponderada por difusão mostrou que a aterosclerose de grandes artérias (37,3%) foi o subtipo de AVE mais comum, e a artéria cerebral média (49,6%) foi o território mais frequentemente envolvido (CHUNG; PARK; KIM; KIM *et al.*, 2014). A velocidade em que o AVE se instala e a possibilidade de sequelas mais graves dependem da falha de autorregulação dos vasos colaterais (LIEBESKIND; TOMSICK; FOSTER; YEATTS *et al.*, 2014). Durante o período de isquemia, a privação de oxigênio e glicose pode induzir morte celular neuronal no núcleo isquêmico via atividade excitotóxica (DEL ZOPPO; SCHMID-SCHONBEIN; MORI; COPELAND; CHANG, 1991).

Embora a morte neuronal em si ocorra devido à privação de nutrientes para a região do cérebro afetada, sabe-se que a piora dos casos podem se dever a processos inflamatórios relacionados à isquemia (LAI; ZHANG; WANG, 2014). Dessa forma, há a necessidade de tratamentos mais eficazes que visem os mecanismos fisiopatológicos do AVE a fim de reduzir a sua morbimortalidade e conseqüentemente seu impacto socioeconômico.

2.1 Aspectos Inflamatórios no AVE

Uma das principais causas de morte em pacientes com injúria cerebral aguda são as infecções secundárias, pois impedem a recuperação do paciente, assim como aumentam as taxas de mortalidade. Essas infecções secundárias podem decorrer da exposição do paciente a procedimentos médicos invasivos, hospitalização, porém é evidente que a lesão do sistema nervoso central (SNC) seja por si só um fator de

risco devido à imunossupressão que a doença causa (CZLONKOWSKA; CYRTA; KORLAK, 1979; WOICIECHOWSKY; ASADULLAH; NESTLER; EBERHARDT *et al.*, 1998) uma vez que a interação equilibrada entre o SNC e o sistema imune é abalada (MEISEL; SCHWAB; PRASS; MEISEL; DIRNAGL, 2005).

Em um estudo prospectivo multicêntrico observou-se que as complicações durante a internação hospitalar foram registradas em 85% dos pacientes com AVE, sendo a infecção do trato urinário encontrada em 24% dos pacientes, seguida por infecção torácica 22% e outras infecções 19% (LANGHORNE; STOTT; ROBERTSON; MACDONALD *et al.*, 2000). A pneumonia é a mais grave complicação clínica no AVE (JOHNSTON; LI; LYDEN; HANSON *et al.*, 1998) e a com desenvolvimento mais precoce, visto que se desenvolve nas primeiras 48 horas de admissão em centros de terapia intensiva (HILKER; POETTER; FINDEISEN; SOBESKY *et al.*, 2003). Ela também é responsável por aproximadamente 22% dos óbitos no primeiro mês após o evento, e por cerca de 26% no primeiro ano, sendo a causa mais frequente de morte após a fase aguda do AVE (VERNINO; BROWN; SEJVAR; SICKS *et al.*, 2003).

Uma vez que o AVE isquêmico causa morte de células neuronais, esta lesão desencadeia uma resposta cerebral, com infiltração de leucócitos, tanto polimorfonucleares (PMN) como monócitos / macrófagos (mas não linfócitos), gerando obstrução, edema, necrose e infarto celular (CLARK; LEE; FISH; WHITE *et al.*, 1993; HUANG; UPADHYAY; TAMARGO, 2006). A infiltração de macrófagos se dá de forma precoce e não está relacionada especificamente com a necrose neuronal (HUANG; UPADHYAY; TAMARGO, 2006; SAMARY; RAMOS; MAIA; ROCHA *et al.*, 2018).

Em um estudo experimental de isquemia focal, foi evidenciado que leucócitos polimorfonucleares obstruem capilares no leito microvascular após a reperfusão da artéria cerebral média, evidenciando sua importância na incitação e propagação de danos nos tecidos após isquemia cerebral e reperfusão no AVE (DEL ZOPPO; SCHMID-SCHONBEIN; MORI; COPELAND; CHANG, 1991). O influxo de leucócitos para a região envolvida pode ser observado a partir de 30 minutos após a oclusão experimental da artéria cerebral média, muito antes dos neurônios necróticos tornarem-se detectáveis (GARCIA; LIU; YOSHIDA; LIAN *et al.*, 1994). Tendo em vista essas informações, é possível delinear os mediadores inflamatórios subjacentes a este processo. Evidência substancial de modelos animais de oclusão da artéria

cerebral média descobriu que estes mediadores incluem moléculas de adesão (selectinas, integrinas, imunoglobulinas), citocinas [interleucina (IL)-1, IL-6, fator de necrose tumoral (TNF)- α e fator de crescimento transformador (TGF)- β], e quimiocinas (CINC e MCP-1), que são produzidas imediatamente após o início da isquemia e que contribuem para a irreversibilidade do infarto (HUANG; UPADHYAY; TAMARGO, 2006).

A cascata de citocinas pró-inflamatórias promove a liberação de IL-1 e TNF- α , que levarão à produção posterior de outras citocinas pró-inflamatórias, incluindo IL-6 e IL-8, ativação e infiltração de leucócitos, além da produção de citocinas anti-inflamatórias, como IL-4 e IL-10, que podem produzir um *feedback* negativo na cascata (CLARK, 1997). Vários mecanismos procuram esclarecer como as citocinas pró-inflamatórias podem potencializar o AVE isquêmico. Primeiramente, ocorre um efeito direto em neurônios, astrócitos, e células microgliais (CLARK, 1997). Além disso, as citocinas podem mediar comunicação parácrina ou autócrina dentro do sistema nervoso central (SNC), efeitos estes relacionados a interações entre neurônios, astrócitos e células gliais; e devido também à ativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (CLARK, 1997; MEISEL; SCHWAB; PRASS; MEISEL; DIRNAGL, 2005).

Em uma série de 231 pacientes com primeiro evento de AVE, aqueles que sofreram piora neurológica precoce tiveram aumento dos níveis plasmáticos de IL-6 em comparação com aqueles que não apresentaram esta piora; tal associação foi observada em pacientes que apresentaram AVE cortical e subcortical, com doença de grandes vasos, infarto lacunar, cardioembolismo e em pacientes com AVE de causa desconhecida (CHAMORRO, 2004; VILA; CASTILLO; DAVALOS; CHAMORRO, 2000).

As interações celulares endotélio-leucócitos são mediadas por três classes de moléculas de adesão celular, as selectinas, as integrinas e a superfamília das imunoglobulinas (HUANG; UPADHYAY; TAMARGO, 2006). As selectinas ligam carboidratos e iniciam interações celulares leucócito endotélio, fazendo com que os leucócitos se voltem aos seus tecidos de origem (*homing*) assim como seu recrutamento (HUANG; UPADHYAY; TAMARGO, 2006; LAWRENCE; SPRINGER, 1991). As integrinas são responsáveis pela forte adesão e se ligam a outras moléculas de adesão celular e à matriz extracelular (MEC). As imunoglobulinas agem como ligantes das integrinas, e participam da adesão celular (HUANG; UPADHYAY;

TAMARGO, 2006; LAWRENCE; SPRINGER, 1991). IL-6, IL-1 β e TNF- α aumentam em células endoteliais e astrócitos a expressão de molécula de adesão intracelular (ICAM)-1, imunoglobulina responsável por facilitar a infiltração e ativação leucocitária (CLARK, 1997; FROHMAN; FROHMAN; DUSTIN; VAYUVEGULA *et al.*, 1989; SEI; VITKOVIC; YOKOYAMA, 1995).

No primeiro momento pós-isquêmico há a ativação de leucócitos e plaquetas para iniciar a trombose e aumento da permeabilidade celular endotelial, além da expressão de moléculas de adesão da membrana celular e citocinas reguladoras diferenciadas (CHOU; CHOI; ZHANG; MU *et al.*, 2004; GARCIA; LIU; YOSHIDA; LIAN *et al.*, 1994; HUANG; UPADHYAY; TAMARGO, 2006). O recrutamento de leucócitos nas regiões isquêmicas requer uma sequência de eventos que começam com leucócitos rolando nas paredes do endotélio ativado, ativação de neutrófilos, aderência às células endoteliais e transmigração para o parênquima cerebral (HUANG; UPADHYAY; TAMARGO, 2006), gerando um acúmulo de leucócitos PMN em regiões do cérebro com baixo fluxo sanguíneo, sinalizando uma convergência de processos hemostáticos e inflamatórios (HALLENBECK; DUTKA; TANISHIMA; KOCHANNEK *et al.*, 1986; HUANG; UPADHYAY; TAMARGO, 2006). A obstrução microvascular pode ainda derivar da adesão de leucócitos PMN ao sistema vascular, o endotélio e a MEC, o que requer alta especificidade nas interações receptor-ligante (HUANG; UPADHYAY; TAMARGO, 2006).

Em sítios extravasculares, os neutrófilos produzem radicais livres (O_2^- ; OH \cdot), liberam enzimas proteolíticas, causando a morte de células com isquemia (reversível ou não), e estimulam a liberação de citocinas a partir de células vizinhas, promovendo o recrutamento de mais neutrófilos além de outros leucócitos (CAVANAGH; GOUGH; HOMER-VANNIASINKAM, 1998; CHOU; CHOI; ZHANG; MU *et al.*, 2004). Estudos experimentais mostraram que a redução do número de neutrófilos, da sua atividade, assim como a inibição de suas enzimas proteolíticas, como a elastase, promovendo melhores desfechos e qualidade de vida ao reduzir o tamanho da lesão e conseqüentemente desenvolvendo menores déficits neurológicos (CAVANAGH; GOUGH; HOMER-VANNIASINKAM, 1998; UENO; MORIYAMA; TODA; YOTSUMOTO *et al.*, 2001). Em especial a proteína quinase C tem demonstrado desempenhar um papel significativo na atividade neutrofílica. Estudos com camundongos sem a enzima quinase C δ (PKC δ) apresentaram redução

significativa da lesão de reperfusão após isquemia transitória (CHOU; CHOI; ZHANG; MU *et al.*, 2004).

É importante frisar também que a infiltração de neutrófilos contribui para o aumento da metaloproteinase-9 (MMP-9) no cérebro isquêmico, que é uma protease responsável por degradar os componentes da lâmina basal, estando associada à ruptura da barreira hematoencefálica após o AVE, assim como a sua transformação hemorrágica. Embora o mecanismo exato ainda não tenha sido determinado, foi demonstrado que a MMP-9 é liberada no cérebro isquêmico concomitantemente com o acúmulo de neutrófilos no interior dos microvasos isquêmicos, sendo então mais um fator de pior prognóstico após AVE (JUSTICIA; PANES; SOLE; CERVERA *et al.*, 2003; LAPCHAK; CHAPMAN; ZIVIN, 2000).

Além disso, há uma área no encéfalo onde a barreira hematoencefálica não se faz presente, também estando mais propenso a sofrer consequências da cascata de inflamação após AVE: o plexo coroide (GUERMAZI; DE KERVILER; ZAGDANSKI; FRIJA, 2000). O plexo coroide é uma área altamente vascularizada localizada entre os ventrículos cerebrais e possui um papel fundamental da produção do líquido cefalorraquidiano (MORTAZAVI; GRIESSENAUER; ADEEB; DEEP *et al.*, 2014), participando também da produção de diversas outras substâncias que garantem o ideal e correto funcionamento e proteção do sistema nervoso central (KAUR; RATHNASAMY; LING, 2016). Ainda é uma estrutura pouco investigada no contexto após AVE agudo.

2.2 Inflamação Pulmonar

Além das respostas imunológicas inflamatórias locais no cérebro, o AVE também desencadeia respostas sistêmicas, que podem ter grandes efeitos nos órgãos distais, como pulmões, rins, fígado, entre outros (SAMARY; RAMOS; MAIA; ROCHA *et al.*, 2018). Uma resposta inflamatória sistêmica aguda parece desempenhar um papel integral no desenvolvimento de complicações, proporcionando um potencial de lesão secundária significativa (MARON, 1989). Em ratos, o AVE isquêmico focal ocasiona um aumento do dano pulmonar, inflamação e redução da capacidade fagocítica dos macrófagos alveolares, devido a uma interligação entre cérebro e pulmão que parece ser promovida pela inflamação sistêmica (SAMARY; RAMOS; MAIA; ROCHA *et al.*, 2018). Um estudo chinês

evidenciou que 15,6% dos pacientes que tiveram o AVE desenvolveram injúria pulmonar aguda em apenas 36 horas após a admissão hospitalar, além de eventos pulmonares como pneumonia e bronquite (BAI; LI; NING; LI *et al.*, 2017).

Entretanto, há uma carência significativa de estudos acerca da inflamação pulmonar decorrente de AVE, ao contrário da inflamação pulmonar decorrente do traumatismo cranioencefálico onde há uma vasta literatura (DAI; WANG; YANG; AN *et al.*, 2013; JIN; WANG; JI; ZHU *et al.*, 2009; KALSOTRA; ZHAO; ANAKK; DASH; STROBEL, 2007; WEBER; GRACON; RIPSCH; FISHER *et al.*, 2014; YILDIRIM; SOLAROGLU; OKUTAN; OZISIK *et al.*, 2004). Além disso, os estudos em modelos experimentais de AVE que existem acabam focando mais na questão da imunossupressão e infecção pulmonar (CHAMORRO; URRRA; PLANAS, 2007; PRASS; MEISEL; HOFLICH; BRAUN *et al.*, 2003; SHIM; WONG, 2016; STANLEY; MASON; MACKIN; SRIKHANTA *et al.*, 2016) enquanto a inflamação em si e seus efeitos na capacidade fagocitária de macrófagos alveolares são negligenciados (SAMARY; RAMOS; MAIA; ROCHA *et al.*, 2018).

Após o AVE, a estimulação do receptor de acetilcolina nicotínico α -7 (α 7nAChR) reduz inflamação, protege as células neuronais do estresse oxidativo e melhora a recuperação funcional (CAI; BODHIT; DEREQUITO; ANSARI *et al.*, 2014; SAMARY; PELOSI; SILVA; ROCCO, 2016). Sabe-se que células imunes pulmonares residentes, como macrófagos alveolares e células epiteliais alveolares, expressam α 7nAChR (MAOUCHE; POLETTE; JOLLY; MEDJBER *et al.*, 2009; SAMARY; PELOSI; SILVA; ROCCO, 2016), isto pode reduzir a inflamação nos pulmões, para evitar uma reação exagerada potencialmente prejudicial do sistema imunológico durante condições inflamatórias (como infecções bacterianas), suprimindo a produção de citocinas pró-inflamatórias por macrófagos ativados (DOS SANTOS; SHAN; AKRAM; SLUTSKY; HAITSMA, 2011; SAMARY; PELOSI; SILVA; ROCCO, 2016). No entanto, tal comportamento pode ser prejudicial à defesa do hospedeiro (ROSAS-BALLINA; TRACEY, 2009).

2.3 Disfunção Renal

Considerando o impacto do AVE isquêmico em órgãos distais, um dos órgãos acometidos além dos pulmões citados anteriormente são os rins. Sabe-se que ambos os órgãos apresentam características fisiológicas similares. São elas: cérebro e rins

são órgãos altamente perfundidos e por isso estão expostos a grandes volumes de fluxo sanguíneo a cada ciclo cardíaco; à medida que há a alteração de pressões arterial, tanto o cérebro quando os rins mantêm a perfusão através da autorregulação e existe uma concordância hemodinâmica entre os leitos vasculares dos dois órgãos (ZHAO; YAN; CHOPP; VENKAT; CHEN, 2020).

Após o AVE isquêmico, em um estudo multicêntrico de grande escala hospitalar, identificou que 35% dos pacientes apresentaram sintomas e fatores alterados que indicam doença renal crônica (creatinina, proteinúria, cistatina C, albuminúria, taxa de filtração glomerular estimada, urinálise para avaliar leucócitos e glóbulos vermelhos, eletrólitos séricos, cálcio sérico e níveis de hormônio da paratireoide), sendo a proteinúria um fator independente que indica piores sequelas neurológicas e maior risco de mortalidade em ambiente hospitalar (HUNSICKER; ADLER; CAGGIULA; ENGLAND *et al.*, 1997; KUMAI; KAMOUCI; HATA; AGO *et al.*, 2012). Além disso, em um estudo polonês que reuniu e acompanhou pacientes sobreviventes pós AVE isquêmico, foi visto que após 4 meses, 40,38% desses pacientes apresentaram sinais de doença renal crônica com diminuição da taxa de filtração glomerular estimada e aumento da razão albumina/creatinina na urina (CHWOJNICKI; KROL; WIERUCKI; KOZERA *et al.*, 2016).

O mecanismo da disfunção renal após AVE isquêmico se dá pela rede central autonômica, sistema de regulação interna integral que controla as respostas viscerais motoras e neuroendócrinas e se encontra no córtex insular, córtex pré-frontal medial, hipotálamo, substância cinzenta periaquedutal, amígdala, medula ventrolateral, núcleo dos solitários do trato e parte do córtex motor primário e área motora rostromedial (ZHAO; YAN; CHOPP; VENKAT; CHEN, 2020). O córtex primário e rostromedial influenciam no funcionamento do rim visto que são seu centro de controle autônomo. Em um estudo tradicional de Green, H. D., & Hoff, E. C. foram feitos experimentos em gatos e macacos e foi demonstrado que a estimulação elétrica do córtex motor primário e áreas adjacentes do córtex pré-motor leva a mudanças na função visceromotora, como redução no fluxo sanguíneo renal (GREEN; HOFF, 1937). Portanto, danos cerebrais na área motora primária e rostromedial podem afetar diretamente a função renal. Além disso, não se pode anular o fato que o AVE e a injúria renal apresentam fatores de risco em comum como hipertensão, diabetes tipo 2, aterosclerose, entre outros (CIPOLLA; LIEBESKIND; CHAN, 2018; HUANG; WAN; WU, 2020).

3. Fluidoterapia

A fluidoterapia é uma estratégia fundamental utilizada em unidades de terapia intensiva. É usada em contexto geral de reanimação, reposição e manutenção de volemia e em casos específicos como controle da pressão intracraniana e manejo da isquemia cerebral tardia (causada por vasoespamo) (ODDO; POOLE; HELBOK; MEYFROIDT *et al.*, 2018). Recentemente, houve uma mudança de paradigma considerando os fluidos como drogas com indicações e contraindicações específicas (LANGER; SANTINI; SCOTTI; VAN REGENMORTEL *et al.*, 2015; MALBRAIN; LANGER; ANNANE; GATTINONI *et al.*, 2020; MALBRAIN; VAN REGENMORTEL; OWCZUK, 2015; PERNER; HAASE; GUTTORMSEN; TENHUNEN *et al.*, 2012; VAN REGENMORTEL; JORENS; MALBRAIN, 2014) e possíveis efeitos adversos associados (MYBURGH; MYTHEN, 2013; YUNOS; BELLOMO; HEGARTY; STORY *et al.*, 2012), como edema cerebral ou pulmonar, insuficiência cardíaca ou hiponatremia, além de possíveis infecções ao redor dos locais das cânulas intravenosas ou subcutâneas que podem levar à celulite ou infecção sistêmica (VISVANATHAN; DENNIS; WHITELEY, 2015). Dito isto, é possível fazer uma analogia com os 4 D's como na antibioticoterapia (MALBRAIN; VAN REGENMORTEL; SAUGEL; DE TAVERNIER *et al.*, 2018):

- Droga: como dito anteriormente, fluidos devem ser considerados drogas com indicações, contraindicações e efeitos adversos.

- Dose: ao contrário da maioria das drogas, fluidos não possuem dosagem terapêutica padrão.

- Duração: O momento para iniciar a fluidoterapia é mais conhecida pelos clínicos do que o momento de interromper, portanto a duração também não é bem estabelecida.

- Descontinuação: O momento de retirar ou diminuir a infusão dos fluidos quando não são mais necessários é de extrema importância, visto que reduz assim o risco de sobrecarga de fluidos e seus efeitos adversos.

De acordo com o artigo publicado pela Lancet em 1989, sabe-se que a fluidoterapia tem sua origem em 1832 em Londres durante a epidemia de cólera (COSNETT, 1989), portanto, a terapia está presente na prática clínica por pelo menos 185 anos. Apesar disso, inicialmente a prática foi muito contestada pelas autoridades na época e a prática se tornou obsoleta pelos próximos 100 anos, no entanto, a

fluidoterapia parenteral se tornou uma das intervenções mais comuns administradas em emergências, centros cirúrgicos e unidades de terapia intensiva (FINFER; MYBURGH; BELLOMO, 2018). A autorização e adoção para o uso de fluidos cristaloides, como solução salina normal, Ringer lactato e solução de Hartmann, ocorreu após demonstrações de que eles não causaram hemólise aguda ou outra toxicidade aguda (LEE, 1981).

Quanto à composição, volume ideal, escolha e doses dos fluidos para pacientes em unidades de terapia intensiva, permanecem dúvidas e nota-se uma ausência de evidências de alta qualidade (CECCONI; HOFER; TEBOUL; PETTILA *et al.*, 2015; FINFER; MYBURGH; BELLOMO, 2018; ODDO; POOLE; HELBOK; MEYFROIDT *et al.*, 2018). No último *Guideline* disponibilizado sobre Manejo do AVE isquêmico agudo (2018), foi evidenciado que não há dados para orientar quanto ao volume e dose de fluidos, além de não ter estudos que comparassem diferentes tonicidades de fluidos após AVE (POWERS; RABINSTEIN; ACKERSON; ADEOYE *et al.*, 2018).

3.1 Equação de Starling

A prática clínica vem utilizando a equação de Starling para o uso de fluidoterapia pelo menos pelos últimos 75 anos (MALBRAIN; LANGER; ANNANE; GATTINONI *et al.*, 2020). De acordo com este modelo, o fluido deixa a vasculatura na extremidade arterial do leito capilar (onde o gradiente de pressão hidrostática excede o gradiente de pressão osmótica) e entra novamente na extremidade venosa do leito capilar (onde, como resultado de perda de fluido, a pressão hidrostática será menor e a pressão osmótica maior). No entanto, grande parte dessa teoria é inconsistente com os dados de ensaios clínicos e entendimento emergente do papel da camada de glicocálice endotelial (MALBRAIN; LANGER; ANNANE; GATTINONI *et al.*, 2020). As antigas crenças de que o líquido entra novamente na circulação no leito venoso pós-capilar e que essa reabsorção de líquido pode ser aumentada pela administração de fluidos que aumentam a pressão osmótica foram agora descartadas (WOODCOCK; WOODCOCK, 2012).

O modelo original de Starling foi desenvolvido de acordo com um experimento realizado com cão, na qual inicialmente foi injetado solução salina isotônica na pata traseira e o sangue perfundido através do membro se tornou hemodiluído, portanto a

salina foi absorvida pela vasculatura. Já quando foi aplicado soro sanguíneo em vez de solução salina o líquido não foi absorvido pela vasculatura (STARLING, 1896). Com a evolução das técnicas experimentais e de medição, esse modelo de fluxo de fluido foi substituído, e um modelo alternativo, que pode ser explicado pelo conhecimento da estrutura e função do glicocálice endotelial, agora prevalece (LEVICK; MICHEL, 2010).

A camada endotelial de glicocálice é o fator determinante da permeabilidade da membrana, representada pelo coeficiente de reflexão σ nas equações de Starling. Essa camada é uma teia de glicoproteínas ligadas à membrana e proteoglicanos associados, encontrados no lado luminal das células endoteliais vasculares. O glicocálice consiste em uma camada interna densa de matriz com glicoproteínas aderidas à membrana de até 200-300 nm de espessura, que formam a barreira seletiva primária para macromoléculas plasmáticas. Uma camada externa menos densa se estende por um ou mais micrômetros para o lúmen do vaso, formando uma microestrutura que suporta o movimento dos glóbulos vermelhos. O espaço subglicocálice produz uma pressão osmótica que é o principal determinante do fluxo transcapilar de fluido. O líquido do espaço intersticial entra na circulação através de um pequeno número de poros grandes, mas a principal via pela qual o líquido intersticial retorna à circulação é a linfa. Ambas as barreiras endoteliais e glicocálix são moduladas por mediadores inflamatórios, agentes estabilizadores endoteliais e forças físicas na parede vascular (FINFER; MYBURGH; BELLOMO, 2018).

A biologia da camada endotelial de glicocálice continua não compreendida completamente, embora novas e emergentes pesquisas estejam destacando os papéis importantes dos mediadores, como esfingosina-1-fosfato e angiopoietina 2, na regulação da estrutura do glicocálice e permeabilidade vascular na saúde e na doença (CURRY, 2017; LUKASZ; HILLGRUBER; OBERLEITHNER; KUSCHE-VIHROG *et al.*, 2017). Danos ao glicocálice, como ocorre em condições inflamatórias localizadas ou sistêmicas, levam ao extravasamento de fluido. A permeabilidade da camada endotelial de glicocálice e, portanto, o potencial para desenvolver edema intersticial também varia substancialmente entre os sistemas orgânicos (FINFER; MYBURGH; BELLOMO, 2018).

Dessa forma, a teoria revisada de Starling traz implicações clínicas de que o efeito poupador de volume dos fluidos de reanimação coloidais é muito menor do que se acreditava originalmente, e isso é verdadeiro na presença de inflamação local ou

sistêmica. Com essas novas informações, há uma boa base fisiológica para reavaliar a eficácia de diferentes fluidos em pacientes criticamente enfermos, no qual na maioria das vezes estão associados à perda da estrutura e função do glicocálice endotelial (FINFER; MYBURGH; BELLOMO, 2018).

3.2 Tipos de fluidos

Os fluidos foram classicamente divididos em 2 grupos: cristaloides e coloides, termos introduzidos por Thomas Graham (Professor de Química, University College London, 1836-1855) muito antes de os fluidos intravenosos serem amplamente utilizados na prática clínica (GRAHAM, 1861).

Cristaloide foi usado para descrever soluções como sal, açúcar e ureia que podiam ser cristalizadas com facilidade. Colóide foi usado para descrever soluções não cristalizáveis (como aquelas contendo gelatina, goma, albumina de ovo, amido e dextrina) que formaram massas de goma quando evaporadas à secura, difundidas com extrema lentidão e não passa através das membranas dos animais (FINFER; MYBURGH; BELLOMO, 2018).

Cristaloides são agora comumente definidos como soluções de íons que são capazes de passar através de membranas semipermeáveis. Eles são mais baratos do que os coloides e são os fluidos mais comumente usados em todo o mundo, têm uma vida útil longa e estão comumente disponíveis comercialmente em recipientes de polímero estéril de 500 ml ou 1 l biocompatíveis (FINFER; MYBURGH; BELLOMO, 2018).

Com exceção das soluções de glicose pura, os cristaloides contêm sódio, cloreto e outros ânions que determinam sua tonicidade em relação ao fluido extracelular. Essas propriedades físico-químicas são determinantes importantes tanto da eficácia do fluido para a expansão do volume vascular quanto de seu potencial de toxicidade. A teoria fisiológica tradicional sustenta que a distribuição de cristaloides infundidos nos compartimentos intracelular e extracelular (incluindo plasma) é determinada por sua concentração de sódio (FINFER; MYBURGH; BELLOMO, 2018).

Quando infundidos, os cristaloides com concentração de sódio próxima à do líquido intravascular (140 mmol/l) produzem um aumento transitório do volume intravascular antes de se equilibrar com o líquido extracelular. Cristaloides podem ser usados como fluidos de reanimação (para aumentar ou manter o volume

intravascular) ou como fluidos de manutenção (para manter a hidratação e o equilíbrio eletrolítico básico) em pessoas incapazes de tolerar a administração enteral de fluidos (LEE, 1981). Os cristaloides mais comumente usados para ressuscitação com fluidos solução salina normal e soluções salinas tamponadas ou balanceadas. Idealmente, esses fluidos possuem também glicose ou dextrose para prevenir uma possível cetose por inanição (FINFER; MYBURGH; BELLOMO, 2018).

Nesse contexto, soluções salinas isotônicas (NaCl 0,9%) são os fluidos mais utilizados na prática clínica (DONG; YAN; SONG; ZHOU; CHEN, 2022); no entanto, pode induzir acidose metabólica hiperclorêmica e consequentemente hipercalemia (ARONSON; GIEBISCH, 2011; EISENHUT, 2006; MODI; VORA; PARIKH; SHAH, 2012; PFORTMUELLER; FLEISCHMANN, 2016). Sabe-se que as soluções hipotônicas são excretadas de forma mais eficaz pelos rins do que as soluções isotônicas (LOBO; STANGA; SIMPSON; ANDERSON *et al.*, 2001; REID; LOBO; WILLIAMS; ROWLANDS; ALLISON, 2003), resultando em menor retenção de sódio e água e um balanço hídrico mais negativo, sugerindo assim que as soluções hipotônicas podem ter efeitos protetores nos rins (VAN REGENMORTEL; DE WEERDT; VAN CRAENENBROECK; ROELANT *et al.*, 2017; VAN REGENMORTEL; HENDRICKX; ROELANT; BAAR *et al.*, 2019; VAN REGENMORTEL; LANGER; DE WEERDT; ROELANT *et al.*, 2022; VAN REGENMORTEL; MOERS; LANGER; ROELANT *et al.*, 2021).

Por outro lado, outros estudos demonstraram que a solução hipotônica pode induzir hiponatremia, inflamação e edema de órgãos distais (BAEZ; CHIRIO; PISULA; SEMINARIO *et al.*, 2023; GOSLING, 2003). Atualmente, soluções hipertônicas são usadas para reduzir o edema cerebral e diminuir a pressão intracraniana (COOK; MORGAN JONES; HAWRYLUK; MAILLOUX *et al.*, 2020), mas estudos destacam o risco de hipernatremia grave, estimulam a liberação de citocinas pró-inflamatórias das células epiteliais (SCHWARTZ; GUAIS; POOYA; ABOLHASSANI, 2009), infecção do trato urinário e disfunção renal, que pode aumentar a mortalidade (AIYAGARI; DEIBERT; DIRINGER, 2006; BULGER; MAY; BRASEL; SCHREIBER *et al.*, 2010; DARMON; TIMSIT; FRANCAIS; NGUILE-MAKAO *et al.*, 2010; FROELICH; NI; WESS; OUGORETS; HARTL, 2009; HUANG; STUCKY; DIMICK; TREAT *et al.*, 1995). No entanto, até o momento, o impacto de diferentes fluidos com concentrações variáveis de sódio no cérebro, mas eventualmente também nos

órgãos distais, permanece obscuro em pacientes com AVE (POWERS; RABINSTEIN; ACKERSON; ADEOYE *et al.*, 2018).

4. HIPÓTESE

Dados recentes de voluntários saudáveis e pacientes submetidos à cirurgia torácica eletiva mostraram que a administração de fluidos hipotônicos resultou em menor quantidade de cloreto de sódio e conseqüentemente de retenção de água e um balanço hídrico mais negativo (HENDRICKX; VAN VLIMMEREN; BAAR; VERBRUGGHE *et al.*, 2017; VAN REGENMORTEL; DE WEERDT; VAN CRAENENBROECK; ROELANT *et al.*, 2017), além de estudos observacionais que compararam a infusão de fluidos isotônicos e hipotônicos e encontraram maior risco de morte, injúria renal aguda e complicações cirúrgicas em pacientes na qual foram administrados fluidos isotônicos (SHAW; BAGSHAW; GOLDSTEIN; SCHERER *et al.*, 2012; YUNOS; BELLOMO; HEGARTY; STORY *et al.*, 2012). Considerando essas informações, a hipótese deste projeto é que soluções hipotônicas, comparadas às soluções isotônicas e hipertônicas, bem como à glicose a 5%, quando administradas nas primeiras 3 horas após o AVEi, proporcionariam neuroproteção sem causar danos pulmonares e renais.

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo Geral

Avaliar a eficácia de fluidos com diferentes tonicidades (NaCl: 0,0%, 0,45%, 0,9% e 1,5%) no que tange aos efeitos em órgãos distais, como cérebro, pulmão e rim em modelo de AVE isquêmico focal.

5.2 Objetivos Específicos

- Analisar os eletrólitos e osmolaridade no plasma;
- Analisar a função renal e pulmonar;
- Analisar a histologia de cérebro, pulmão e rim;
- Analisar a inflamação no cérebro, pulmão e rim;
- Analisar a estrutura do endotélio cerebral, pulmonar e renal;

- Analisar a imunohistoarquitetura do cérebro;
- Analisar a bioquímica no plasma e na urina.

6. MATERIAIS E MÉTODOS

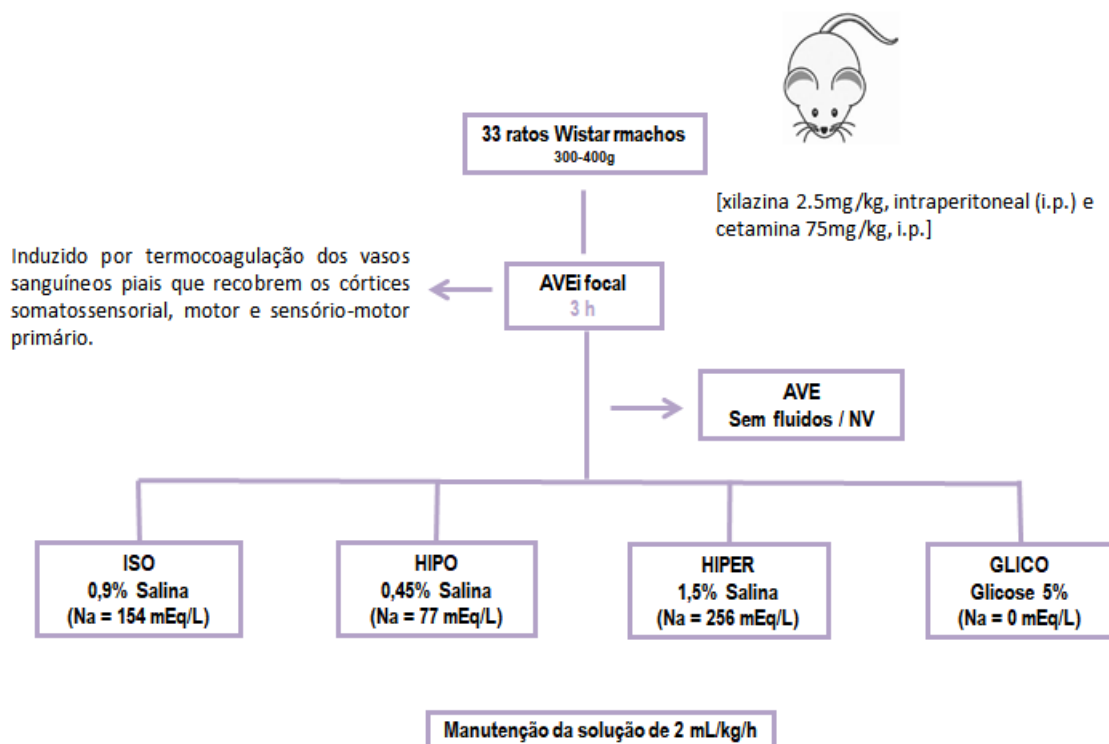
Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética com Uso de Animais (CEUA) do Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho (IBCCF), do Centro de Ciências da Saúde (CCS) da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ) sob número de parecer: 013/21.

6.1 Desenho experimental

Trinta e três Wistar machos (peso corporal, $390 \pm 4g$) foram submetidos inicialmente a indução do acidente vascular encefálico isquêmico focal por termocoagulação dos vasos sanguíneos pial da região dos córtices somatosensoriais, motores e sensorio-motores primários (SAMARY; PELOSI; SILVA; ROCCO, 2016).

Após 3 horas foram alocados aleatoriamente em cinco grupos:

- ISO – 0,9% salina Na = 154 mEq/L (n=7)
- HIPO – 0,45% salina Na = 77 mEq/L (n=7)
- HIPER – 1,5% salina Na = 256 mEq/L (n=7)
- GLICO – Glicose 5% Na = 0 mEq/L (n=7)
- AVE, sem fluidos/NV – grupo que foi submetido somente a indução do AVE isquêmico focal, portanto não recebeu fluidos e não foi submetido a ventilação mecânica (NV: não ventilado), configurando assim um controle (n=5)



Fluxograma 1: Desenho experimental. AVEi - acidente vascular encefálico isquêmico; i.p - intraperitoneal; NV - não ventilado; ISO – fluido isotônico; HIPO – fluido hipotônico; HIPER – fluido hipertônico; GLICO – glicose.

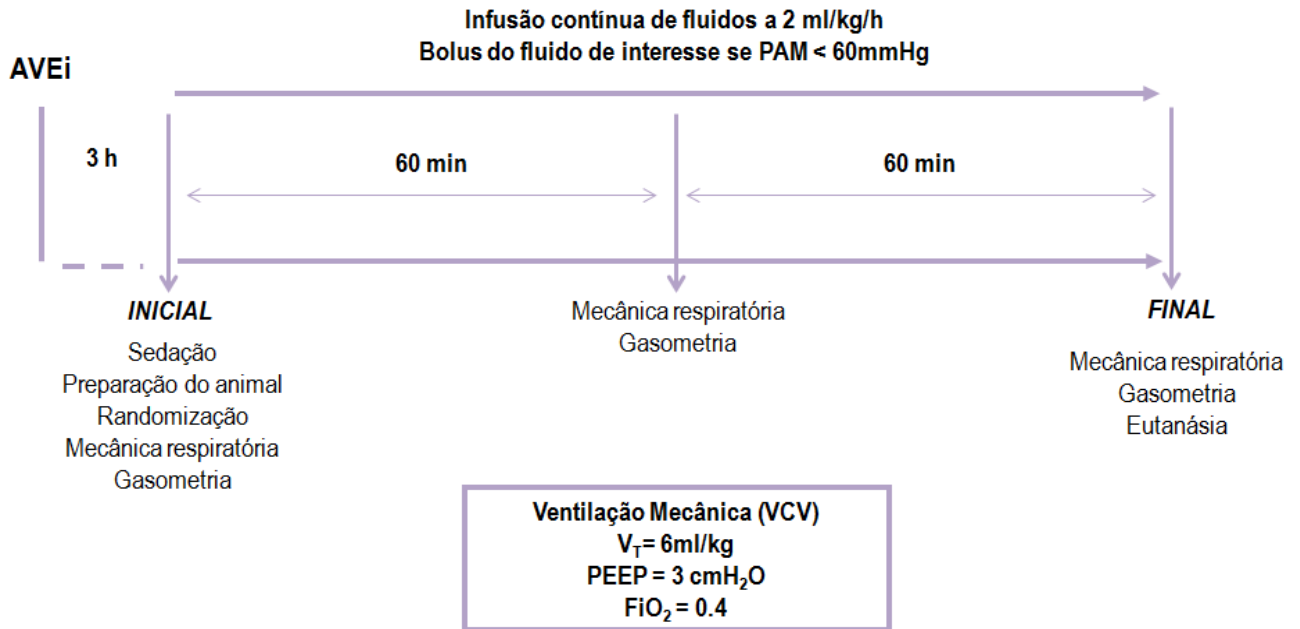
6.2 Composição dos fluidos

Fluidos	ISO 0,9% NaCl	HIPO 0,45% NaCl	HIPER 1,5%NaCl	GLICO 0%NaCl
Na (mEq/L)	154	77	256	-
Cl (mEq/L)	154	77	256	-
Glicose (g/L): total	1g/kg/dia: 0,02	1g/kg/dia: 0,02	1g/kg/dia: 0,02	1g/kg/dia: 0,02
pH esperado	4.5	4.3	4.5	4.2

Tabela 1: Composição dos fluidos. ISO – fluido isotônico; HIPO – fluido hipotônico; HIPER – fluido hipertônico; GLICO – glicose.

6.3 Linha do tempo

Trata-se de um estudo experimental randomizado.



Fluxograma 2: Linha do tempo. AVEi - acidente vascular encefálico isquêmico; PAM - pressão arterial média; VCV - ventilação controlada a volume; V_t - *tidal volume*/volume corrente. PEEP – *positive end expiratory pressure*/pressão expiratória final positiva; FiO_2 – fração inspiratória de oxigênio.

6.4 Animais: Cuidados Iniciais

Todos os ratos receberam cuidados em relação a sua utilização e proteção de animais de laboratório em conformidade com os Princípios de Cuidados de Animais de Laboratório de acordo com as normas da lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, formulado pela Sociedade Nacional de Pesquisa Médica e o Guia da Academia Nacional de Ciências dos Estados Unidos para o Cuidado e Uso de Animais de Laboratório.

Foram utilizados ao todo 28 ratos (*Rattus norvegicus albinus*, Rodentia mammalia – Berkenhauout, 1769) adultos jovens, da variedade albina, linhagem Wistar, isogênicos, machos, com média de idade de 10 semanas e peso entre 300-400 g, clinicamente saudáveis, provenientes do biotério do Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, da UFRJ.

Os animais foram mantidos nas instalações para cuidados de animais do

Laboratório de Investigação Pulmonar do IBCCF, da UFRJ. Todas as análises de marcadores biológicos e histopatológicos foram realizadas de forma encoberta.

6.5 Protocolo Experimental

6.5.1 Procedimento Cirúrgico

Os ratos Wistar foram anestesiados (xilazina 2,5 mg.kg⁻¹, intraperitonealmente (i.p.), cetamina 75 mg.kg⁻¹, i.p. e diazepam 10 mg.kg⁻¹, i.p) e depois foi realizada uma neurocirurgia com isquemia induzida por termocoagulação de vasos sanguíneos piais que recobrem os córtices somatossensoriais, motores e sensório-motores primários. Ao final da cirurgia, foi feito tramadol 10mg.kg⁻¹ subcutâneo como analgésico.

Os experimentos (cirurgia e infusão de fluidos) foram iniciados quando em ausência de resposta ao estímulo algico e ao rápido clampeamento da cauda (BAZIN; CONSTANTIN; GINDRE, 2004). O nível de sedação dos animais foi analisado durante todo o período de experimentação, se necessário, uma complementação de anestésico foi realizada.

6.5.2 Infusão de fluidos

Após 3 horas do procedimento cirúrgico, todos os animais encontravam-se claramente despertos. Então, foram pré medicados novamente por meio da administração intraperitoneal (i.p.) de cetamina (100 mg/kg) e midazolam (2mg/kg). Após a sedação inicial para as manipulações, a veia da cauda foi puncionada com um jelco (24G; Becton, Dickinson e Company, Nova Jersey, NJ, EUA).

Ao atingir adequado plano anestésico, levando em conta os mesmos parâmetros do procedimento cirúrgico, os animais foram posicionados em decúbito dorsal, sendo os membros fixados por esparadrapo. Os membros superiores foram mantidos em abdução a 90 graus em relação ao corpo e os membros inferiores estendidos em diagonal.

Feito isto, então foi realizada a traqueostomia através da realização de uma pequena incisão longitudinal mediana de 2 cm na região anterior do pescoço do animal, precedida por infiltração de 1ml de lidocaína 1%. Os tecidos adjacentes foram divulsionados até que a traqueia ficasse exposta, quando foi realizada incisão transversal entre dois anéis fibrosos para a introdução de uma cânula de

traqueostomia para pequenos animais. Pela traqueostomia foi introduzido 1 cm de um tubo de polietileno (PE-240, Intramedic®, Clay-Adams Inc., Nova York, EUA) com 6,5 cm de comprimento e 1,7 mm de diâmetro interno. O tubo foi fixado na porção proximal da traqueia por um fio de algodão 3-0. Além disso, foi aplicado via venosa o bloqueador neuromuscular brometo de vecurônio (2 mg/kg).

Então os animais foram ventilados mecanicamente (Servo-I; MAQUET, Solna, Suécia) em modo de volume controlado (VCV) com *tidal volume*/volume corrente (V_T)=6ml/kg, frequência respiratória (FR)= 80irpm, fração inspirada de oxigênio (FiO_2) = 0,4 e pressão expiratória final positiva (PEEP) = 3cmH₂O. O fluxo de ar e as pressões das vias aéreas e pressão esofágica foram continuamente registrados através de pneumotacógrafo para pequenos animais e cateter de polietileno (PE 240) de 20 cm de comprimento e 1,7mm de diâmetro interno no esôfago conectada a um transdutor de pressão líquido (UT-PL-300, SCIREQ, Montreal, Canadá) já que as variações da pressão no terço inferior do esôfago refletem as variações da pressão intrapleural (Ppl) e, portanto, da pressão da parede torácica (Pw)(MILIC-EMILI; MEAD; TURNER; GLAUSER, 1964), respectivamente. A resistência das vias aéreas e a elastância pulmonar estática foram calculadas pelo método de oclusão ao final da inspiração.

Vale ressaltar que essa forma de medir fluxo aéreo (pneumotacógrafo), além de bem simples, é adequada, visto que, em animais de pequeno porte, os fluxos baixos e as dimensões traqueais reduzidas são responsáveis pela existência de fluxo laminar e, portanto, o fluxo aéreo pode ser medido de acordo com a lei de Poiseuille, em que a diferença de pressão entre as saídas laterais do pneumotacógrafo é proporcional ao V' . A calibração dos transdutores de pressão foi realizada antes de cada experimento para assegurar a confiabilidade do registro. Também foi realizada a monitorização da temperatura corpórea por meio de termômetro retal. A temperatura corpórea foi mantida entre $37,5^\circ \pm 1^\circ\text{C}$ por meio da utilização de foco cirúrgico aquecido e manta térmica.

Subsequentemente, um cateter de polietileno (PE-10) foi introduzido na artéria carótida direita para a retirada de amostra de sangue arterial e monitorização contínua da pressão arterial média (PAM) por meio de transdutor líquido (Utah Medical Products, Inc, Midvale, Utah, EUA) situado no mesmo nível do coração, sendo este conectado a monitor multiparâmetro (NetworkedLifeWindow 6000V; Digicare Animal Health, Boynton Beach, FL, EUA). Logo após a adaptação do animal

ao ventilador mecânico, foi retirada amostra de sangue arterial (300 µl) utilizando uma seringa de insulina heparinizada e introduzida no analisador de gases (Radiometer ABL80 FLEX, Copenhagen NV, Dinamarca) para medição de pressão parcial de oxigênio arterial (PaO₂), pressão parcial de dióxido de carbono arterial (PaCO₂), pH arterial (pHa), bicarbonato (HCO₃) e eletrólitos como sódio (Na), potássio (K), cálcio (Ca) e cloreto (Cl).

Os animais foram monitorados de modo contínuo ao longo de todo o experimento quanto à PAM e temperatura retal bem como avaliação de adequado plano anestésico conforme descrito previamente.

Em seguida, os animais foram randomizados em seus respectivos grupos de acordo com o tipo de fluido a ser infundido (ISO, HIPO, HIPER ou GLICO). Vale ressaltar que não foram utilizados fluidos comerciais, os fluidos foram preparados de forma estéril através de cloreto de sódio e glicose 5% para análises e diluídos em água *milli-Q*. Uma vez que foi alocado em um determinado grupo, iniciou-se a infusão do respectivo fluido por 120 minutos, com uma taxa de infusão contínua de 2ml/kg/h. Bolus do fluido de interesse foi feito se hipotensão PAM < 60mmHg. Todos os agentes infundidos foram preparados a cada experimento com rigor asséptico e imediatamente administrados.

A partir do início do experimento com os animais já em ventilação mecânica, foram coletadas as informações de mecânica respiratória no momento INICIAL, ao meio (60 minutos de experimento) e ao FINAL do experimento (120 minutos), assim como a gasometria arterial.

Imediatamente após a mensuração da mecânica respiratória e ao final da infusão de fluidos (FINAL), foi administrada heparina (1.000 UI) na veia caudal, seguida 2 minutos depois por injeção intravenosa de tiopental sódico (100mg/kg, Cristália), foi realizada laparotomia para acesso à aorta e os animais foram eutanasiados com exsanguinação. O processo completo durou cerca de 5 minutos; o procedimento e a duração foram iguais em todos os animais.

Em todos os grupos, ao final do experimento:

- O pulmão esquerdo foi removido para análise histológica;
- O lobo pulmonar superior direito foi removido para análise de biologia molecular;
- O tecido cerebral correspondente à área perilesão foi removido para análise de biologia molecular;

- O cérebro foi removido para análise histológica;
- O rim direito foi removido para análise histológica;
- O rim esquerdo foi removido para análise de biologia molecular;
- A bexiga foi puncionada e a urina aspirada para análise de bioquímica;
- O sangue foi aspirado para análise bioquímica.

6.6 Análise pulmonar

6.6.1 Remoção dos pulmões

Após a injeção da heparina e da eutanásia, a traqueia foi ocluída ao final da expiração com fio de algodão. Para remoção dos pulmões o tórax foi aberto, a parede torácica anterior retirada, a porção abdominal do esôfago identificada e isolada, sendo presa com pinça hemostática e as estruturas do pescoço dissecadas, permitindo a liberação das vias aéreas. A pinça que prendia o esôfago foi delicadamente tracionada para cima, permitindo separar o bloco coração-pulmão das demais estruturas aderidas à parede torácica posterior. Com todas as estruturas individualizadas, a traqueia foi seccionada acima do local ocluído pelo fio de algodão, e o esôfago e o coração foram separados do conjunto por leve tração, restando, apenas, os pulmões e as vias aéreas.

6.6.2 Histologia Pulmonar

O pulmão esquerdo foi fixado em formol tamponado 10% e incorporado em parafina. Seções (3 μm de espessura) foram coradas com hematoxilina-eosina. Fotomicrografias com ampliações de $\times 100$, $\times 200$ e $\times 400$ foram obtidas de oito campos de visualização não-sobrepostos, por seção, usando um microscópio de luz (Olympus BX51, Olympus Latin America Inc., Brasil).

O edema pulmonar e colapso alveolar foram quantificados usando um sistema de pontuação ponderada (UHLIG; SILVA; ORNELLAS; SANTOS *et al.*, 2014). Resumidamente, pontuações de 0 a 4 foram usadas para representar edema e colapso alveolar, com 0 representando nenhum efeito e 4 para gravidade máxima. Além disso, a extensão de cada característica pontuada por campo de visão foi determinada em uma escala de 0 a 4, sendo 0 para nenhuma evidência visível e 4 para envolvimento completo. As pontuações foram calculadas como o produto da

gravidade e extensão de cada característica, em um intervalo de 0 a 16 (DA SILVA; BESSA; ROCHA; CARVALHO *et al.*, 2023; SAMARY; RAMOS; MAIA; ROCHA *et al.*, 2018; SOUSA; FERNANDES; CRUZ; ANTUNES *et al.*, 2021).

6.7 Análise cerebral

6.7.1 Histologia cerebral

O cérebro foi fixado em paraformaldeído a 4% por 24 horas e cortes coronais foram cortados em 50 µm. Após exame macroscópico, a fásia dentada, o plexo coroide e o córtex cerebral foram incluídos em parafina, seccionados com 5 µm de espessura (Leica RM2135 Leica Biosystem, São Paulo, Brasil) e corados com hematoxilina-eosina. A imunohistoquímica padrão foi realizada. Resumidamente, a recuperação antigênica de cortes desparafinizados (5 µm de espessura) foi realizada em câmara úmida com pepsina por 30 minutos a 37°C. A biotina endógena foi bloqueada com peróxido de hidrogênio 10 vol, após lavagens com solução salina tamponada com Tris (TBS; 0,2 M), e foi imunocorada com anticorpos primários contra Versican, sc-2583, (diluição 1:100) Sindecano sc-25831, (1: diluição 50), Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, Ca., e Decorina, ab-175404 (diluição 1:400), Abcam. Os anticorpos foram detectados utilizando complexo avidina-biotina (kit Vectastain Elite ABC; Vector Laboratories, Burlingame, CA) e 3'3' - tetracloridrato de diaminobenzidina-hidratado (Sigma).

A expressão de versicano, sindecano, decorina e hialuronano foi quantificada utilizando uma escala para representar a intensidade (0: nenhum efeito; 4: intensidade máxima). A extensão de cada característica foi classificada como 0 para ausência de aparência e 4 para envolvimento completo. As pontuações finais foram calculadas como o produto da intensidade e extensão de cada característica, variando de 0 a 16. A imuno-histoarquitetura cerebral acumulada variou de 0 a 16 (DA SILVA; BESSA; ROCHA; CARVALHO *et al.*, 2023).

6.8 Análise renal

6.8.1 Histologia renal e bioquímica urinária e plasmática

A partir de lamina coradas com hematoxilina-eosina, pontuações de 0 a 4 foram usadas para representar dano celular tubular, definido como perda da borda

em escova e tumefação celular associada ao edema intersticial, com 0 representando nenhuma evidência visível, 1 para lesão presente em > 1-25% da área do tecido, 2 para > 25-50%, 3 para 50-75% e 4 para lesão presente em mais de 75% da área do tecido (BLANCO; MACHADO; CASTRO; ANTUNES *et al.*, 2023).

Foram coletadas amostras de urina, clarificadas por centrifugação (10 mil rpm por 10 min), e o sobrenadante utilizado para determinação dos níveis de osmolaridade, creatinina e proteína. Amostras de plasma também foram obtidas para determinação dos níveis de creatinina, ureia, lactato e sódio. A osmolaridade da urina e do plasma foi medida no Advanced Micro Sample Osmometer 3320 (Advanced Instruments, 155 Norwood, MA). A concentração de proteína urinária foi determinada pelo método PirogallolRed (kit Labtest nº 202203; Lagoa Santa, MG, Brasil). As concentrações de creatinina urinária foram medidas pelo método do picrato alcalino utilizando kit comercial (kit Labtest nº 202302). Os níveis de sódio foram analisados pelo teste fotométrico colorimétrico utilizando kit comercial (Labtest, kit nº 301). Os parâmetros funcionais obtidos foram utilizados para calcular a relação entre proteína urinária e creatinina (UPCr) (FISHER; HSU; VITTINGHOFF; LIN; BANSAL, 2013).

6.9 Biologia Molecular

6.9.1 Extração de RNA Total

As amostras destinadas a análise de biologia molecular foram congeladas em nitrogênio líquido, armazenadas em criotubo no freezer a -80°C até a análise da expressão pelo método de RT-PCR em tempo real.

O RNA total foi extraído dos tecidos congelados usando-se o sistema de isolamento de RNA total (Promega Corporation, Fitchburg, Wisconsin, USA). As amostras de tecido pulmonar foram homogeneizadas em TRIzol® Reagent (Gibco BRL - Life Technologies, Rockville, MD, EUA), permitindo a separação do RNA total. O TRIzol® Reagent é uma solução monofásica de fenol e de guanidinaisotilcianato, correspondendo a uma variação do método desenvolvido por Chomczynski e Sacchi em 1987 (CHOMCZYNSKI; SACCHI, 1987).

Após a extração, o RNA total precipitado foi adicionado água tratada com dietilpirocarbonato (DEPC), inativador de RNases, (SIGMA, St Louis, MO, EUA). A concentração das amostras de RNA total (pulmonar e adiposo) foi determinada por espectrofotometria no Nanodrop (ND-ONE-W, ThermoScientific™, Waltham, MA,

EUA), no comprimento de onda de 260 nanômetros (SAMBROOK; FRITSCH; MANIATIS, 1989), e a pureza das amostras foi determinada pela razão entre os comprimentos de onda 260 e 280 nanômetros. Somente as amostras com razão maior que 1,9 foram utilizadas. A integridade das amostras foi verificada por meio de eletroforese em gel de agarose a 1% contendo 0,5 mcg.mL⁻¹ de brometo de etídeo. O gel foi submerso em tampão TAE 1X (Tris Acetato de EDTA) e a eletroforese realizada a 100 Volts por aproximadamente 20 minutos.

6.9.2 Transcrição Reversa

O ácido desoxirribonucleico complementar (DNAc) foi sintetizado a partir do RNA total utilizando High-CapacitycDNA Reverse Transcription Kit (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). Para transcrição reversa, 2000 ng de RNA total foram utilizados para cada reação, contendo 2 µl de 10x RT Random Primers, 0,8 µl de 25XdNTP Mix (100 mM), 2 µl de RT buffer, 1 µl de MultiScribe™ Reverse Transcriptase, 1 µl de RNaseInhibitor e água livre de nucleases para um volume final de 20 µl conforme protocolo do fabricante. O procedimento ocorreu a 25°C por 10 minutos, seguido de 37°C por 120 minutos, 85°C por 5 minutos e 4°C para inativar a reação da enzima. Após a transcrição reversa, foi obtido o DNAc, um ácido desoxirribonucleico (DNA) de fita simples que serviu de molde para o PCR

6.9.3 PCR em Tempo Real

A quantidade de DNAc correspondente a 62,5 ng de RNA foi selecionada e adicionada a uma placa de reação junto com uma mistura contendo os iniciadores específicos, água deionizada autoclavada e tampão SYBR Green PCR Master Mix (AppliedBiosystems, Framingham, EUA), que contém 100 mM KCl, 40 mM Tris-HCL pH 8,4; 0,4 mM de cada dNTP (dATP, dCTP, dGTP, dTTP), 50 U/mL Taq DNA polimerase, 6 mM MgCl₂ SYBR Green I e 20 nM fluoresceína. As amostras foram analisadas em duplicata.

A mistura do PCR foi pré-aquecida a 95°C por 2 minutos e então a 95°C por 2 minutos para desnaturação das fitas duplas de nucleotídeos, seguido de 40 ciclos de amplificação (95°C por 15 segundos; 60°C por 30 segundos). Todas as reações foram seguidas pela curva de dissociação em que o produto foi submetido a 95°C por

15 segundos e 60°C por 15 segundos, seguida da elevação gradual, em 20 minutos, da temperatura até 95°C, permanecendo por 15 segundos.

A fluorescência do SYBR Green foi medida ao final de cada ciclo para monitorar a quantidade do produto amplificado formado durante a ciclagem utilizando o equipamento ABI 7500 Real-Time PCR (AppliedBiosystems, Foster City, CA, EUA). O produto da amplificação foi checado em gel de agarose a 3,5% (CambrexBio Science Rockland) para verificação da banda única. O gene 36B4 foi utilizado como controle interno nas reações de amplificação (JOLKKONEN; PUURUNEN; KOISTINAHO; KAUPPINEN *et al.*, 1999).

Foi utilizado o método de quantificação relativa de RNAm, que descreve a diferença entre os níveis de expressão gênica (Cyclethreshold – Ct) do gene alvo, e do gene de referência (controle interno, 36B4), chamado de deltaCt (Δ Ct). O resultado foi expresso em relação ao grupo controle que não recebem os fluidos estudados e não foram ventilados mecanicamente (AVE). O delta deltaCt ($\Delta\Delta$ Ct) foi encontrado pela diferença entre os valores de Δ Ct e a média dos valores do grupo controle que não recebem os fluidos estudados e não foram ventilados mecanicamente (AVE). Uma vez encontrados tais valores, eles foram expressos como exponencial negativo na base dois, através do método 2- $\Delta\Delta$ Ct (PONCHEL; TOOMES; BRANSFIELD; LEONG *et al.*, 2003; SPIETH; SILVA; GARCIA; ORNELLAS *et al.*, 2015).

7. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Levando em consideração que os níveis de IL-1 β aumentaram de acordo com os níveis de osmolaridade e atingiram um tamanho de efeito de $d = 1,70$, assumindo uma proporção de tamanho de amostra de 1 e um poder estatístico (IL-1 $\beta = 0,8$) para identificar diferenças significativas ($\alpha = 0,05$), foram necessários 7 animais por grupo. O cálculo do tamanho da amostra foi feito no software G*Power (G*Power 3.1.9.2, Universidade de Düsseldorf, Alemanha).

O cálculo do tamanho da amostra foi baseado em estimativas de efeito obtidas em estudos anteriores em roedores usando configurações semelhantes (DE VASCONCELOS DOS SANTOS; DA COSTA REIS; DIAZ PAREDES; MORAES *et al.*, 2010). Os dados paramétricos foram expressos como média \pm DP e os dados não paramétricos como mediana (intervalo interquartil). As variáveis respiratórias e os

dados das trocas gasosas sanguíneas foram analisados por ANOVA two-way seguida do teste de comparações múltiplas de Holm-Šidák para comparação dos parâmetros entre os grupos e ao longo do tempo (INICIAL e FINAL). Os dados paramétricos post-mortem foram comparados com ANOVA unidirecional seguido pelo teste de Tukey para comparações múltiplas entre diferentes grupos. Os dados não paramétricos foram comparados com Kruskal-Wallis seguido de testes de comparações múltiplas de Dunn ($p < 0,05$). Todos os testes foram realizados utilizando GraphPadPrism v6.07 (GraphPad Software, La Jolla, CA, EUA). A significância foi estabelecida em $p < 0,05$.

8. RESULTADOS

Todos os animais completaram o experimento. No geral, um total de $5,4 \pm 0,5$ mL de fluidos foi administrado em todos os grupos (ISO $5,4 \pm 1,4$ mL, HIPO $4,5 \pm 2,4$ mL, HIPER $5,7 \pm 1,1$ mL, e GLUCO $5,8 \pm 0,7$ mL), $2,7 \pm 0,2$ mL do fluido de interesse ($1,3 \pm 0,6$ mL em bolus, se a PAM fosse inferior a 60 mmHg); e $2,7 \pm 0,3$ mL de sedação e bloqueador neuromuscular para manter a estabilidade hemodinâmica e conforto dos animais. A PAM apresentou efeito do tempo (tendendo a aumentar ao longo do experimento) em todos os grupos ($p=0,003$)

8.1 Pulmão

Não foram observadas diferenças na gasometria entre os grupos e ao longo do tempo (Tabela 2). A pressão de pico das vias aéreas, a pressão de platô e a *driving pressure* do sistema respiratório aumentaram ($p=0,012$, $p=0,010$ e $p=0,006$, respectivamente), enquanto o volume corrente diminuiu ($p=0,026$) ao longo do tempo. A mecânica não diferiu entre os grupos e ao longo do tempo (Tabela 3). Fotomicrografias representativas do parênquima pulmonar são mostradas em ampliação intermediária e alta (Figura 1A). Os grupos ISO e GLICO apresentaram histoarquitetura pulmonar preservada, com menor grau de colapso alveolar e edema em comparação aos demais grupos: HIPER vs. ISO $p=0,014$; HIPER vs. GLICO $p=0,001$; HIPO vs. GLICO $p=0,008$; e HIPER vs. HIPO $p=0,002$ e ISO vs. HIPO $p=0,007$ (Figura 1B). No tecido pulmonar, a IL-1 β foi maior no grupo HIPO, em comparação ao grupo ISO ($p=0,020$), a AQP-5 foi maior nos grupos ISO em

comparação ao GLICO ($p=0,010$), enquanto o VEGF também foi maior no grupo ISO em comparação aos grupos GLICO ($p=0,015$) (Figura 1C).

Tabela 2: Gasometria arterial

		ISO	HIPO	HIPER	GLICO	Efeito tempo	Efeitogrupo	Interação
pHa	INICIAL	7,34 ±	7,38 ±	7,37 ±	7,37 ± 0,06	p=0,328	p=0,455	p=0,506
		0,03	0,05	0,07				
	FINAL	7,36 ±	7,37 ±	7,31 ±	7,35 ± 0,08			
		0,05	0,05	0,09				
PaO₂ (mmHg)	INICIAL	168 ±70	142± 43	136 ± 51	140 ±62	p=0,450	p=0,790	p=0,858
	FINAL	169 ±17	143± 41	136± 31	126 ±31			
PaCO₂ (mmHg)	INICIAL	32 ± 4	27 ± 7	34 ± 8	32 ± 12	p=0,103	p=0,180	p=0,503
	FINAL	37 ± 7	38 ± 6	43 ± 11	33 ± 7			
HCO₃⁻ (mEq/l)	INICIAL	17 ± 3	16 ± 3	19 ± 4	19 ± 6	p=0,126	p=0,695	p=0,693
	FINAL	21 ± 3	22 ± 3	21± 3	19 ± 8			
BE (mEq/l)	INICIAL	-5 ± 6	-9 ± 3	-3± 4	-6 ± 5	p=0,790	p=0,321	p=0,102
	FINAL	-4 ± 2	-3 ± 3	-5± 3	-6 ± 7			

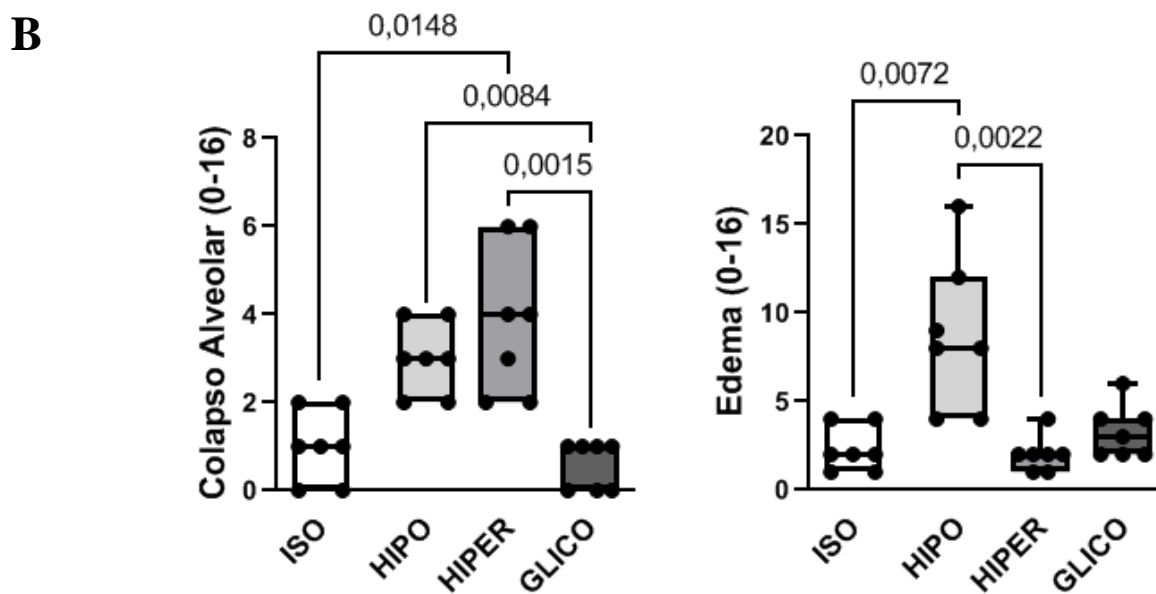
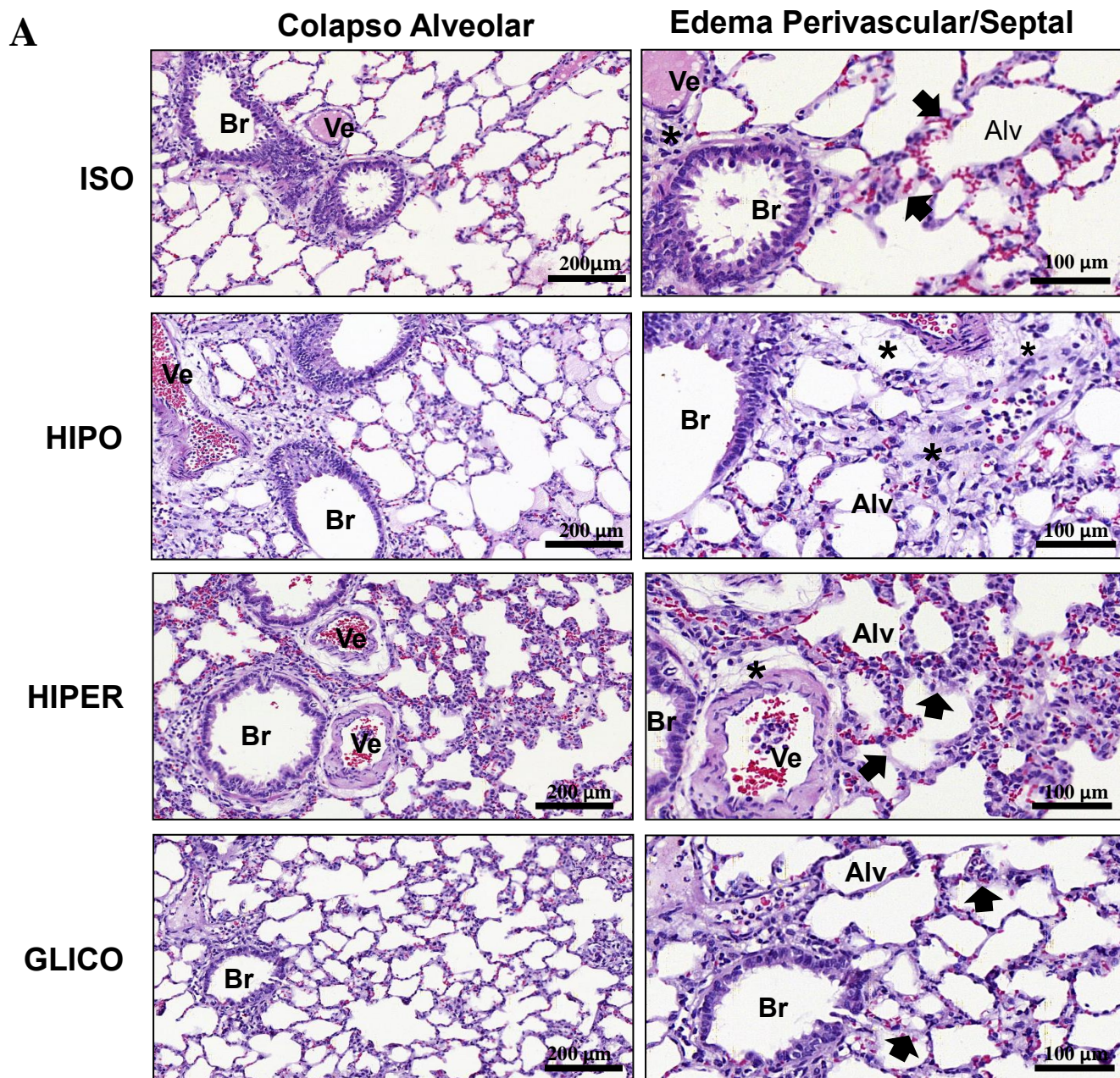
Variáveis da gasometria arterial no INICIAL (imediatamente após a randomização) e FINAL (final do experimento). ISO: fluido isotônico; HIPO: fluido hipotônico; HIPER: fluido hipertônico; GLICO: glicose; PaO₂: pressão parcial de oxigênio arterial; PaCO₂: pressão parcial arterial de dióxido de carbono; HCO₃⁻: bicarbonato; BE: excesso de base. As variáveis são apresentadas como média ± desvio padrão (DP) de 7 animais por grupo. Dados analisados por meio do teste ANOVA Two-way seguido do teste de comparações múltiplas de Holm-Šidák ($p<0,05$).

Tabela 3: Mecânica respiratória

		ISO	HIPO	HIPER	GLICO	Efeito tempo	Efeitogrupo	Interação
V_T (ml/kg)	INICIAL	6,7 ± 0,7	6,9 ± 0,5	6,2 ± 0,4	6,3 ± 0,8	p=0,026	p=0,142	p=0,737
	FINAL	6,4 ± 0,8	6,7 ± 0,4	5,8 ± 0,4	6,2 ± 0,5			
P_{pico,RS} (cmH₂O)	INICIAL	11,9 ± 2,7	12,5 ± 1,2	11,3 ± 0,8	13,2 ± 1,2	p=0,012	p=0,167	p=0,800
	FINAL	13,8 ± 2,1	14,5 ± 1,7	12,4 ± 10,7	12,9 ± 1,1			
P_{plat,RS} (cmH₂O)	INICIAL	9,6 ± 2,9	10,6 ± 1,4	9,2 ± 0,8	10,7 ± 0,9	p=0,010	p=0,416	p=0,838
	FINAL	11,3 ± 2,0	12,4 ± 1,6	10,1 ± 0,8	10,6 ± 0,8			
ΔP_{RS} (cmH₂O)	INICIAL	6,3 ± 3,6	7,2 ± 0,9	6,0 ± 0,8	7,6 ± 0,8	p=0,006	p=0,405	p=0,786
	FINAL	8,2 ± 1,8	9,5 ± 2,5	7,3 ± 0,6	8,1 ± 0,6			
PM(mJ/min)	INICIAL	124 ± 16	140 ± 23	129 ± 12	138 ± 26	p=0,337	p=0,544	p=0,461
	FINAL	142 ± 38	151 ± 21	131 ± 13	130 ± 22			

Mecânica respiratória em INICIAL (imediatamente após a randomização) e FINAL (final do experimento). ISSO: fluido isotônico; HIPO: fluido hipotônico; HIPER: fluido hipertônico; GLICO: glicose; VT: volume corrente; P_{pico,RS}: pico de pressão nas vias aéreas; P_{plat,RS}: pressão de platô das vias aéreas; ΔP_{RS}: *driving pressure* do sistema respiratório; PM: Potência Mecânica. As variáveis representam a média ± desvio padrão (DP) de 7 animais por grupo. Dados analisados pelo teste ANOVA Two-way seguido do teste de comparações múltiplas de Holm–Šidák (p<0,05).

Figura 1. Histologia pulmonar e biologia molecular



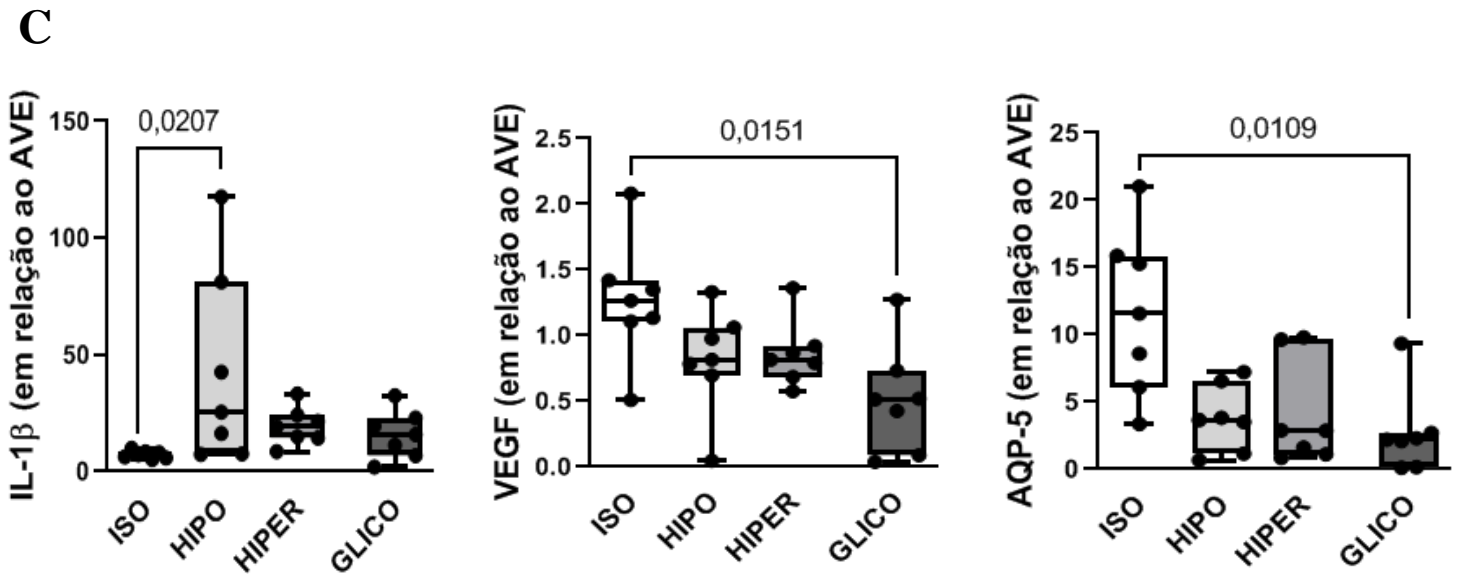
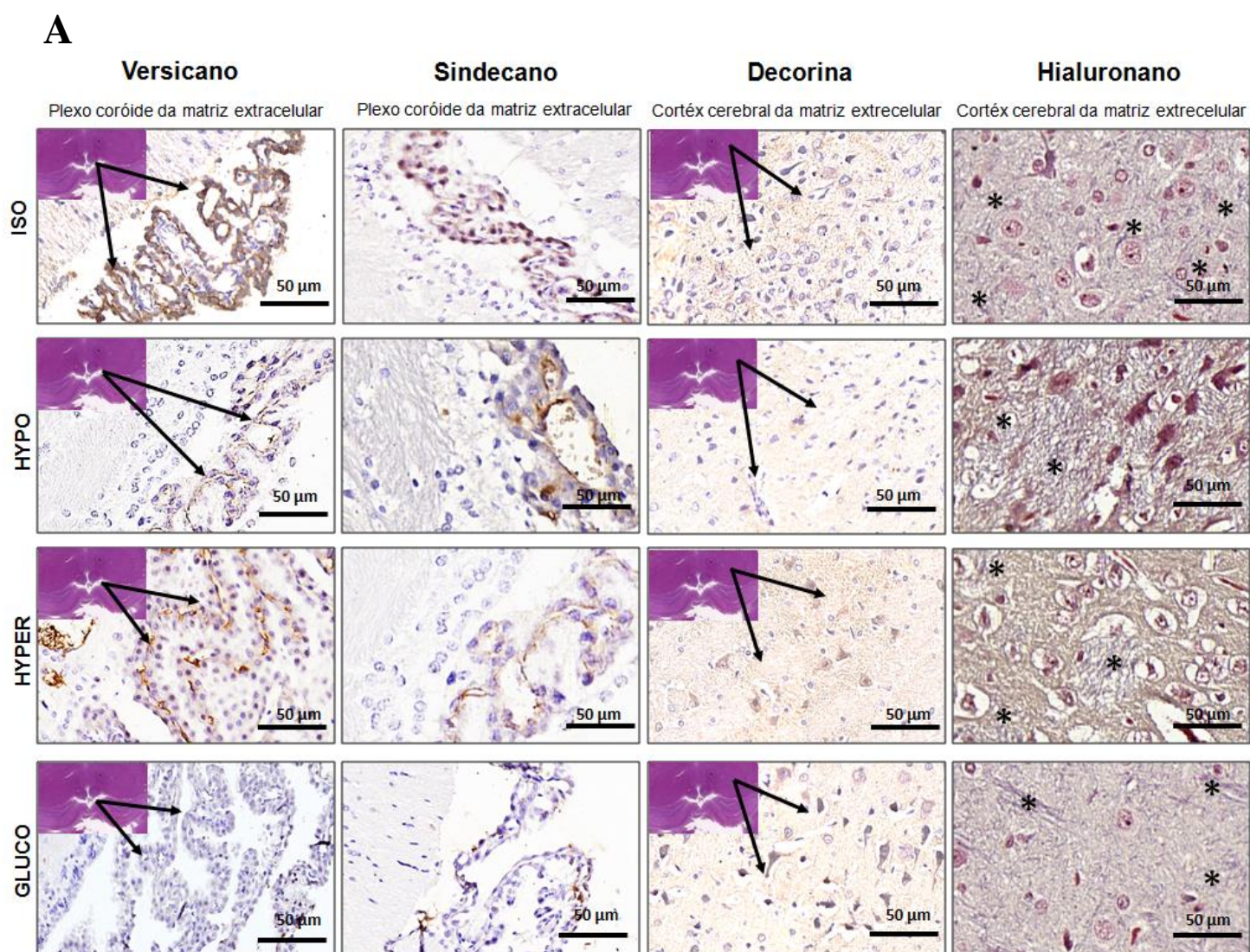


Figura 1. Painel A: Fotomicrografias do parênquima pulmonar. Os asteriscos representam edema perivascular e as setas representam edema alveolar. Br: bronquíolo; Ve: embarcações; Alv: alvéolos. Painel B: Quantificação de colapso alveolar e edema. Painel C: Expressão de mRNA de interleucina pulmonar (IL)-1- β , fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) e aquaporina-5 (AQP-5). ISO: fluido isotônico; HIPO: fluido hipotônico; HIPER: fluido hipertônico; GLICO: glicose. Os gráficos em caixa representam a mediana e o intervalo interquartil de 7 animais em cada grupo. As comparações foram realizadas pelo teste de Kruskal-Wallis seguido pelos testes de comparações múltiplas de Dunn ($p < 0,05$).

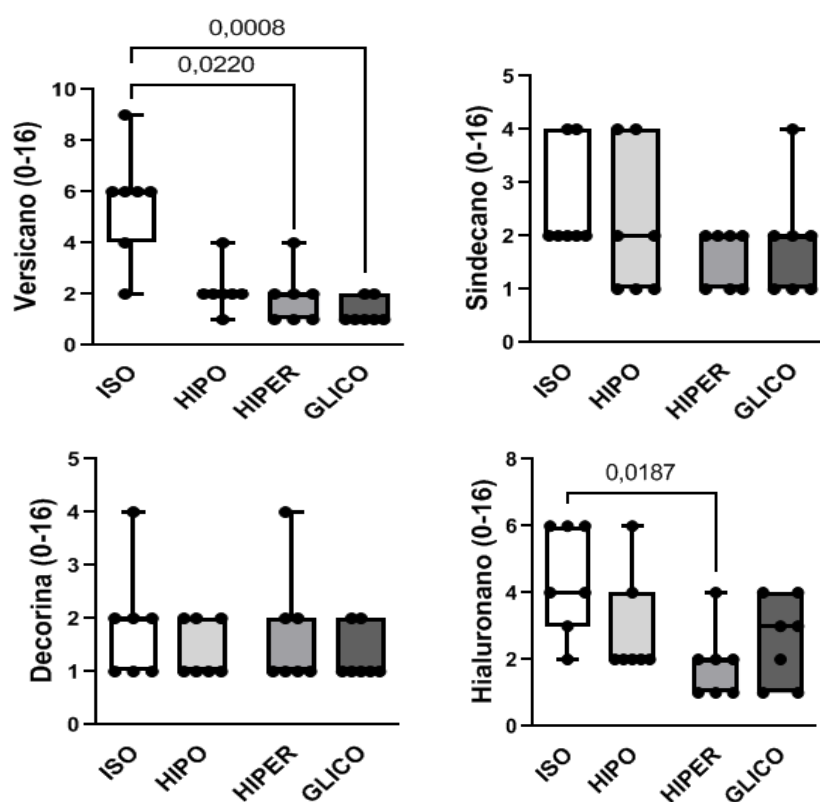
8.2 Cérebro

Fotomicrografias representativas do parênquima cerebral são mostradas na Figura 2A. Versicano aumentou no ISO, comparado aos grupos HIPER e GLICO ($p=0,0220$ e $p=0,0008$, respectivamente). Além disso, o hialuronano foi maior no ISO do que no HIPER ($p=0,0187$). Decorina e sindecano foram semelhantes em todos os grupos (Figura 2B). No tecido cerebral, a expressão de mRNA de IL-1 β aumentou no grupo HIPER em comparação ao GLICO ($p=0,012$), assim como no grupo ISO em comparação ao GLICO ($p=0,016$). A expressão de VCAM-1 foi maior no grupo HIPER em comparação ao GLICO ($p=0,023$) e ZO-1 foi maior no grupo HIPER em comparação ao GLICO ($p=0,006$) e HIPO ($p=0,013$) (Figura 2C).

Figura 1. Histologia cerebral e biologia molecular



B



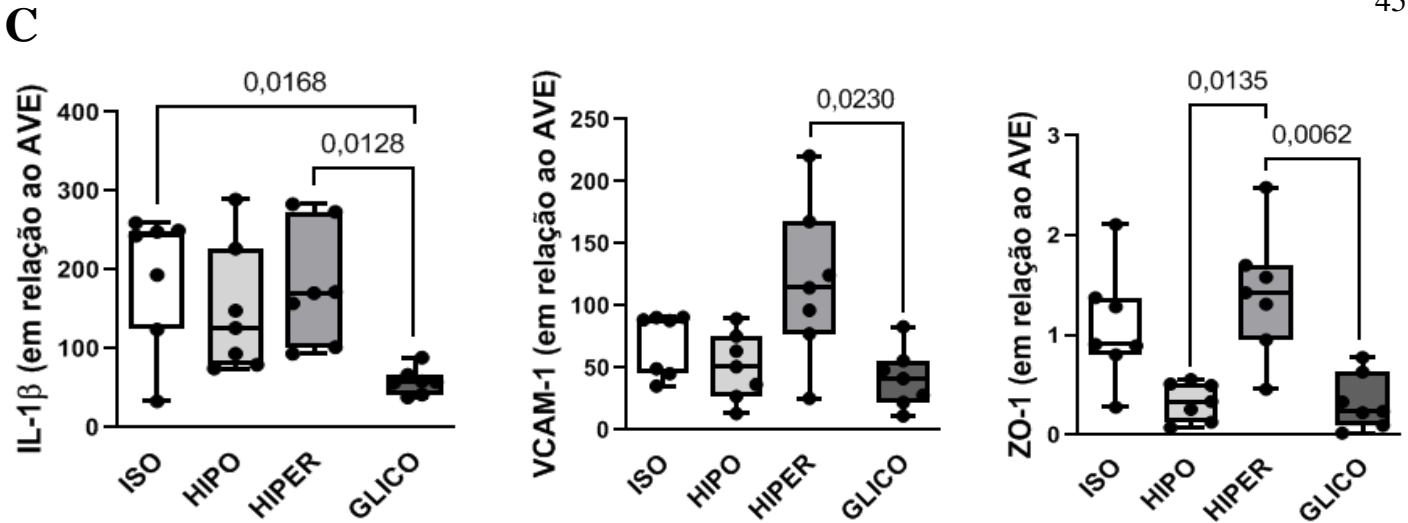


Figura 2. Painel A: Fotomicrografias do córtex cerebral e plexo coroide. Os asteriscos representam o padrão de organização estrutural corado em azul (hialuronano) na matriz extracelular do córtex cerebral. Painel B: Quantificação de versicano, sindecano, decorina, hialuronano e imuno-histoarquitetura cerebral cumulativa. Painel C: Expressão de interleucina cerebral (IL)-1- β , molécula de adesão celular vascular-1 (VCAM-1) e zônula oclusão-1 (ZO-1). ISO: fluido isotônico; HIPO: fluido hipotônico; HIPER: fluido hipertônico; GLICO: glicose. Os gráficos em caixa representam a mediana e o intervalo interquartil de 7 animais em cada grupo. As comparações foram realizadas pelo teste de Kruskal-Wallis seguido pelos testes de comparações múltiplas de Dunn ($p < 0,05$).

8.3 Rim

As concentrações de cloreto nas amostras de sangue diminuíram ao longo do tempo (27,6%) durante os experimentos em ISO, em comparação aos grupos HIPO, HIPER e GLICO ($p=0,031$, $p=0,001$ e $p=0,021$). Potássio, sódio e cálcio não diferiram ao longo do tempo (Figura 3). No FINAL, a osmolaridade, ureia, creatinina e lactato foram semelhantes em todos os grupos. No entanto, no FINAL, o sódio na urina foi menor nos grupos HIPO e GLICO do que no grupo HIPER e ISO ($p < 0,0001$), o sódio plasmático foi menor nos grupos HIPO e GLICO em comparação ao grupo HIPER ($p=0,019$ e $p=0,043$, respectivamente) (Tabela 4). O grupo HIPO apresentou maior osmolaridade ($p=0,002$) e menor relação proteína/creatinina urinária (UPCr) ($p=0,001$) concentrações urinárias, em comparação ao grupo HIPER. Em vez disso, o grupo HIPO apresentou maior concentração de creatinina na urina em comparação aos grupos ISO, HIPER e GLICO ($p=0,004$, $p < 0,0001$ e $p=0,003$, respectivamente). Os níveis de proteína na urina foram semelhantes em todos os grupos (Tabela 4). Fotomicrografias

representativas do rim são mostradas na Figura 4A. O grupo HIPER apresentou mais lesão na borda em escova, comparado aos grupos ISO e HIPO ($p=0,007$ e $p=0,032$, respectivamente), enquanto não foi observada diferença no edema renal (Figura 4B). No rim, a expressão de mRNA de IL-1 β e molécula de lesão renal-1 (KIM-1) foi semelhante em todos os grupos. Porém, a expressão de NGAL foi maior no grupo GLICO em comparação ao HIPO ($p=0,007$) (Figura 4C).

Figure 3. Variação dos eletrólitos ao longo do experimento.

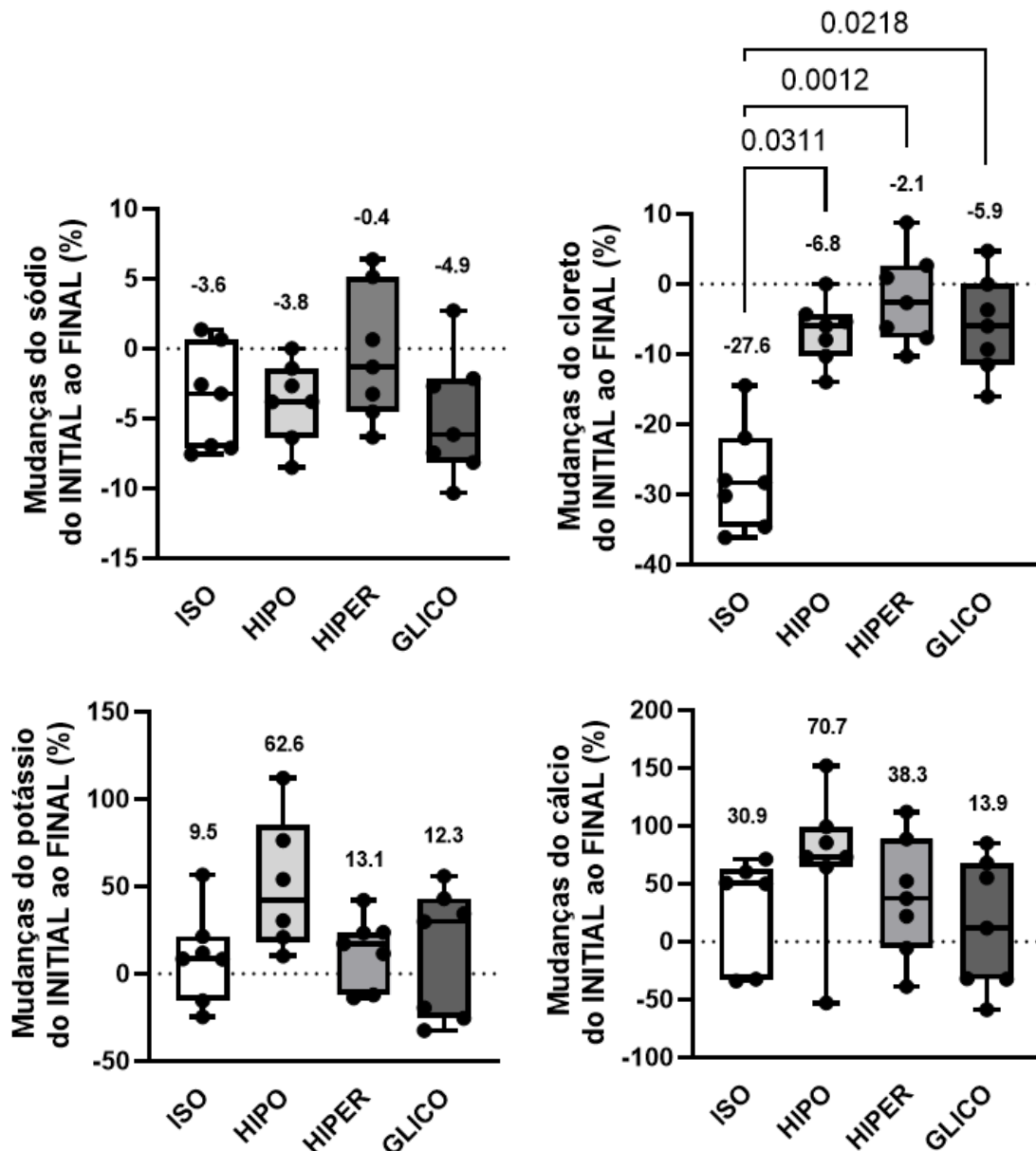


Figura 3. Variação percentual sérica de sódio, cloreto, potássio e cálcio desde INICIAL (imediatamente após a randomização) até FINAL (final do experimento). ISO: fluido isotônico; HIPO: fluido hipotônico; HIPER: fluido hipertônico; GLICO: glicose. Os gráficos em caixa representam a mediana e o intervalo interquartil de 7 animais em cada grupo. As comparações foram realizadas pelo teste de Kruskal-Wallis seguido pelos testes de comparações múltiplas de Dunn ($p<0,05$).

Figure 4. Histologia renal e biologia molecular

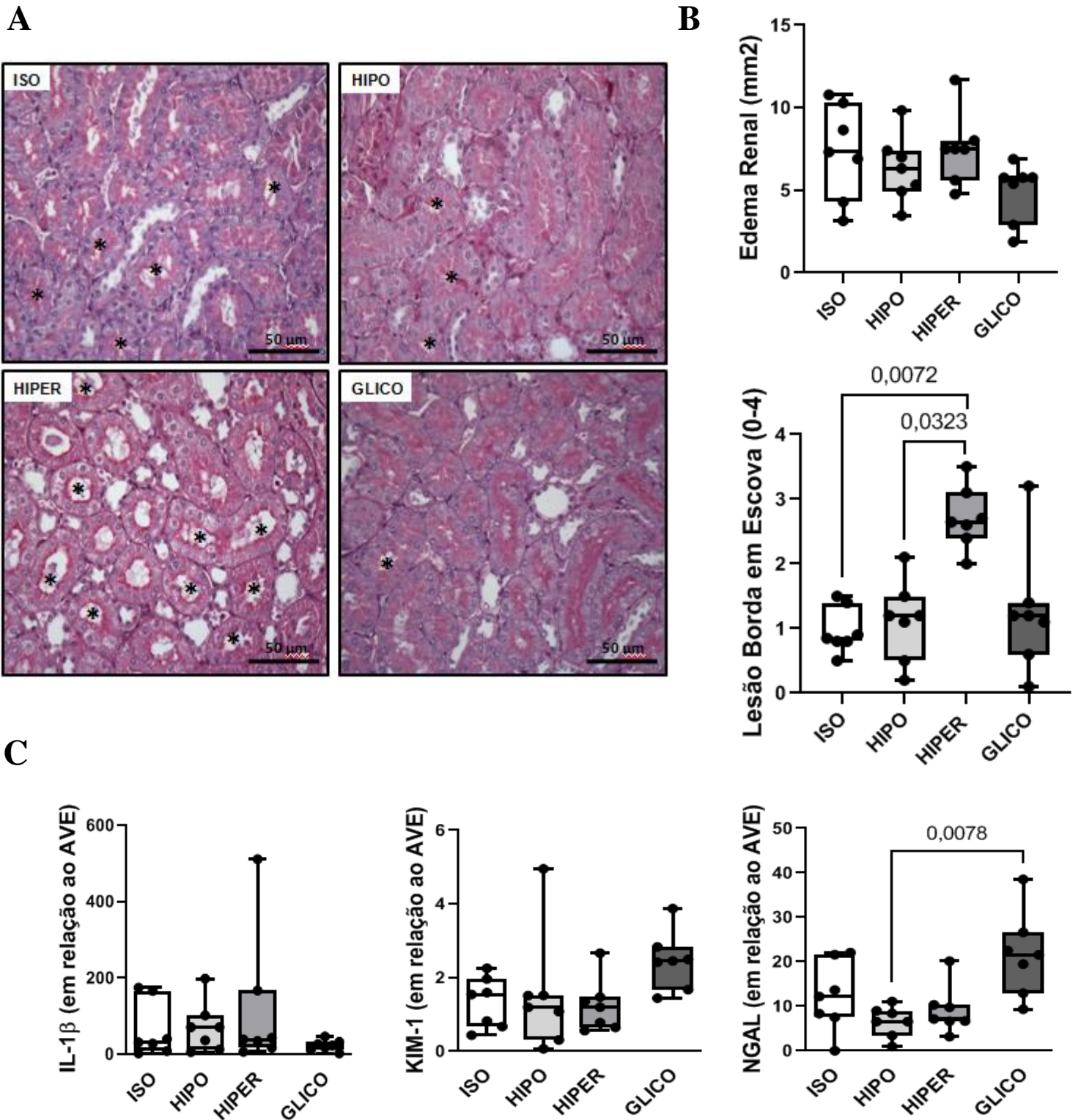


Figura 4. Painel A: Fotomicrografias de rim. Os asteriscos representam lesão na borda em escova. Painel B: Quantificação de edema renal e lesão na borda em escova. Painel C: Expressão de interleucina (IL)-1- β , molécula de lesão renal (KIM-1) e lipocalina associada à gelatinase de neutrófilos (NGAL) no rim. ISO: fluido isotônico; HIPO: fluido hipotônico; HIPER: fluido hipertônico; GLICO: glicose. Os gráficos em caixa representam a mediana e o intervalo interquartil de 7 animais em cada grupo. As comparações foram realizadas pelo teste de Kruskal-Wallis seguido pelos testes de comparações múltiplas de Dunn ($p < 0,05$).

Tabela 4: Análise bioquímica de urina e plasma

		ISO	HIPO	HIPER	GLICO
URINA	Sódio (mmol/L)	223 ± 51	23 ± 12* #	272 ± 51	25 ± 15* #
	Osmolaridade (Osm/L)	802 ± 79	1002 ± 196 #	675 ± 111	842 ± 228
	Proteína (mg/dL)	140 ± 71	148 ± 46	185 ± 103	152 ± 62
	Creatinina (mg/dL)	58 ± 16**	105 ± 19	49 ± 18**	57 ± 14**
	UPCr (A.U.)	2.3 ± 1.0	1.4 ± 0.3#	3.8 ± 2.2	2.8 ± 1.6
PLASMA	Sódio (mmol/L)	151 ± 3	144 ± 5#	152 ± 5	145 ± 6#
	Osmolaridade (Osm/L)	372 ± 68	351 ± 27	363 ± 35	355 ± 36
	Ureia (mg/dL)	97 ± 39	86 ± 27	99 ± 17	89 ± 13
	Creatinina (mg/dL)	1.1 ± 0.4	1.1 ± 0.3	0.9 ± 0.2	1.1 ± 0.3
	Lactato (mg/dL)	15 ± 6	17 ± 6	12 ± 4	21 ± 16

As análises bioquímicas de plasma e urina são apresentadas como média ± desvio padrão de 7 animais por grupo. ISO: fluido isotônico; HIPO: fluido hipotônico; HIPER: fluido hipertônico; GLICO: glicose. As comparações foram realizadas pelo teste One-way seguido do teste de comparações múltiplas de Tukey ($p < 0,05$). *vs. ISO; **vs. HIPO; #vs. HIPER.

9. DISCUSSÃO

Os principais achados do nosso estudo, em um modelo de acidente vascular cerebral isquêmico agudo são: (I) O grupo ISO apresentou menor lesão pulmonar (menos edema e colapso alveolar), histoarquitetura cerebral preservada, manteve a integridade renal e foi associado com uma redução dos níveis de cloreto no plasma ao longo do tempo em comparação com HIPO, HIPER e GLICO; (II) O grupo GLICO apresentou aumento da expressão de NGAL nos rins em comparação ao HIPO, mas não alterou os parâmetros nos pulmões e no cérebro, sugerindo maior dano nos rins (III) O grupo HIPO apresentou aumento do edema pulmonar, creatinina urinária e osmolaridade como comparado com ISO e HIPER, sugerindo maior dano pulmonar e renal; e (IV) O grupo HIPER apresentou aumento do colapso alveolar em comparação com ISO e GLICO e, além disso, aumento dos marcadores de inflamação cerebral e foi associado a danos na histoarquitetura e borda em escova renal e aumento da razão da creatinina e proteína na urina e osmolaridade urinária, sugerindo maior danos no cérebro, pulmão e rim.

Neste estudo, utilizamos um modelo de acidente vascular cerebral isquêmico focal agudo, em vez de modelos de isquemia global amplamente utilizados (TROTMAN-LUCAS; GIBSON, 2021), que é mais comum na prática clínica, representando mais de 90% de todos os acidentes vasculares cerebrais em todo o mundo (THAYABARANATHAN; KIM; CADILHAC; THRIFT *et al.*, 2022; TSAO; ADAY; ALMARZOOQ; ALONSO *et al.*, 2022). O modelo atual foi induzido através da termocoagulação dos vasos sanguíneos pial sobre os córtices sensório-motores primários, de acordo com estudos anteriores e pode mimetizar algumas condições clínicas de acidente vascular cerebral isquêmico agudo (FAN; NOGUEIRA; BRASSARD; RICKARDS *et al.*, 2022; SAMARY; RAMOS; MAIA; ROCHA *et al.*, 2018; SOUSA; FERNANDES; CRUZ; ANTUNES *et al.*, 2021). De acordo com as diretrizes de manejo de pacientes com AVE (POWERS; RABINSTEIN; ACKERSON; ADEOYE *et al.*, 2018), a infusão de fluidos é uma das principais abordagens de manejo adotadas nas primeiras três horas após o evento isquêmico. A infusão de fluidos é utilizada no contexto de reanimação, reposição e manutenção volêmica e em casos específicos, como para controle da pressão intracraniana e manejo da isquemia cerebral tardia (causada por vasoespasmo) (ODDO; POOLE; HELBOK; MEYFROIDT *et al.*, 2018).

A tonicidade ideal (ou a osmolaridade efetiva, calculada pelo dobro do nível de sódio) da solução é controversa. Os fluidos isotônicos são as soluções mais utilizadas na prática clínica (DONG; YAN; SONG; ZHOU; CHEN, 2022). Um estudo clínico descreveu que fluidos hipotônicos ou levemente hipotônicos de acordo com a quantidade de cloreto de sódio, como o lactato de Ringer, seriam capazes de ter uma taxa de filtração glomerular maior em comparação com o soro fisiológico NaCl 0,9% (HAHN; ISACSON; FAGERSTROM; ROSVALL; NYMAN, 2016). Outros estudos descobriram que as soluções hipotônicas são excretadas de forma mais eficaz do que as soluções isotônicas, atribuindo isso ao fato de as soluções hipotônicas serem mais fisiológicas e, além disso, a hipercalemia foi encontrada em grupos que receberam fluidos isotônicos (LOBO; STANGA; SIMPSON; ANDERSON *et al.*, 2001; REID; LOBO; WILLIAMS; ROWLANDS; ALLISON, 2003). Esses estudos sugerem que as soluções hipotônicas podem proteger os rins em pacientes com AVE. Além disso, soluções hipertônicas são atualmente usadas para reduzir o edema cerebral e diminuir a pressão intracraniana (COOK; MORGAN JONES; HAWRYLUK; MAILLOUX *et al.*, 2020), mas estudos destacam o risco de hipernatremia grave, infecção do trato urinário e disfunção renal, que podem aumentar a mortalidade (AIYAGARI; DEIBERT; DIRINGER, 2006; BULGER; MAY; BRASEL; SCHREIBER *et al.*, 2010; DARMON; TIMSIT; FRANCAIS; NGUILE-MAKAO *et al.*, 2010; FROELICH; NI; WESS; OUGORETS; HARTL, 2009; HUANG; STUCKY; DIMICK; TREAT *et al.*, 1995). No entanto, não há consenso sobre o uso de fluidos com diferentes tonicidades após acidente vascular cerebral (DE ROSA; BATTAGLINI; ROBBA, 2023; POWERS; RABINSTEIN; ACKERSON; ADEOYE *et al.*, 2018).

A pressão arterial média aumentou ao longo do tempo em todos os grupos. De acordo com as diretrizes mais recentes para o tratamento do AVE, a rápida redução da pressão arterial pode ser prejudicial. Sugere-se manter a pressão arterial acima de 180/105 mmHg nas primeiras 72 horas, após o evento isquêmico (POWERS; RABINSTEIN; ACKERSON; ADEOYE *et al.*, 2018). A taxa de infusão de fluido de 2 ml/kg foi baseada na taxa ideal de hidratação em pequenos roedores (ROWLAND, 2007; TAMURA, 2010). A infusão média de fluidos de 13,9 ml/kg no presente estudo permanece a mesma ou é até inferior à relatada anteriormente na literatura, incluindo estudos produzidos pelo nosso grupo (DE CARVALHO; FONSECA; MAGALHAES; PINTO *et al.*, 2022; FELIX; MAIA; ROCHA; RODRIGUES

et al., 2022; ROCHA; SAMARY; ANTUNES; OLIVEIRA *et al.*, 2021), nos quais não houve dano aparente aos animais em termos da quantidade de líquidos infundidos. Além disso, reconhece-se que os cristaloides requerem um volume maior para sustentar uma hemodinâmica ideal e estável ao longo dos experimentos (HAHN; LYONS, 2016; MENDES; MARTINS; OLIVEIRA; ROCHA *et al.*, 2020; SILVA; GULDNER; UHLIG; CARVALHO *et al.*, 2013).

9.1 Pulmão

Os volumes correntes diminuíram, enquanto as pressões de pico nas vias aéreas, as pressões de platô e as pressões de condução aumentaram em todos os grupos ao longo do experimento. Essas alterações podem ser atribuídas à presença de colapso alveolar e edema provavelmente devido à infusão de fluidos (KEDDISSI; YOUNESS; JONES; KINASEWITZ, 2019), além da já conhecida inflamação cérebro-pulmão (SAMARY; RAMOS; MAIA; ROCHA *et al.*, 2018) e indução de anestesia geral (BRISMAR; HEDENSTIERNA; LUNDQUIST; STRANDBERG *et al.*, 1985; LUNDQUIST; HEDENSTIERNA; STRANDBERG; TOKICS; BRISMAR, 1995). Na verdade, alguns estudos utilizaram valores mais elevados de PEEP ao utilizar diferentes estratégias de infusão de fluidos (FELIX; MAIA; ROCHA; RODRIGUES *et al.*, 2022; ROCHA; SAMARY; ANTUNES; OLIVEIRA *et al.*, 2021; ZABNER; ANGELI; MARTINEZ; SANCHEZ DE LEON, 1990) para evitar lesões pulmonares. Porém, decidimos utilizar ventilação mecânica protetora com PEEP baixa para evitar o efeito de fatores de confusão em nossos resultados, devido aos efeitos fisiológicos da PEEP elevada no pulmão e na hemodinâmica, já bem estabelecidos na literatura (HE; HU; LONG; WANG *et al.*, 2019; LUECKE; PELOSI, 2005).

O grupo HIPO apresentou aumento do edema e inflamação pulmonar, conforme observado na histologia e biologia molecular. Este resultado é consistente com as consequências da hiponatremia, relacionadas à mortalidade e mau prognóstico (CAREGARO; DI PASCOLI; FAVARO; NARDI; SANTONASTASO, 2005), apresentando inchaço e inflamação celular (BAEZ; CHIRIO; PISULA; SEMINARIO *et al.*, 2023; GOSLING, 2003), o que pode ser explicado pela interação entre interleucina-6 e antidiurese induzida por vasopressina (DEKKER; MARCELLI; CANAUD; KONINGS *et al.*, 2016; DEKKER; VAN DER SANDE; VAN DEN BERGHE; LEUNISSEN; KOOMAN, 2018). Por outro lado, estudos indicam que

fluidos hipertônicos (com maior concentração de NaCl, utilizando solução a 7,5%) proporcionariam melhor controle do edema pulmonar e intracraniano (QURESHI; SUAREZ, 2000; ROCH; CASTANIER; MARDELLE; TROUSSE *et al.*, 2008). Sabe-se que as aquaporinas são responsáveis por modular rapidamente o transporte de água através da membrana plasmática (FILIPPIDIS; CAROZZA; REKATE, 2016). Em nosso estudo, o grupo ISO apresentou maior expressão de AQP-5 no tecido pulmonar, o que pode explicar o menor edema pulmonar. Além disso, o AQP-5 desempenha um papel importante relacionado à homeostase dos líquidos que revestem a superfície das vias aéreas (YADAV; YADAV; HUS; YADAV, 2020). Por fim, o VEGF (fator de crescimento endotelial vascular), é o maior regulador da permeabilidade vascular, protegendo e regenerando a superfície epitelial, mas com potencial para contribuir para a formação de edema pulmonar (MEDFORD; MILLAR, 2006; TOMITA; SAITO; SUZUKI; IMBABY *et al.*, 2020). Assim, seu significado na função pulmonar serve de paradigma devido às suas diversas ações e funções. Dependendo da patologia, sua expressão pode produzir resultados variados. Por exemplo, o seu papel em condições como a síndrome da angústia respiratória aguda (MEDFORD; MILLAR, 2006; PAPAIOANNOU; KOSTIKAS; KOLLIA; GOURGOULIANIS, 2006) e as investigações relativas à terapia anti-VEGF na hipertensão pulmonar, câncer do pulmão e outras doenças inflamatórias crônicas sublinham este ponto (FERRARA, 2004; YANO; HERBST; SHINOHARA; KNIGHTON *et al.*, 2000).

9.2 Cérebro

Os proteoglicanos fazem parte da histoarquitetura do cérebro e são componentes fundamentais da matriz extracelular. Versicano está relacionado a processos inflamatórios ou de reparo (ISLAM; WATANABE, 2020) e, em casos de tumores, os altos níveis de versicano estão relacionados a microvasos dentro do estroma tumoral (GHOSH; ALBITAR; LEBARON; WELCH *et al.*, 2010; LABROPOULOU; THEOCHARIS; RAVAZOULA; PERIMENIS *et al.*, 2006). Um estudo com células-tronco estromais mostra que células com altos níveis de versicano desenvolveram 50 vezes mais vasos do que células com baixa expressão de versicano, configurando um papel pró-angiogênico (KREUTZIGER; MUSKHELI; JOHNSON; BRAUN *et al.*, 2011). Hialuronano desempenha uma função estrutural e

tem importância significativa no sistema nervoso e na plasticidade sináptica. Portanto, sua expressão e degradação diminuídas estão diretamente associadas à fase aguda do acidente vascular cerebral, atribuída ao aumento da resposta inflamatória em todo o cérebro (BALASHOVA; PERSHIN; ZABORSKAYA; TKACHENKO *et al.*, 2019). Nesse contexto, o grupo ISO preservou a histoarquitetura cerebral devido ao aumento tanto do versicano quanto do hialuronano. Decorina e sindecano também são proteoglicanos que compõem a histoarquitetura cerebral. O primeiro desempenha um papel fundamental na fibrilogênese e inflamação do colágeno, além da cicatrização de feridas e angiogênese (NIKAIDO; TANINO; WANG; SATO *et al.*, 2018). O segundo atua na regulação de funções celulares, como proliferação, adesão e migração celular (SZATMARI; MUNDT; KUMAR-SINGH; MOBUS *et al.*, 2017). Entretanto, a infusão de diferentes fluidos não alterou a expressão de decorina e sindecano.

As interleucinas são marcadores pró-inflamatórios encontrados no tecido cerebral peri-lesão em grandes quantidades, modulando o processo inflamatório do dano (GALEA; BROUGH, 2013). A IL-1 β é um dos principais mediadores da lesão isquêmica cerebral na fase aguda (AMANTEA; BAGETTA; TASSORELLI; MERCURI; CORASANITI, 2010; BOUTIN; LEFEUVRE; HORAI; ASANO *et al.*, 2001; YAMASAKI; MATSUURA; SHOZUHARA; ONODERA *et al.*, 1995), e os níveis foram elevados no tecido cerebral em quase todos os grupos do presente estudo. Além disso, alguns estudos clínicos associam níveis mais elevados de IL-1 β a piores resultados devido ao aumento da lesão cerebral e vasoespasmos na presença de hemorragia subaracnóidea (HENDRYK; JARZAB; JOSKO, 2004; TARKOWSKI; ROSENGREN; BLOMSTRAND; WIKKELSO *et al.*, 1995).

Embora as interleucinas sejam pró-inflamatórias, as moléculas de adesão endotelial também foram investigadas neste estudo, considerando seu papel fundamental após lesão isquêmica cerebral. VCAM-1 é expresso em células endoteliais e desempenha um papel fundamental na regulação da inflamação associada à adesão vascular e conseqüentemente na progressão da lesão após acidente vascular cerebral (FRANX; VAN DER TOORN; VAN HEIJNINGEN; VIVIEN *et al.*, 2021; SUPANC; BILOGLAV; KES; DEMARIN, 2011). ZO-1 é uma das ocludinas mais investigadas do complexo de junção estreita, que por sua vez estabelece e mantém a muito importante barreira hematoencefálica (KEANEY; CAMPBELL, 2015; TSUKITA; FURUSE; ITOH, 2001). Um estudo recente destaca o

seu importante papel na fase aguda do AVE e na fase crônica (SUGIYAMA; SASAKI; TANAKA; YAN *et al.*, 2023). Portanto, parece que níveis mais elevados de VCAM e ZO-1 encontrados nos grupos ISO e HIPER poderiam ser protetores após lesão.

9.3 Rim

O controle da concentração de sódio é clinicamente relevante (SEAY; LEHRICH; GREENBERG, 2020). No presente estudo, como esperado, os grupos GLICO e HIPO apresentaram menor concentração de sódio na urina no FINAL, em comparação ao grupo HIPER. Em relação ao sódio plasmático, todos os grupos apresentaram concentração reduzida de sódio entre os experimentos. Como utilizamos apenas o kit de gasometria para cálculo do sódio plasmático, uma parcela do sódio infundido não pode ser quantificada, visto que o sódio infundido pode ficar retido em compartimentos onde não é possível ter e/ou verificar a ação osmótica, como nos glicosaminoglicanos da pele, ossos e cartilagem (HOFMEISTER; PERISIC; TITZE, 2015; OLDE ENGBERINK; RORIJE; HOMAN VAN DER HEIDE; VAN DEN BORN; VOGT, 2015; OLDE ENGBERINK; RORIJE; VAN DEN BORN; VOGT, 2017; TITZE, 2009). Por outro lado, apenas o grupo ISO reduziu a quantidade de cloreto plasmático, prevenindo assim a hiperclorêmia. Na verdade, alguns estudos apontam a hiperclorêmia como mecanismo de lesão renal após infusão inadvertida de solução salina NaCl 0,9% (GAN; BENNETT-GUERRERO; PHILLIPS-BUTE; WAKELING *et al.*, 1999; WILCOX, 1983; WILKES; WOOLF; MUTCH; MALLETT *et al.*, 2001) enquanto o estudo de O'Malley(O'MALLEY; FRUMENTO; HARDY; BENVENISTY *et al.*, 2005) aponta que não verificaram essa relação, nem mesmo identificar alterações nos níveis de cloreto, sugerindo assim um maior débito urinário e menor concentração de creatinina sérica como possíveis causas de danos renais e acidose.

No presente estudo, em relação à integridade renal, parece que as maiores quantidades de cloreto de sódio e sua ausência são prejudiciais. Primeiro, a solução com ausência de cloreto de sódio (grupo GLICO) aumentou a expressão de NGAL, que está associada à lesão tubular renal proximal e à gravidade da doença renal (HAN; BAILLY; ABICHANDANI; THADHANI; BONVENTRE, 2002; KHAWAJA; JAFRI; SIDDIQUI; HASHMI; GHANI, 2019). Em segundo lugar, a infusão com maior

quantidade de cloreto de sódio (grupo HIPER) induziu lesões na borda em escova dos túbulos proximais renais. Este resultado corrobora estudos anteriores, nos quais uma dieta com altas concentrações de sódio induz lesão túbulo-intersticial (tendo em vista o aumento da UPCr), criando um microambiente pró-inflamatório e pró-fibrótico (TEIXEIRA; PERUCHETTI; SOUZA; DAS GRACAS HENRIQUES *et al.*, 2020).

9.4 Limitações

Este estudo apresenta algumas limitações que precisam ser esclarecidas. Primeiro, o estado neurofuncional dos nossos animais não foi avaliado durante o experimento, considerando a natureza do desenho do nosso estudo, no entanto, os animais estavam claramente acordados após a cirurgia de indução do AVE. Em segundo lugar, como utilizamos apenas um modelo de acidente vascular cerebral isquêmico (ver descrito em materiais e métodos), não podemos extrapolar para outros modelos ou diferentes gravidades de lesão cerebral. Terceiro, os ratos eram saudáveis, jovens e do sexo masculino e os dados não podem ser extrapolados diretamente para a complexidade do cenário clínico, no qual as comorbidades são comuns. (KILKENNY; BROWNE; CUTHILL; EMERSON; ALTMAN, 2010). Quarto, devido a restrições, o cateterismo vesical não pôde ser implementado nestes experimentos com ratos, impedindo a medição da produção de urina. Quinto, o tamanho da amostra foi pequeno e devido à natureza do estudo não foi possível realizar um cruzamento. Finalmente, em casos de hipotensão durante o experimento, foi administrado um bolus do fluido de interesse, enquanto um bolus de sedação foi fornecido em casos de hipertensão. É importante notar que todos os animais receberam uma quantidade igual e equilibrada de líquidos, apesar destas intervenções.

10. CONCLUSÃO

No presente modelo de acidente vascular cerebral isquêmico focal, o uso de fluidos isotônicos (NaCl 0,9%) parece ser a melhor estratégia de fluidos, considerando menos danos cerebrais, pulmonares e renais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, H. P., JR.; BENDIXEN, B. H.; KAPPELLE, L. J.; BILLER, J. *et al.* Classification of subtype of acute ischemic stroke. Definitions for use in a multicenter clinical trial. TOAST. Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment. **Stroke**, 24, n. 1, p. 35-41, Jan 1993. Clinical Trial Multicenter Study
Randomized Controlled Trial
Research Support, U.S. Gov't, P.H.S.

AIYAGARI, V.; DEIBERT, E.; DIRINGER, M. N. Hyponatremia in the neurologic intensive care unit: how high is too high? **Journal of critical care**, 21, n. 2, p. 163-172, Jun 2006.

ALLEN, C. L.; BAYRAKTUTAN, U. Risk factors for ischaemic stroke. **International journal of stroke : official journal of the International Stroke Society**, 3, n. 2, p. 105-116, May 2008. Review.

AMANTEA, D.; BAGETTA, G.; TASSORELLI, C.; MERCURI, N. B.; CORASANITI, M. T. Identification of distinct cellular pools of interleukin-1beta during the evolution of the neuroinflammatory response induced by transient middle cerebral artery occlusion in the brain of rat. **Brain research**, 1313, p. 259-269, Feb 8 2010. Research Support, Non-U.S. Gov't.

ARONSON, P. S.; GIEBISCH, G. Effects of pH on potassium: new explanations for old observations. **Journal of the American Society of Nephrology : JASN**, 22, n. 11, p. 1981-1989, Nov 2011. Research Support, N.I.H., Extramural.

AYALA, C.; CROFT, J. B.; GREENLUND, K. J.; KEENAN, N. L. *et al.* Sex differences in US mortality rates for stroke and stroke subtypes by race/ethnicity and age, 1995-1998. **Stroke**, 33, n. 5, p. 1197-1201, May 2002.

BAEZ, G.; CHIRIO, M.; PISULA, P.; SEMINARIO, E. *et al.* Hyponatremia and malnutrition: a comprehensive review. **Irish journal of medical science**, Sep 13 2023. Review.

BAI, W.; LI, W.; NING, Y. L.; LI, P. *et al.* Blood Glutamate Levels Are Closely Related to Acute Lung Injury and Prognosis after Stroke. **Frontiers in neurology**, 8, p. 755, 2017.

BALASHOVA, A.; PERSHIN, V.; ZABORSKAYA, O.; TKACHENKO, N. *et al.* Enzymatic Digestion of Hyaluronan-Based Brain Extracellular Matrix in vivo Can Induce Seizures in Neonatal Mice. **Frontiers in neuroscience**, 13, p. 1033, 2019.

BARTHELDS, D.; DAS, H. Current advances in ischemic stroke research and therapies. **Biochimica et biophysica acta. Molecular basis of disease**, 1866, n. 4, p. 165260, Apr 1 2020. Research Support, N.I.H., Extramural
Review.

BAZIN, J. E.; CONSTANTIN, J. M.; GINDRE, G. [Laboratory animal anaesthesia: influence of anaesthetic protocols on experimental models]. **Annales francaises d'anesthesie et de reanimation**, 23, n. 8, p. 811-818, Aug 2004. Review.

BINNIE, C. G.; LORD, S. T. The fibrinogen sequences that interact with thrombin. **Blood**, 81, n. 12, p. 3186-3192, Jun 15 1993. Research Support, U.S. Gov't, P.H.S.

Review.

BLANCO, N. G.; MACHADO, N. M.; CASTRO, L. L.; ANTUNES, M. A. *et al.* Extracellular Vesicles from Different Sources of Mesenchymal Stromal Cells Have Distinct Effects on Lung and Distal Organs in Experimental Sepsis. **International journal of molecular sciences**, 24, n. 9, May 4 2023.

BORNSTEIN, N. M.; ARONOVICH, B. D.; KAREPOV, V. G.; GUR, A. Y. *et al.* The Tel Aviv Stroke Registry. 3600 consecutive patients. **Stroke**, 27, n. 10, p. 1770-1773, Oct 1996.

BOULANGER, J. M.; LINDSAY, M. P.; GUBITZ, G.; SMITH, E. E. *et al.* Canadian Stroke Best Practice Recommendations for Acute Stroke Management: Prehospital, Emergency Department, and Acute Inpatient Stroke Care, 6th Edition, Update 2018. **International journal of stroke : official journal of the International Stroke Society**, 13, n. 9, p. 949-984, Dec 2018.

BOUTIN, H.; LEFEUVRE, R. A.; HORAI, R.; ASANO, M. *et al.* Role of IL-1alpha and IL-1beta in ischemic brain damage. **The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience**, 21, n. 15, p. 5528-5534, Aug 1 2001. Research Support, Non-U.S. Gov't.

BRISMAR, B.; HEDENSTIERNA, G.; LUNDQUIST, H.; STRANDBERG, A. *et al.* Pulmonary densities during anesthesia with muscular relaxation--a proposal of atelectasis. **Anesthesiology**, 62, n. 4, p. 422-428, Apr 1985. Research Support, Non-U.S. Gov't.

BULGER, E. M.; MAY, S.; BRASEL, K. J.; SCHREIBER, M. *et al.* Out-of-hospital hypertonic resuscitation following severe traumatic brain injury: a randomized controlled trial. **JAMA**, 304, n. 13, p. 1455-1464, Oct 6 2010. Multicenter Study
Randomized Controlled Trial
Research Support, N.I.H., Extramural
Research Support, Non-U.S. Gov't
Research Support, U.S. Gov't, Non-P.H.S.

CAI, P. Y.; BODHIT, A.; DEREQUITO, R.; ANSARI, S. *et al.* Vagus nerve stimulation in ischemic stroke: old wine in a new bottle. **Frontiers in neurology**, 5, p. 107, 2014. Review.

CAREGARO, L.; DI PASCOLI, L.; FAVARO, A.; NARDI, M.; SANTONASTASO, P. Sodium depletion and hemoconcentration: overlooked complications in patients with anorexia nervosa? **Nutrition**, 21, n. 4, p. 438-445, Apr 2005. Research Support, Non-U.S. Gov't.

CAVANAGH, S. P.; GOUGH, M. J.; HOMER-VANNIASINKAM, S. The role of the neutrophil in ischaemia-reperfusion injury: potential therapeutic interventions. **Cardiovascular surgery**, 6, n. 2, p. 112-118, Apr 1998. Review.

CECCONI, M.; HOFER, C.; TEBOUL, J. L.; PETTILA, V. *et al.* Fluid challenges in intensive care: the FENICE study: A global inception cohort study. **Intensive care medicine**, 41, n. 9, p. 1529-1537, Sep 2015. Clinical Trial
Multicenter Study
Observational Study.

CHAMORRO, A. Role of inflammation in stroke and atherothrombosis. **Cerebrovascular diseases**, 17 Suppl 3, p. 1-5, 2004. Review.

CHAMORRO, A.; URRA, X.; PLANAS, A. M. Infection after acute ischemic stroke: a manifestation of brain-induced immunodepression. **Stroke**, 38, n. 3, p. 1097-1103, Mar 2007. Review.

CHOMCZYNSKI, P.; SACCHI, N. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. **Analytical biochemistry**, 162, n. 1, p. 156-159, Apr 1987.

CHOU, W. H.; CHOI, D. S.; ZHANG, H.; MU, D. *et al.* Neutrophil protein kinase Cdelta as a mediator of stroke-reperfusion injury. **The Journal of clinical investigation**, 114, n. 1, p. 49-56, Jul 2004. Research Support, Non-U.S. Gov't
Research Support, U.S. Gov't, P.H.S.

CHUNG, J. W.; PARK, S. H.; KIM, N.; KIM, W. J. *et al.* Trial of ORG 10172 in Acute Stroke Treatment (TOAST) classification and vascular territory of ischemic stroke lesions diagnosed by diffusion-weighted imaging. **Journal of the American Heart Association**, 3, n. 4, Aug 11 2014. Research Support, Non-U.S. Gov't.

CHWOJNICKI, K.; KROL, E.; WIERUCKI, L.; KOZERA, G. *et al.* Renal Dysfunction in Post-Stroke Patients. **PloS one**, 11, n. 8, p. e0159775, 2016.

CIPOLLA, M. J.; LIEBESKIND, D. S.; CHAN, S. L. The importance of comorbidities in ischemic stroke: Impact of hypertension on the cerebral circulation. **J Cereb Blood Flow Metab**, 38, n. 12, p. 2129-2149, Dec 2018.

CLARK, R. K.; LEE, E. V.; FISH, C. J.; WHITE, R. F. *et al.* Development of tissue damage, inflammation and resolution following stroke: an immunohistochemical and quantitative planimetric study. **Brain research bulletin**, 31, n. 5, p. 565-572, 1993.

CLARK, W. M. Cytokines and reperfusion injury. **Neurology**, 49, n. 5 Suppl 4, p. S10-14, Nov 1997. Review.

COOK, A. M.; MORGAN JONES, G.; HAWRYLUK, G. W. J.; MAILLOUX, P. *et al.* Guidelines for the Acute Treatment of Cerebral Edema in Neurocritical Care Patients. **Neurocritical care**, 32, n. 3, p. 647-666, Jun 2020. Practice Guideline
Research Support, Non-U.S. Gov't.

COSNETT, J. E. The origins of intravenous fluid therapy. **Lancet**, 1, n. 8641, p. 768-771, Apr 8 1989. Biography
Historical Article.

CURRY, F. E. Layer upon layer: the functional consequences of disrupting the glycocalyx-endothelial barrier in vivo and in vitro. **Cardiovascular research**, 113, n. 6, p. 559-561, May 1 2017. Comment
Editorial
Research Support, N.I.H., Extramural.

CZLONKOWSKA, A.; CYRTA, B.; KORLAK, J. Immunological observations on patients with acute cerebral vascular disease. **Journal of the neurological sciences**, 43, n. 3, p. 455-464, Nov 1979.

DA SILVA, A. L.; BESSA, C. M.; ROCHA, N. N.; CARVALHO, E. B. *et al.* Pressure-support compared with pressure-controlled ventilation mitigates lung and brain injury in experimental acute ischemic stroke in rats. **Intensive care medicine experimental**, 11, n. 1, p. 93, Dec 15 2023.

DAI, S. S.; WANG, H.; YANG, N.; AN, J. H. *et al.* Plasma glutamate-modulated interaction of A2AR and mGluR5 on BMDCs aggravates traumatic brain injury-induced acute lung injury. **The Journal of experimental medicine**, 210, n. 4, p. 839-851, Apr 8 2013. Clinical Trial Research Support, Non-U.S. Gov't.

DARMON, M.; TIMSIT, J. F.; FRANCAIS, A.; NGUILE-MAKAO, M. *et al.* Association between hypernatraemia acquired in the ICU and mortality: a cohort study. **Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association**, 25, n. 8, p. 2510-2515, Aug 2010. Multicenter Study Research Support, Non-U.S. Gov't.

DE CARVALHO, E. B.; FONSECA, A. C. F.; MAGALHAES, R. F.; PINTO, E. F. *et al.* Effects of different fluid management on lung and kidney during pressure-controlled and pressure-support ventilation in experimental acute lung injury. **Physiological reports**, 10, n. 17, p. e15429, Sep 2022. Research Support, Non-U.S. Gov't.

DE ROSA, S.; BATTAGLINI, D.; ROBBA, C. Kidney dysfunction after Acute Brain Injury. **Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association**, Sep 2 2023.

DE VASCONCELOS DOS SANTOS, A.; DA COSTA REIS, J.; DIAZ PAREDES, B.; MORAES, L. *et al.* Therapeutic window for treatment of cortical ischemia with bone marrow-derived cells in rats. **Brain research**, 1306, p. 149-158, Jan 8 2010. Comparative Study.

DEKKER, M. J.; MARCELLI, D.; CANAUD, B.; KONINGS, C. J. *et al.* Unraveling the relationship between mortality, hyponatremia, inflammation and malnutrition in hemodialysis patients: results from the international MONDO initiative. **European journal of clinical nutrition**, 70, n. 7, p. 779-784, Jul 2016.

DEKKER, M. J. E.; VAN DER SANDE, F. M.; VAN DEN BERGHE, F.; LEUNISSEN, K. M. L.; KOOMAN, J. P. Fluid Overload and Inflammation Axis. **Blood purification**, 45, n. 1-3, p. 159-165, 2018. Review.

DEL ZOPPO, G. J.; SCHMID-SCHONBEIN, G. W.; MORI, E.; COPELAND, B. R.; CHANG, C. M. Polymorphonuclear leukocytes occlude capillaries following middle cerebral artery occlusion and reperfusion in baboons. **Stroke**, 22, n. 10, p. 1276-1283, Oct 1991. Research Support, U.S. Gov't, P.H.S.

DONG, W. H.; YAN, W. Q.; SONG, X.; ZHOU, W. Q.; CHEN, Z. Fluid resuscitation with balanced crystalloids versus normal saline in critically ill patients: a systematic review and meta-analysis. **Scandinavian journal of trauma, resuscitation and emergency medicine**, 30, n. 1, p. 28, Apr 18 2022. Meta-Analysis

Systematic Review.

DOS SANTOS, C. C.; SHAN, Y.; AKRAM, A.; SLUTSKY, A. S.; HAITSMA, J. J. Neuroimmune regulation of ventilator-induced lung injury. **American journal of respiratory and critical care medicine**, 183, n. 4, p. 471-482, Feb 15 2011. Research Support, Non-U.S. Gov't.

EBINGER, M.; KUNZ, A.; WENDT, M.; ROZANSKI, M. *et al.* Effects of golden hour thrombolysis: a Prehospital Acute Neurological Treatment and Optimization of Medical Care in Stroke (PHANTOM-S) substudy. **JAMA neurology**, 72, n. 1, p. 25-30, Jan 2015. Research Support, Non-U.S. Gov't.

EISENHUT, M. Adverse effects of rapid isotonic saline infusion. **Archives of disease in childhood**, 91, n. 9, p. 797, Sep 2006. Comment Letter.

ELKIND, M. S.; SACCO, R. L. Stroke risk factors and stroke prevention. **Seminars in neurology**, 18, n. 4, p. 429-440, 1998. Research Support, U.S. Gov't, P.H.S. Review.

FAN, J. L.; NOGUEIRA, R. C.; BRASSARD, P.; RICKARDS, C. A. *et al.* Integrative physiological assessment of cerebral hemodynamics and metabolism in acute ischemic stroke. **Journal of cerebral blood flow and metabolism : official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism**, 42, n. 3, p. 454-470, Mar 2022. Review.

FELIX, N. S.; MAIA, L. A.; ROCHA, N. N.; RODRIGUES, G. C. *et al.* Biological impact of restrictive and liberal fluid strategies at low and high PEEP levels on lung and distal organs in experimental acute respiratory distress syndrome. **Frontiers in physiology**, 13, p. 992401, 2022.

FERRARA, N. Vascular endothelial growth factor: basic science and clinical progress. **Endocrine reviews**, 25, n. 4, p. 581-611, Aug 2004. Review.

FILIPPIDIS, A. S.; CAROZZA, R. B.; REKATE, H. L. Aquaporins in Brain Edema and Neuropathological Conditions. **International journal of molecular sciences**, 18, n. 1, Dec 28 2016. Review.

FINFER, S.; MYBURGH, J.; BELLOMO, R. Intravenous fluid therapy in critically ill adults. **Nature reviews. Nephrology**, 14, n. 9, p. 541-557, Sep 2018. Research Support, Non-U.S. Gov't Review.

FISHER, H.; HSU, C. Y.; VITTINGHOFF, E.; LIN, F.; BANSAL, N. Comparison of associations of urine protein-creatinine ratio versus albumin-creatinine ratio with complications of CKD: a cross-sectional analysis. **American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation**, 62, n. 6, p. 1102-1108, Dec 2013. Comparative Study Research Support, N.I.H., Extramural Research Support, Non-U.S. Gov't.

FRANX, B. A. A.; VAN DER TOORN, A.; VAN HEIJNINGEN, C.; VIVIEN, D. *et al.* Molecular Magnetic Resonance Imaging of Vascular Inflammation After Recanalization in a Rat Ischemic Stroke Model. **Stroke**, 52, n. 12, p. e788-e791, Dec 2021. Research Support, Non-U.S. Gov't.

FROELICH, M.; NI, Q.; WESS, C.; OUGORETS, I.; HARTL, R. Continuous hypertonic saline therapy and the occurrence of complications in neurocritically ill patients. **Critical care medicine**, 37, n. 4, p. 1433-1441, Apr 2009. Research Support, Non-U.S. Gov't.

FROHMAN, E. M.; FROHMAN, T. C.; DUSTIN, M. L.; VAYUVEGULA, B. *et al.* The induction of intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1) expression on human fetal astrocytes by interferon-gamma, tumor necrosis factor alpha, lymphotoxin, and interleukin-1: relevance to intracerebral antigen presentation. **Journal of neuroimmunology**, 23, n. 2, p. 117-124, Jul 1989.

GALEA, J.; BROUGH, D. The role of inflammation and interleukin-1 in acute cerebrovascular disease. **Journal of inflammation research**, 6, p. 121-128, Aug 20 2013. Review.

GAN, T. J.; BENNETT-GUERRERO, E.; PHILLIPS-BUTE, B.; WAKELING, H. *et al.* Hextend, a physiologically balanced plasma expander for large volume use in major surgery: a randomized phase III clinical trial. Hextend Study Group. **Anesthesia and analgesia**, 88, n. 5, p. 992-998, May 1999. Clinical Trial
Clinical Trial, Phase III
Multicenter Study
Randomized Controlled Trial
Research Support, Non-U.S. Gov't.

GARCIA, J. H.; LIU, K. F.; YOSHIDA, Y.; LIAN, J. *et al.* Influx of leukocytes and platelets in an evolving brain infarct (Wistar rat). **The American journal of pathology**, 144, n. 1, p. 188-199, Jan 1994.

GHOSH, S.; ALBITAR, L.; LEBARON, R.; WELCH, W. R. *et al.* Up-regulation of stromal versican expression in advanced stage serous ovarian cancer. **Gynecologic oncology**, 119, n. 1, p. 114-120, Oct 2010. Research Support, N.I.H., Extramural
Research Support, Non-U.S. Gov't.

GOSLING, P. Salt of the earth or a drop in the ocean? A pathophysiological approach to fluid resuscitation. **Emergency medicine journal : EMJ**, 20, n. 4, p. 306-315, Jul 2003. Review.

GUERMAZI, A.; DE KERVILER, E.; ZAGDANSKI, A. M.; FRIJA, J. Diagnostic imaging of choroid plexus disease. **Clin Radiol**, 55, n. 7, p. 503-516, Jul 2000.

HACKE, W.; DONNAN, G.; FIESCHI, C.; KASTE, M. *et al.* Association of outcome with early stroke treatment: pooled analysis of ATLANTIS, ECASS, and NINDS rt-PA stroke trials. **Lancet**, 363, n. 9411, p. 768-774, Mar 6 2004. Meta-Analysis
Multicenter Study
Research Support, Non-U.S. Gov't
Research Support, U.S. Gov't, P.H.S.

HAHN, R. G.; ISACSON, M. N.; FAGERSTROM, T.; ROSVALL, J.; NYMAN, C. R. Isotonic saline in elderly men: an open-labelled controlled infusion study of electrolyte balance, urine flow and kidney function. **Anaesthesia**, 71, n. 2, p. 155-162, Feb 2016. Research Support, Non-U.S. Gov't.

HAHN, R. G.; LYONS, G. The half-life of infusion fluids: An educational review. **European journal of anaesthesiology**, 33, n. 7, p. 475-482, Jul 2016. Review.

HALLENBECK, J. M.; DUTKA, A. J.; TANISHIMA, T.; KOCHANEK, P. M. *et al.* Polymorphonuclear leukocyte accumulation in brain regions with low blood flow during the early postischemic period. **Stroke**, 17, n. 2, p. 246-253, Mar-Apr 1986. Research Support, U.S. Gov't, Non-P.H.S.

HAN, W. K.; BAILLY, V.; ABICHANDANI, R.; THADHANI, R.; BONVENTRE, J. V. Kidney Injury Molecule-1 (KIM-1): a novel biomarker for human renal proximal tubule injury. **Kidney international**, 62, n. 1, p. 237-244, Jul 2002. Research Support, Non-U.S. Gov't
Research Support, U.S. Gov't, P.H.S.

HANKEY, G. J. Stroke in young adults: implications of the long-term prognosis. **JAMA**, 309, n. 11, p. 1171-1172, Mar 20 2013. Comment
Editorial.

HANKEY, G. J. Stroke. **Lancet**, 389, n. 10069, p. 641-654, Feb 11 2017. Review.

HE, H.; HU, Q.; LONG, Y.; WANG, X. *et al.* Effects of high PEEP and fluid administration on systemic circulation, pulmonary microcirculation, and alveoli in a canine model. **Journal of applied physiology**, 127, n. 1, p. 40-46, Jul 1 2019. Research Support, Non-U.S. Gov't.

HENDRICKX, S.; VAN VLIMMEREN, K.; BAAR, I.; VERBRUGGHE, W. *et al.* Introducing TOPMAST, the first double-blind randomized clinical trial specifically dedicated to perioperative maintenance fluid therapy in adults. **Anaesthesiology intensive therapy**, 49, n. 5, p. 366-372, 2017. Comparative Study
Randomized Controlled Trial.

HENDRYK, S.; JARZAB, B.; JOSKO, J. Increase of the IL-1 beta and IL-6 levels in CSF in patients with vasospasm following aneurysmal SAH. **Neuro endocrinology letters**, 25, n. 1-2, p. 141-147, Feb-Apr 2004. Clinical Trial
Randomized Controlled Trial
Research Support, Non-U.S. Gov't.

HILKER, R.; POETTER, C.; FINDEISEN, N.; SOBESKY, J. *et al.* Nosocomial pneumonia after acute stroke: implications for neurological intensive care medicine. **Stroke**, 34, n. 4, p. 975-981, Apr 2003.

HOFMEISTER, L. H.; PERISIC, S.; TITZE, J. Tissue sodium storage: evidence for kidney-like extrarenal countercurrent systems? **Pflugers Archiv : European journal of physiology**, 467, n. 3, p. 551-558, Mar 2015. Research Support, N.I.H., Extramural
Research Support, Non-U.S. Gov't
Review.

HUANG, J.; UPADHYAY, U. M.; TAMARGO, R. J. Inflammation in stroke and focal cerebral ischemia. **Surgical neurology**, 66, n. 3, p. 232-245, Sep 2006. Review.

HUANG, P. P.; STUCKY, F. S.; DIMICK, A. R.; TREAT, R. C. *et al.* Hypertonic sodium resuscitation is associated with renal failure and death. **Annals of surgery**, 221, n. 5, p. 543-554; discussion 554-547, May 1995. Comparative Study.

HUANG, Y.; WAN, C.; WU, G. Acute kidney injury after a stroke: A PRISMA-compliant meta-analysis. **Brain Behav**, 10, n. 9, p. e01722, Sep 2020.

HUNSICKER, L. G.; ADLER, S.; CAGGIULA, A.; ENGLAND, B. K. *et al.* Predictors of the progression of renal disease in the Modification of Diet in Renal Disease Study. **Kidney international**, 51, n. 6, p. 1908-1919, Jun 1997. Clinical Trial
Multicenter Study
Randomized Controlled Trial
Research Support, U.S. Gov't, P.H.S.

ISLAM, S.; WATANABE, H. Versican: A Dynamic Regulator of the Extracellular Matrix. **The journal of histochemistry and cytochemistry : official journal of the Histochemistry Society**, 68, n. 11, p. 763-775, Nov 2020. Research Support, Non-U.S. Gov't
Review.

JAUCH, E. C.; CUCCHIARA, B.; ADEOYE, O.; MEURER, W. *et al.* Part 11: adult stroke: 2010 American Heart Association Guidelines for Cardiopulmonary Resuscitation and Emergency Cardiovascular Care. **Circulation**, 122, n. 18 Suppl 3, p. S818-828, Nov 2 2010. Review.

JIN, W.; WANG, H.; JI, Y.; ZHU, L. *et al.* Genetic ablation of Nrf2 enhances susceptibility to acute lung injury after traumatic brain injury in mice. **Experimental biology and medicine**, 234, n. 2, p. 181-189, Feb 2009. Research Support, Non-U.S. Gov't.

JOHNSTON, K. C.; LI, J. Y.; LYDEN, P. D.; HANSON, S. K. *et al.* Medical and neurological complications of ischemic stroke: experience from the RANTTAS trial. RANTTAS Investigators. **Stroke**, 29, n. 2, p. 447-453, Feb 1998. Clinical Trial
Multicenter Study
Randomized Controlled Trial
Research Support, Non-U.S. Gov't
Research Support, U.S. Gov't, P.H.S.

JOLKKONEN, J.; PUURUNEN, K.; KOISTINAHO, J.; KAUPPINEN, R. *et al.* Neuroprotection by the alpha2-adrenoceptor agonist, dexmedetomidine, in rat focal cerebral ischemia. **European journal of pharmacology**, 372, n. 1, p. 31-36, May 7 1999. Research Support, Non-U.S. Gov't.

JUSTICIA, C.; PANES, J.; SOLE, S.; CERVERA, A. *et al.* Neutrophil infiltration increases matrix metalloproteinase-9 in the ischemic brain after occlusion/reperfusion of the middle cerebral artery in rats. **Journal of cerebral blood flow and metabolism : official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism**, 23, n. 12, p. 1430-1440, Dec 2003. Research Support, Non-U.S. Gov't.

KALSOTRA, A.; ZHAO, J.; ANAKK, S.; DASH, P. K.; STROBEL, H. W. Brain trauma leads to enhanced lung inflammation and injury: evidence for role of P4504Fs in resolution. **Journal of cerebral blood flow and metabolism : official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism**, 27, n. 5, p. 963-974, May 2007. Research Support, N.I.H., Extramural
Research Support, U.S. Gov't, Non-P.H.S.

KAUR, C.; RATHNASAMY, G.; LING, E. A. The Choroid Plexus in Healthy and Diseased Brain. **J Neuropathol Exp Neurol**, 75, n. 3, p. 198-213, Mar 2016.

KEANEY, J.; CAMPBELL, M. The dynamic blood-brain barrier. **The FEBS journal**, 282, n. 21, p. 4067-4079, Nov 2015. Review.

KEDDISSI, J. I.; YOUNESS, H. A.; JONES, K. R.; KINASEWITZ, G. T. Fluid management in Acute Respiratory Distress Syndrome: A narrative review. **Canadian journal of respiratory therapy : CJRT = Revue canadienne de la therapie respiratoire : RCTR**, 55, p. 1-8, 2019. Review.

KHAWAJA, S.; JAFRI, L.; SIDDIQUI, I.; HASHMI, M.; GHANI, F. The utility of neutrophil gelatinase-associated Lipocalin (NGAL) as a marker of acute kidney injury (AKI) in critically ill patients. **Biomarker research**, 7, p. 4, 2019.

KILKENNY, C.; BROWNE, W. J.; CUTHILL, I. C.; EMERSON, M.; ALTMAN, D. G. Improving bioscience research reporting: the ARRIVE guidelines for reporting animal research. **PLoS biology**, 8, n. 6, p. e1000412, Jun 29 2010. Guideline
Research Support, Non-U.S. Gov't
Review.

KISSELA, B. M.; KHOURY, J. C.; ALWELL, K.; MOOMAW, C. J. *et al.* Age at stroke: temporal trends in stroke incidence in a large, biracial population. **Neurology**, 79, n. 17, p. 1781-1787, Oct 23 2012.

KREUTZIGER, K. L.; MUSKHELI, V.; JOHNSON, P.; BRAUN, K. *et al.* Developing vasculature and stroma in engineered human myocardium. **Tissue engineering. Part A**, 17, n. 9-10, p. 1219-1228, May 2011. Research Support, N.I.H., Extramural.

KUMAI, Y.; KAMOUCI, M.; HATA, J.; AGO, T. *et al.* Proteinuria and clinical outcomes after ischemic stroke. **Neurology**, 78, n. 24, p. 1909-1915, Jun 12 2012. Research Support, Non-U.S. Gov't.

KUNZ, A.; EBINGER, M.; GEISLER, F.; ROZANSKI, M. *et al.* Functional outcomes of pre-hospital thrombolysis in a mobile stroke treatment unit compared with conventional care: an observational registry study. **The Lancet. Neurology**, 15, n. 10, p. 1035-1043, Sep 2016. Clinical Trial
Comparative Study
Observational Study.

LABROPOULOU, V. T.; THEOCHARIS, A. D.; RAVAZOULA, P.; PERIMENIS, P. *et al.* Versican but not decorin accumulation is related to metastatic potential and neovascularization in testicular germ cell tumours. **Histopathology**, 49, n. 6, p. 582-593, Dec 2006.

LAI, T. W.; ZHANG, S.; WANG, Y. T. Excitotoxicity and stroke: identifying novel targets for neuroprotection. **Progress in neurobiology**, 115, p. 157-188, Apr 2014. Research Support, Non-U.S. Gov't
Review.

LANGER, T.; SANTINI, A.; SCOTTI, E.; VAN REGENMORTEL, N. *et al.* Intravenous balanced solutions: from physiology to clinical evidence. **Anaesthesiology intensive therapy**, 47 Spec No, p. s78-88, 2015. Review.

LANGHORNE, P.; STOTT, D. J.; ROBERTSON, L.; MACDONALD, J. *et al.* Medical complications after stroke: a multicenter study. **Stroke**, 31, n. 6, p. 1223-1229, Jun 2000. Multicenter Study
Research Support, Non-U.S. Gov't.

LAPCHAK, P. A.; CHAPMAN, D. F.; ZIVIN, J. A. Metalloproteinase inhibition reduces thrombolytic (tissue plasminogen activator)-induced hemorrhage after thromboembolic stroke. **Stroke**, 31, n. 12, p. 3034-3040, Dec 2000. Research Support, U.S. Gov't, P.H.S.

LAWRENCE, M. B.; SPRINGER, T. A. Leukocytes roll on a selectin at physiologic flow rates: distinction from and prerequisite for adhesion through integrins. **Cell**, 65, n. 5, p. 859-873, May 31 1991. Research Support, U.S. Gov't, P.H.S.

LEE, J. A. Sydney Ringer (1834-1910) and Alexis Hartmann (1898-1964). **Anaesthesia**, 36, n. 12, p. 1115-1121, Dec 1981. Biography
Historical Article.

LEVICK, J. R.; MICHEL, C. C. Microvascular fluid exchange and the revised Starling principle. **Cardiovascular research**, 87, n. 2, p. 198-210, Jul 15 2010. Review.

LIEBESKIND, D. S.; TOMSICK, T. A.; FOSTER, L. D.; YEATTS, S. D. *et al.* Collaterals at angiography and outcomes in the Interventional Management of Stroke (IMS) III trial. **Stroke**, 45, n. 3, p. 759-764, Mar 2014. Clinical Trial
Research Support, N.I.H., Extramural.

LOBO, D. N.; STANGA, Z.; SIMPSON, J. A.; ANDERSON, J. A. *et al.* Dilution and redistribution effects of rapid 2-litre infusions of 0.9% (w/v) saline and 5% (w/v) dextrose on haematological parameters and serum biochemistry in normal subjects: a double-blind crossover study. **Clinical science**, 101, n. 2, p. 173-179, Aug 2001. Research Support, Non-U.S. Gov't.

LUECKE, T.; PELOSI, P. Clinical review: Positive end-expiratory pressure and cardiac output. **Critical care**, 9, n. 6, p. 607-621, 2005. Review.

LUKASZ, A.; HILLGRUBER, C.; OBERLEITHNER, H.; KUSCHE-VIHRIG, K. *et al.* Endothelial glycocalyx breakdown is mediated by angiotensin-2. **Cardiovascular research**, 113, n. 6, p. 671-680, May 1 2017.

LUNDQUIST, H.; HEDENSTIERNA, G.; STRANDBERG, A.; TOKICS, L.; BRISMAR, B. CT-assessment of dependent lung densities in man during general anaesthesia. **Acta radiologica**, 36, n. 6, p. 626-632, Nov 1995. Research Support, Non-U.S. Gov't.

MALBRAIN, M.; LANGER, T.; ANNANE, D.; GATTINONI, L. *et al.* Intravenous fluid therapy in the perioperative and critical care setting: Executive summary of the International Fluid Academy (IFA). **Annals of intensive care**, 10, n. 1, p. 64, May 24 2020. Review.

MALBRAIN, M.; VAN REGENMORTEL, N.; SAUGEL, B.; DE TAVERNIER, B. *et al.* Principles of fluid management and stewardship in septic shock: it is time to consider the four D's and the four phases of fluid therapy. **Annals of intensive care**, 8, n. 1, p. 66, May 22 2018. Review.

MALBRAIN, M. L.; VAN REGENMORTEL, N.; OWCZUK, R. It is time to consider the four D's of fluid management. **Anaesthesiology intensive therapy**, 47 Spec No, p. s1-5, 2015. Editorial.

MAO, L.; JIN, H.; WANG, M.; HU, Y. *et al.* Neurologic Manifestations of Hospitalized Patients With Coronavirus Disease 2019 in Wuhan, China. **JAMA neurology**, 77, n. 6, p. 683-690, Jun 1 2020. Multicenter Study
Observational Study.

MAOUCHE, K.; POLETTE, M.; JOLLY, T.; MEDJBER, K. *et al.* α 7 nicotinic acetylcholine receptor regulates airway epithelium differentiation by controlling basal cell proliferation. **The American journal of pathology**, 175, n. 5, p. 1868-1882, Nov 2009. Research Support, Non-U.S. Gov't.

MARON, M. B. Effect of elevated vascular pressure transients on protein permeability in the lung. **Journal of applied physiology**, 67, n. 1, p. 305-310, Jul 1989. Research Support, U.S. Gov't, P.H.S.

MARTISKAINEN, M.; POHJASVAARA, T.; MIKKELSSON, J.; MANTYLA, R. *et al.* Fibrinogen gene promoter -455 A allele as a risk factor for lacunar stroke. **Stroke**, 34, n. 4, p. 886-891, Apr 2003. Research Support, Non-U.S. Gov't.

MEDFORD, A. R.; MILLAR, A. B. Vascular endothelial growth factor (VEGF) in acute lung injury (ALI) and acute respiratory distress syndrome (ARDS): paradox or paradigm? **Thorax**, 61, n. 7, p. 621-626, Jul 2006. Research Support, Non-U.S. Gov't
Review.

MEISEL, C.; SCHWAB, J. M.; PRASS, K.; MEISEL, A.; DIRNAGL, U. Central nervous system injury-induced immune deficiency syndrome. **Nature reviews. Neuroscience**, 6, n. 10, p. 775-786, Oct 2005. Research Support, Non-U.S. Gov't
Review.

MEKITARIAN FILHO, E.; CARVALHO, W. B. Stroke in children. **Jornal de pediatria**, 85, n. 6, p. 469-479, Nov-Dec 2009. Review.

MENDES, R. S.; MARTINS, G.; OLIVEIRA, M. V.; ROCHA, N. N. *et al.* Iso-Oncotic Albumin Mitigates Brain and Kidney Injury in Experimental Focal Ischemic Stroke. **Frontiers in neurology**, 11, p. 1001, 2020.

MILIC-EMILI, J.; MEAD, J.; TURNER, J. M.; GLAUSER, E. M. Improved Technique for Estimating Pleural Pressure from Esophageal Balloons. **Journal of applied physiology**, 19, p. 207-211, Mar 1964.

MODI, M. P.; VORA, K. S.; PARIKH, G. P.; SHAH, V. R. A comparative study of impact of infusion of Ringer's Lactate solution versus normal saline on acid-base balance and serum electrolytes during live related renal transplantation. **Saudi journal of kidney diseases and transplantation : an official publication of the Saudi Center for Organ Transplantation, Saudi Arabia**, 23, n. 1, p. 135-137, Jan 2012. Comparative Study
Letter
Randomized Controlled Trial.

MORTAZAVI, M. M.; GRIESSENAUER, C. J.; ADEEB, N.; DEEP, A. *et al.* The choroid plexus: a comprehensive review of its history, anatomy, function, histology, embryology, and surgical considerations. **Childs Nerv Syst**, 30, n. 2, p. 205-214, Feb 2014.

MOULIN, T.; TATU, L.; CREPIN-LEBLOND, T.; CHAVOT, D. *et al.* The Besancon Stroke Registry: an acute stroke registry of 2,500 consecutive patients. **European neurology**, 38, n. 1, p. 10-20, 1997.

MOULIN, T.; TATU, L.; VUILLIER, F.; BERGER, E. *et al.* Role of a stroke data bank in evaluating cerebral infarction subtypes: patterns and outcome of 1,776 consecutive patients from the Besancon stroke registry. **Cerebrovascular diseases**, 10, n. 4, p. 261-271, Jul-Aug 2000.

MOZAFFARIAN, D.; BENJAMIN, E. J.; GO, A. S.; ARNETT, D. K. *et al.* Executive Summary: Heart Disease and Stroke Statistics--2016 Update: A Report From the American Heart Association. **Circulation**, 133, n. 4, p. 447-454, Jan 26 2016.

MYBURGH, J. A.; MYTHEN, M. G. Resuscitation fluids. **The New England journal of medicine**, 369, n. 25, p. 2462-2463, Dec 19 2013. Comment Letter.

NIKAIDO, T.; TANINO, Y.; WANG, X.; SATO, Y. *et al.* Serum decorin is a potential prognostic biomarker in patients with acute exacerbation of idiopathic pulmonary fibrosis. **Journal of thoracic disease**, 10, n. 9, p. 5346-5358, Sep 2018.

O'MALLEY, C. M. N.; FRUMENTO, R. J.; HARDY, M. A.; BENVENISTY, A. I. *et al.* A randomized, double-blind comparison of lactated Ringer's solution and 0.9% NaCl during renal transplantation. **Anesthesia and analgesia**, 100, n. 5, p. 1518-1524, May 2005. Clinical Trial Comparative Study Randomized Controlled Trial.

ODDO, M.; POOLE, D.; HELBOK, R.; MEYFROIDT, G. *et al.* Fluid therapy in neurointensive care patients: ESICM consensus and clinical practice recommendations. **Intensive care medicine**, 44, n. 4, p. 449-463, Apr 2018. Consensus Development Conference Practice Guideline Review.

OLDE ENGBERINK, R. H.; RORIJE, N. M.; HOMAN VAN DER HEIDE, J. J.; VAN DEN BORN, B. J.; VOGT, L. Role of the vascular wall in sodium homeostasis and salt sensitivity. **Journal of the American Society of Nephrology : JASN**, 26, n. 4, p. 777-783, Apr 2015. Research Support, Non-U.S. Gov't Review.

OLDE ENGBERINK, R. H.; RORIJE, N. M.; VAN DEN BORN, B. H.; VOGT, L. Quantification of nonosmotic sodium storage capacity following acute hypertonic saline infusion in healthy individuals. **Kidney international**, 91, n. 3, p. 738-745, Mar 2017. Research Support, Non-U.S. Gov't.

PAPAIIOANNOU, A. I.; KOSTIKAS, K.; KOLLIA, P.; GOURGOULIANIS, K. I. Clinical implications for vascular endothelial growth factor in the lung: friend or foe? **Respiratory research**, 7, n. 1, p. 128, Oct 17 2006. Review.

PELOSI, P.; FERGUSON, N. D.; FRUTOS-VIVAR, F.; ANZUETO, A. *et al.* Management and outcome of mechanically ventilated neurologic patients. **Critical care medicine**, 39, n. 6, p. 1482-1492, Jun 2011. Multicenter Study
Research Support, Non-U.S. Gov't.

PERNER, A.; HAASE, N.; GUTTORMSEN, A. B.; TENHUNEN, J. *et al.* Hydroxyethyl starch 130/0.42 versus Ringer's acetate in severe sepsis. **The New England journal of medicine**, 367, n. 2, p. 124-134, Jul 12 2012. Comparative Study
Multicenter Study
Randomized Controlled Trial
Research Support, Non-U.S. Gov't.

PFORTMUELLER, C. A.; FLEISCHMANN, E. Acetate-buffered crystalloid fluids: Current knowledge, a systematic review. **Journal of critical care**, 35, p. 96-104, Oct 2016. Review
Systematic Review.

PONCHEL, F.; TOOMES, C.; BRANSFIELD, K.; LEONG, F. T. *et al.* Real-time PCR based on SYBR-Green I fluorescence: an alternative to the TaqMan assay for a relative quantification of gene rearrangements, gene amplifications and micro gene deletions. **BMC biotechnology**, 3, p. 18, Oct 13 2003.

POWERS, W. J.; RABINSTEIN, A. A.; ACKERSON, T.; ADEOYE, O. M. *et al.* 2018 Guidelines for the Early Management of Patients With Acute Ischemic Stroke: A Guideline for Healthcare Professionals From the American Heart Association/American Stroke Association. **Stroke**, 49, n. 3, p. e46-e110, Mar 2018. Practice Guideline
Review.

PRASS, K.; MEISEL, C.; HOFLICH, C.; BRAUN, J. *et al.* Stroke-induced immunodeficiency promotes spontaneous bacterial infections and is mediated by sympathetic activation reversal by poststroke T helper cell type 1-like immunostimulation. **The Journal of experimental medicine**, 198, n. 5, p. 725-736, Sep 1 2003. Research Support, Non-U.S. Gov't.

QURESHI, A. I.; ABD-ALLAH, F.; AL-SENANI, F.; AYTAC, E. *et al.* Management of acute ischemic stroke in patients with COVID-19 infection: Insights from an international panel. **The American journal of emergency medicine**, 38, n. 7, p. 1548 e1545-1548 e1547, Jul 2020. Systematic Review.

QURESHI, A. I.; SUAREZ, J. I. Use of hypertonic saline solutions in treatment of cerebral edema and intracranial hypertension. **Critical care medicine**, 28, n. 9, p. 3301-3313, Sep 2000. Research Support, Non-U.S. Gov't
Review.

REID, F.; LOBO, D. N.; WILLIAMS, R. N.; ROWLANDS, B. J.; ALLISON, S. P. (Ab)normal saline and physiological Hartmann's solution: a randomized double-blind crossover study. **Clinical science**, 104, n. 1, p. 17-24, Jan 2003. Clinical Trial
Comment
Comparative Study
Randomized Controlled Trial.

ROCH, A.; CASTANIER, M.; MARDELLE, V.; TROUSSE, D. *et al.* Effect of hypertonic saline pre-treatment on ischemia-reperfusion lung injury in pig. **The Journal of heart and lung transplantation : the official publication of the International Society for Heart Transplantation**, 27, n. 9, p. 1023-1030, Sep 2008. Research Support, Non-U.S. Gov't.

ROCHA, N. N.; SAMARY, C. S.; ANTUNES, M. A.; OLIVEIRA, M. V. *et al.* The impact of fluid status and decremental PEEP strategy on cardiac function and lung and kidney damage in mild-moderate experimental acute respiratory distress syndrome. **Respiratory research**, 22, n. 1, p. 214, Jul 30 2021.

ROSAS-BALLINA, M.; TRACEY, K. J. Cholinergic control of inflammation. **Journal of internal medicine**, 265, n. 6, p. 663-679, Jun 2009. Review.

ROTHWELL, P. M. The high cost of not funding stroke research: a comparison with heart disease and cancer. **Lancet**, 357, n. 9268, p. 1612-1616, May 19 2001. Research Support, Non-U.S. Gov't Review.

ROWLAND, N. E. Food or fluid restriction in common laboratory animals: balancing welfare considerations with scientific inquiry. **Comparative medicine**, 57, n. 2, p. 149-160, Apr 2007. Review.

SAMARY, C. S.; PELOSI, P.; SILVA, P. L.; ROCCO, P. R. M. Immunomodulation after ischemic stroke: potential mechanisms and implications for therapy. **Critical Care**, 20, n. 1, p. 391, 2016.

SAMARY, C. S.; RAMOS, A. B.; MAIA, L. A.; ROCHA, N. N. *et al.* Focal ischemic stroke leads to lung injury and reduces alveolar macrophage phagocytic capability in rats. **Critical care**, 22, n. 1, p. 249, Oct 5 2018.

SCHWARTZ, L.; GUAIS, A.; POOYA, M.; ABOLHASSANI, M. Is inflammation a consequence of extracellular hyperosmolarity? **Journal of inflammation**, 6, p. 21, Jun 23 2009.

SEAY, N. W.; LEHRICH, R. W.; GREENBERG, A. Diagnosis and Management of Disorders of Body Tonicity-Hyponatremia and Hypernatremia: Core Curriculum 2020. **American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation**, 75, n. 2, p. 272-286, Feb 2020. Review.

SEI, Y.; VITKOVIC, L.; YOKOYAMA, M. M. Cytokines in the central nervous system: regulatory roles in neuronal function, cell death and repair. **Neuroimmunomodulation**, 2, n. 3, p. 121-133, May-Jun 1995. Review.

SHAW, A. D.; BAGSHAW, S. M.; GOLDSTEIN, S. L.; SCHERER, L. A. *et al.* Major complications, mortality, and resource utilization after open abdominal surgery: 0.9% saline compared to Plasma-Lyte. **Annals of surgery**, 255, n. 5, p. 821-829, May 2012. Comparative Study Research Support, Non-U.S. Gov't.

SHIM, R.; WONG, C. H. Ischemia, Immunosuppression and Infection--Tackling the Predicaments of Post-Stroke Complications. **International journal of molecular sciences**, 17, n. 1, Jan 5 2016. Research Support, Non-U.S. Gov't Review.

SILVA, P. L.; GULDNER, A.; UHLIG, C.; CARVALHO, N. *et al.* Effects of intravascular volume replacement on lung and kidney function and damage in nonseptic experimental lung injury. **Anesthesiology**, 118, n. 2, p. 395-408, Feb 2013. Research Support, Non-U.S. Gov't.

SINGAM, A.; YTTERBERG, C.; THAM, K.; VON KOCH, L. Participation in Complex and Social Everyday Activities Six Years after Stroke: Predictors for Return to Pre-Stroke Level. **PloS one**, 10, n. 12, p. e0144344, 2015. Research Support, Non-U.S. Gov't.

SOUSA, G. C.; FERNANDES, M. V.; CRUZ, F. F.; ANTUNES, M. A. *et al.* Comparative effects of dexmedetomidine and propofol on brain and lung damage in experimental acute ischemic stroke. **Scientific reports**, 11, n. 1, p. 23133, Nov 30 2021. Comparative Study
Research Support, Non-U.S. Gov't.

SPIETH, P. M.; SILVA, P. L.; GARCIA, C. S.; ORNELLAS, D. S. *et al.* Modulation of stress versus time product during mechanical ventilation influences inflammation as well as alveolar epithelial and endothelial response in rats. **Anesthesiology**, 122, n. 1, p. 106-116, Jan 2015. Comparative Study
Research Support, Non-U.S. Gov't.

STANLEY, D.; MASON, L. J.; MACKIN, K. E.; SRIKHANTA, Y. N. *et al.* Translocation and dissemination of commensal bacteria in post-stroke infection. **Nature medicine**, 22, n. 11, p. 1277-1284, Nov 2016. Research Support, Non-U.S. Gov't.

STARLING, E. H. On the Absorption of Fluids from the Connective Tissue Spaces. **The Journal of physiology**, 19, n. 4, p. 312-326, May 5 1896.

SUGIYAMA, S.; SASAKI, T.; TANAKA, H.; YAN, H. *et al.* The tight junction protein occludin modulates blood-brain barrier integrity and neurological function after ischemic stroke in mice. **Scientific reports**, 13, n. 1, p. 2892, Feb 18 2023. Research Support, Non-U.S. Gov't.

SUPANC, V.; BILOGLAV, Z.; KES, V. B.; DEMARIN, V. Role of cell adhesion molecules in acute ischemic stroke. **Annals of Saudi medicine**, 31, n. 4, p. 365-370, Jul-Aug 2011.

SZATMARI, T.; MUNDT, F.; KUMAR-SINGH, A.; MOBUS, L. *et al.* Molecular targets and signaling pathways regulated by nuclear translocation of syndecan-1. **BMC cell biology**, 18, n. 1, p. 34, Dec 8 2017.

TAMURA, Y. Current Approach to Rodents as Patients. **Journal of exotic pet medicine**, 19, n. 1, p. 36-55, Jan 2010.

TARKOWSKI, E.; ROSENGREN, L.; BLOMSTRAND, C.; WIKKELSO, C. *et al.* Early intrathecal production of interleukin-6 predicts the size of brain lesion in stroke. **Stroke**, 26, n. 8, p. 1393-1398, Aug 1995. Research Support, Non-U.S. Gov't.

TEIXEIRA, D. E.; PERUCHETTI, D. B.; SOUZA, M. C.; DAS GRACAS HENRIQUES, M. G. *et al.* A high salt diet induces tubular damage associated with a pro-inflammatory and pro-fibrotic response in a hypertension-independent manner. **Biochimica et biophysica acta. Molecular basis of disease**, 1866, n. 11, p. 165907, Nov 1 2020. Research Support, Non-U.S. Gov't.

THAYABARANATHAN, T.; KIM, J.; CADILHAC, D. A.; THRIFT, A. G. *et al.* Global stroke statistics 2022. **International journal of stroke : official journal of the International Stroke Society**, 17, n. 9, p. 946-956, Oct 2022. Research Support, Non-U.S. Gov't Review.

TITZE, J. Water-free sodium accumulation. **Seminars in dialysis**, 22, n. 3, p. 253-255, May-Jun 2009. Review.

TOMITA, K.; SAITO, Y.; SUZUKI, T.; IMBABY, S. *et al.* Vascular endothelial growth factor contributes to lung vascular hyperpermeability in sepsis-associated acute lung injury. **Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology**, 393, n. 12, p. 2365-2374, Dec 2020.

TROTMAN-LUCAS, M.; GIBSON, C. L. A review of experimental models of focal cerebral ischemia focusing on the middle cerebral artery occlusion model. **F1000Research**, 10, p. 242, 2021. Research Support, Non-U.S. Gov't Review.

TSAO, C. W.; ADAY, A. W.; ALMARZOOQ, Z. I.; ALONSO, A. *et al.* Heart Disease and Stroke Statistics-2022 Update: A Report From the American Heart Association. **Circulation**, 145, n. 8, p. e153-e639, Feb 22 2022.

TSUKITA, S.; FURUSE, M.; ITOH, M. Multifunctional strands in tight junctions. **Nature reviews. Molecular cell biology**, 2, n. 4, p. 285-293, Apr 2001. Review.

UENO, M.; MORIYAMA, Y.; TODA, R.; YOTSUMOTO, G. *et al.* Effect of a neutrophil elastase inhibitor (ONO-5046 Na) on ischemia/reperfusion injury using the left-sided heterotopic canine heart transplantation model. **The Journal of heart and lung transplantation : the official publication of the International Society for Heart Transplantation**, 20, n. 8, p. 889-896, Aug 2001.

UHLIG, C.; SILVA, P. L.; ORNELLAS, D.; SANTOS, R. S. *et al.* The effects of salbutamol on epithelial ion channels depend on the etiology of acute respiratory distress syndrome but not the route of administration. **Respiratory research**, 15, n. 1, p. 56, May 2 2014. Research Support, Non-U.S. Gov't.

VAN REGENMORTEL, N.; DE WEERDT, T.; VAN CRAENENBROECK, A. H.; ROELANT, E. *et al.* Effect of isotonic versus hypotonic maintenance fluid therapy on urine output, fluid balance, and electrolyte homeostasis: a crossover study in fasting adult volunteers. **British journal of anaesthesia**, 118, n. 6, p. 892-900, Jun 1 2017. Randomized Controlled Trial.

VAN REGENMORTEL, N.; HENDRICKX, S.; ROELANT, E.; BAAR, I. *et al.* 154 compared to 54 mmol per liter of sodium in intravenous maintenance fluid therapy for adult patients undergoing major thoracic surgery (TOPMAST): a single-center randomized controlled double-blind trial. **Intensive care medicine**, 45, n. 10, p. 1422-1432, Oct 2019. Randomized Controlled Trial.

VAN REGENMORTEL, N.; JORENS, P. G.; MALBRAIN, M. L. Fluid management before, during and after elective surgery. **Current opinion in critical care**, 20, n. 4, p. 390-395, Aug 2014. Review.

VAN REGENMORTEL, N.; LANGER, T.; DE WEERDT, T.; ROELANT, E. *et al.* Effect of sodium administration on fluid balance and sodium balance in health and the perioperative setting. Extended summary with additional insights from the MIHMoSA and TOPMAST studies. **Journal of critical care**, 67, p. 157-165, Feb 2022. Research Support, Non-U.S. Gov't.

VAN REGENMORTEL, N.; MOERS, L.; LANGER, T.; ROELANT, E. *et al.* Fluid-induced harm in the hospital: look beyond volume and start considering sodium. From physiology towards recommendations for daily practice in hospitalized adults. **Annals of intensive care**, 11, n. 1, p. 79, May 17 2021. Review.

VERNINO, S.; BROWN, R. D., JR.; SEJVAR, J. J.; SICKS, J. D. *et al.* Cause-specific mortality after first cerebral infarction: a population-based study. **Stroke**, 34, n. 8, p. 1828-1832, Aug 2003. Research Support, Non-U.S. Gov't
Research Support, U.S. Gov't, P.H.S.

VILA, N.; CASTILLO, J.; DAVALOS, A.; CHAMORRO, A. Proinflammatory cytokines and early neurological worsening in ischemic stroke. **Stroke**, 31, n. 10, p. 2325-2329, Oct 2000. Clinical Trial.

VIRANI, S. S.; ALONSO, A.; BENJAMIN, E. J.; BITTENCOURT, M. S. *et al.* Heart Disease and Stroke Statistics-2020 Update: A Report From the American Heart Association. **Circulation**, 141, n. 9, p. e139-e596, Mar 3 2020.

VISVANATHAN, A.; DENNIS, M.; WHITELEY, W. Parenteral fluid regimens for improving functional outcome in people with acute stroke. **The Cochrane database of systematic reviews**, 2015, n. 9, p. CD011138, Sep 1 2015. Meta-Analysis
Review
Systematic Review.

WEBER, D. J.; GRACON, A. S.; RIPSCH, M. S.; FISHER, A. J. *et al.* The HMGB1-RAGE axis mediates traumatic brain injury-induced pulmonary dysfunction in lung transplantation. **Science translational medicine**, 6, n. 252, p. 252ra124, Sep 3 2014. Research Support, N.I.H., Extramural
Retracted Publication.

WESTERLIND, E.; PERSSON, H. C.; SUNNERHAGEN, K. S. Return to Work after a Stroke in Working Age Persons; A Six-Year Follow Up. **PLoS One**, 12, n. 1, p. e0169759, 2017.

WHITE, H.; BODEN-ALBALA, B.; WANG, C.; ELKIND, M. S. *et al.* Ischemic stroke subtype incidence among whites, blacks, and Hispanics: the Northern Manhattan Study. **Circulation**, 111, n. 10, p. 1327-1331, Mar 15 2005. Research Support, N.I.H., Extramural
Research Support, U.S. Gov't, P.H.S.

WILCOX, C. S. Regulation of renal blood flow by plasma chloride. **The Journal of clinical investigation**, 71, n. 3, p. 726-735, Mar 1983. Research Support, Non-U.S. Gov't
Research Support, U.S. Gov't, P.H.S.

WILKES, N. J.; WOOLF, R.; MUTCH, M.; MALLETT, S. V. *et al.* The effects of balanced versus saline-based hetastarch and crystalloid solutions on acid-base and electrolyte status and gastric mucosal perfusion in elderly surgical patients. **Anesthesia and analgesia**, 93, n. 4, p. 811-816, Oct 2001. Clinical Trial
Randomized Controlled Trial

Research Support, Non-U.S. Gov't.

WOICIECHOWSKY, C.; ASADULLAH, K.; NESTLER, D.; EBERHARDT, B. *et al.* Sympathetic activation triggers systemic interleukin-10 release in immunodepression induced by brain injury. **Nature medicine**, 4, n. 7, p. 808-813, Jul 1998. Research Support, Non-U.S. Gov't.

WOODCOCK, T. E.; WOODCOCK, T. M. Revised Starling equation and the glycocalyx model of transvascular fluid exchange: an improved paradigm for prescribing intravenous fluid therapy. **British journal of anaesthesia**, 108, n. 3, p. 384-394, Mar 2012. Review.

YADAV, E.; YADAV, N.; HUS, A.; YADAV, J. S. Aquaporins in lung health and disease: Emerging roles, regulation, and clinical implications. **Respiratory medicine**, 174, p. 106193, Nov-Dec 2020. Research Support, N.I.H., Extramural
Research Support, Non-U.S. Gov't
Review.

YAMASAKI, Y.; MATSUURA, N.; SHOZUHARA, H.; ONODERA, H. *et al.* Interleukin-1 as a pathogenetic mediator of ischemic brain damage in rats. **Stroke**, 26, n. 4, p. 676-680; discussion 681, Apr 1995.

YANO, S.; HERBST, R. S.; SHINOHARA, H.; KNIGHTON, B. *et al.* Treatment for malignant pleural effusion of human lung adenocarcinoma by inhibition of vascular endothelial growth factor receptor tyrosine kinase phosphorylation. **Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research**, 6, n. 3, p. 957-965, Mar 2000. Research Support, U.S. Gov't, P.H.S.

YILDIRIM, E.; SOLAROGLU, I.; OKUTAN, O.; OZISIK, K. *et al.* Ultrastructural changes in tracheobronchial epithelia following experimental traumatic brain injury in rats: protective effect of erythropoietin. **The Journal of heart and lung transplantation : the official publication of the International Society for Heart Transplantation**, 23, n. 12, p. 1423-1429, Dec 2004.

YUNOS, N. M.; BELLOMO, R.; HEGARTY, C.; STORY, D. *et al.* Association between a chloride-liberal vs chloride-restrictive intravenous fluid administration strategy and kidney injury in critically ill adults. **JAMA**, 308, n. 15, p. 1566-1572, Oct 17 2012. Clinical Trial.

ZABNER, J.; ANGELI, L. S.; MARTINEZ, R. R.; SANCHEZ DE LEON, R. The effects of graded administration of positive end expiratory pressure on the fluid filtration rate in isolated rabbit lungs, using normal lungs, hydrostatic oedema lungs and oleic acid induced oedema. **Intensive care medicine**, 16, n. 2, p. 89-94, 1990. Research Support, Non-U.S. Gov't.

ZHAO, Q.; YAN, T.; CHOPP, M.; VENKAT, P.; CHEN, J. Brain-kidney interaction: Renal dysfunction following ischemic stroke. **Journal of cerebral blood flow and metabolism : official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism**, 40, n. 2, p. 246-262, Feb 2020. Review.

ANEXOS

Anexo A - Aprovação no Comitê de Ética



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO – UFRJ
Centro de Ciências da Saúde - CCS

Rio de Janeiro, 28 de maio de 2021

Prezada Professora Cynthia dos Santos Samary,

A Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) em Experimentação Científica do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Rio de Janeiro registrada no Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) sob o número de processo 01200.001568/2013-87 certifica que o projeto intitulado: **“Fluido hipotônico é melhor que isotônico para proteger o cérebro, pulmão e rim após AVE isquêmico focal.”** protocolo nº 013/21, sob sua responsabilidade que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais para fins de pesquisa científica (ou ensino) encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), foi aprovado por esta comissão de ética, em reunião do dia **12/05/2021**.

Finalidade	<input type="checkbox"/> Ensino <input checked="" type="checkbox"/> Pesquisa Científica
Vigência do Projeto	Até 28/05/2024
Espécie/linhagem	<i>Rattus norvegicus</i> / Wistar
Nº de animais	40 animais
Peso/idade	300g/ 8 semanas
Sexo	Machos
Origem	Biotério Central de Ratos da UFRJ – CCS – Interblocos F/G – UFRJ.

Atenciosamente;

Prof. Marcel Frajblat
 Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais - CCS