



FLÁVIO RAMALHO ROMERO

**Concentração sérica da proteína C reativa como indicador
preditivo do prognóstico clínico em indivíduos com
hemorragia subaracnóidea aneurismática**

Botucatu
2014

FLÁVIO RAMALHO ROMERO

**Concentração sérica da proteína C reativa como indicador
preditivo do prognóstico clínico em indivíduos com
hemorragia subaracnóidea aneurismática**

Dissertação apresentada à Faculdade de
Medicina da Universidade Estadual
Paulista “Júlio de Mesquita Filho”,
Campus de Botucatu, para obtenção do
título de Mestre em Cirurgia.

Programa de Bases Gerais da Cirurgia

Orientador: Prof. Dra. Daniele Cristina Cataneo

Co-orientador: Prof. Dr. Antônio José Maria Cataneo

Botucatu

2014

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE - CRB 8/5651

Romero, Flávio Ramalho.

Concentração sérica da proteína C reativa como indicador preditivo do
prognóstico clínico em indivíduos com hemorragia subaracnóidea aneurismática /
Flávio Ramalho Romero. - Botucatu, 2014

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de
Medicina de Botucatu

Orientador: Daniele Cristina Cataneo

Coorientador: Antônio José Maria Cataneo

Capes: 40102084

1. Acidentes vasculares cerebrais. 2. Aneurisma. 3. Hemorragia cerebral. 4.
Proteína C-Reativa.

Palavras-chave: Aneurisma intracraniano; Hemorragia subaracnóidea; Proteína C;
Vasoespasm intracraniano.

Dedico

*Aos meus pais, Reginaldo e Mércia Romero, a quem expresso a minha sempre
insuficiente gratidão.*

*À minha amada esposa Gabriela, com quem aprendo a cada dia a me tornar uma
pessoa melhor.*

*Aos meus amados filhos Lucas e Helena, anjos enviados por Deus para iluminar
nosso lar.*

*Ao meu querido irmão, Dr. Alexandre Romero, pelo empreendimento do verdadeiro
significado da palavra irmão.*

Aos pacientes, motivo do esforço até aqui empreendido.

AGRADECIMENTOS

À Prof. Dra. *Daniele Cristina Cataneo*, pela confiança e pela oportunidade de trabalhar ao seu lado.

Ao Prof. Dr. *Antônio José Maria Cataneo*, pelos constantes exemplos de dedicação à vida acadêmica.

Ao Dr. *Clemente Augusto de Brito Pereira*, pela inestimável contribuição na minha formação como Neurocirurgião.

Ao Dr. *Sérgio Listik*, pela amizade e pelas oportunidades oferecidas durante minha vida profissional.

A todos os médicos assistentes e colegas do Hospital Heliópolis pelo inestimável auxílio na minha formação.

Ao Prof. Dr. *Evandro Pinto da Luz de Oliveira*, pela oportunidade de compartilhar seus ensinamentos e lapidar minha formação em Neurocirurgia.

Ao Dr. *Feres Aparecido Chaddad Neto*, Neurocirurgião do Instituto de Ciências Neurológicas - ICNE, pela amizade e pela inestimável contribuição na minha formação.

Aos Drs. *Luiz Carlos de Alencastro* e *Luiz Felipe de Alencastro*, Neurocirurgiões do

Hospital Mãe de Deus, Porto Alegre, pela possibilidade de compartilhar sua experiência em neuroendoscopia e pela inestimável participação na minha formação como neurocirurgião.

A todos os professores e médicos assistentes do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP, pela formação médica ética e humana durante minha graduação.

Ao Prof. Dr. *Roberto Colichio Gabarra*, chefe da Disciplina de Neurocirurgia da UNESP – Botucatu, pela confiança e pela oportunidade de regresso a Botucatu.

Ao Prof. Dr. *Marco Antônio Zanini*, professor assistente doutor da Disciplina de Neurocirurgia da UNESP – Botucatu, pela oportunidade de trabalhar ao seu lado.

Ao Prof. Dr. *Antônio Tadeu de Souza Faleiros*, professor assistente doutor da Disciplina de Neurocirurgia de Botucatu.

Ao Prof. *Carlos Clayton Macedo de Freitas*, professor assistente da Disciplina de Neurocirurgia de Botucatu.

Ao Dr. *Luis Gustavo Ducati*, pela amizade e pela ajuda nesta nova etapa de minha vida.

Ao Prof. Dr. *Vidal Haddad Júnior*, professor adjunto da Disciplina de Dermatologia da UNESP – Botucatu, pela amizade e pelos exemplos de conduta.

Aos Dr. *Modesto Cerione Júnior*, *Adalberto Sestari*, *Sérgio Soares Guerrero*,
Custódio M. de Freitas e *Eduardo de Freitas Bertolini*, pela amizade e pelas
oportunidades.

Aos amigos do Priorado de Rubião...

“A esperança não é a ilusão de que tudo vai acabar bem. É, apenas, a certeza de que a vida e o trabalho tem sentido.”

(Provérbio Chinês – Autor Desconhecido)

Os seguintes artigos originais foram gerados a partir de dados parciais obtidos durante o desenvolvimento desta dissertação.

Romero FR, Ducati LG, Zanini MA, Cataneo DC, Cataneo AMJ, Gabarra RC. Predicting vasospasm after aneurysmal subarachnoid hemorrhage with C reactive protein levels. Health (Irvine). 2013;7(A5):1-6.

Romero FR, Bertolini E, Figueiredo EG, Teixeira MJ. Serum C-reactive protein levels predict neurological outcome after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. Arq Neuropsiquiatr. 2012;70(3):202-5.

Romero FR, Figueiredo EG, Teixeira MJ. Signaling Pathways in Cerebral Vasospasm. Arq Bras Neurocir. 2011; 30(3): 116-9.

SUMÁRIO

Lista de Abreviaturas

Lista de Símbolos

Lista de Figuras

Lista de Quadros

Lista de Tabelas

Lista de Gráficos

Resumo

Summary

1. INTRODUÇÃO	1
1.1. Vasoespasmo cerebral	2
1.1.1 Dados históricos	5
1.1.2 Dados epidemiológicos	8
1.1.3 Fisiopatologia	9
1.1.4 Diagnóstico e fatores preditivos	14
1.2. Proteína C reativa	18
1.2.1 Resposta inflamatória de fase aguda	20
1.2.2 Métodos de dosagem e valores de referência	25
1.3. Relevância do estudo	25
2. OBJETIVOS	27
3. MATERIAL E MÉTODO	29
3.1. Critérios de inclusão	30
3.2. Critérios de exclusão	31

3.3. Casuística	31
3.4. Método	33
3.5. Análise estatística	34
4. RESULTADOS	37
5. DISCUSSÃO	46
6. CONCLUSÕES	54
7. REFERÊNCIAS	56
8. ANEXOS	74
Anexo A - Aprovação da Comissão de Ética para análise de projeto de pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Anexo B - Aprovação da Comissão de Ética do Hospital Ipiranga. Anexo C - Termo de consentimento livre e esclarecido.	
9. APÊNDICES	79
Apêndice A - Predicting vasospasm after aneurysmal subarachnoid hemorrhage with C reactive protein levels. Apêndice B - Serum C-reactive protein levels predict neurological outcome after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. Apêndice C - Signaling Pathways in Cerebral Vasospasm. Apêndice D – Lista de dados, exame neurológico na admissão, achados pós operatórios e dados prognósticos na alta hospitalar.	

LISTA DE ABREVIATURAS

AB	Artéria basilar
ACA	Artéria cerebral anterior
ACI	Artéria carótida interna
ACM	Artéria cerebral média
AComA	Artéria comunicante anterior
ACP	Artéria cerebral posterior
ADMA	Dimetilarginina assimétrica
APer	Artéria pericalosa
AR	Artrite reumatóide
AV	Artéria vertebral
AVE	Acidente vascular encefálico
Box	Produtos de oxidação de bilirrubina
DAG	Diacilglicerol
DIT	Déficit isquêmico tardio
DM	Diabete mellitus
DTC	Doppler transcraniano
EF	Escala de Fisher
EN	Endotelina
eNOS	Isoforma endotelial de óxido nítrico
ET _A	Receptor de endotelina tipo A
ET _B	Receptor de endotelina tipo B
F	Gênero feminino
GCS	Escala de coma de Glasgow
GOS	Escala prognóstica de Glasgow
Hb	Hemoglobina
HH	Escala de Hunt Hess
HSA	Hemorragia subaracnóidea
IAM	Infarto agudo do miocárdio
ICAM	Molécula de adesão intercelular endotelial
IL	Interleucina
iNOS	Enzima óxido nítrico sintetase indutível

IP3	Inositol 1,4,5-trifosfato
LCR	Líquido cefalorraquidiano
LFA	Antígeno de função leucocitária
M	Gênero masculino
mRS	Escala de Rhankim modificada
nNOS	Enzima óxido nítrico sintetase neuronal
NO ₂	Dióxido de nitrogênio
ON	Óxido nítrico
ONs	Enzima óxido nítrico sintetase
PAF	Fator ativador de plaquetas
PCR	Proteína C reativa
PDE	Fosfodiesterase
PKC	Proteína kinase C
PI	Fosfatidilinositol
PICA	Artéria cerebelar pósterio inferior
QC	Quimiocina
RL	Radicais livres
RMN	Ressonância magnética nuclear
RNA _m	Ácido ribonucleico mensageiro
sGC	Guanilil ciclase solúvel
TC	Tomografia computadorizada
TNF	Fator de necrose tumoral
VAM	Molécula de adesão vascular
VC	Vasoespasma cerebral
VHS	Velocidade de hemossedimentação
VM	Velocidade média
WFNSS	Escala da Federação Mundial dos Cirurgiões Neurológicos

LISTA DE SÍMBOLOS

mg	Miligramas
/	por
L	Litro
<	Menor
>	Mayor
=	Igual
r	Coeficiente de Correlación de Pearson
z	Índice de Fisher
cm	Centímetros
mm	Milímetros
s	Segundos

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Corte axial de TC de crânio sem contraste (figura à esquerda) evidenciando HSA Fisher III e angiografia encefálica (figura à direita) mostrando vasoespasma da artéria cerebral anterior e artéria cerebral média (setas) 2
Figura 2	Tomografia do crânio sem contraste em corte axial mostrando isquemia do território da artéria cerebral média direita em paciente com VC grave (caso 7) 4
Figura 3	Sir William W. Gull (1816-1890) 5
Figura 4	Sir Howard Walter Florey (1898-1968) 6
Figura 5	Antônio Caetano de Abreu Freire Egas Moniz (1874-1955) 6
Figura 6	Arthur David Ecker (1913-2006) 7
Figura 7	Cortes axiais de tomografia de crânio sem contraste apresentando imagem de hipodensidade relacionada a DIT antes (à esquerda) e após (à direita) craniotomia descompressiva (caso 64) 8
Figura 8	Patogênese de VC após HSA. Após a rotura do aneurisma intracraniano, produtos de degradação de sangue são liberados do lúmen arterial (1) através da parede do aneurisma roto (2) para o espaço subaracnóideo (SAS). Neste local, forma-se o coágulo sanguíneo (3), que tem propriedades vasoativas. A degeneração dos produtos do sangue contidos no coágulo induzem a formação de oxihemoglobina, que desencadeia cascata de eventos no endotélio vascular (4), musculatura lisa (5) e adventícia

(6), resultando em contração prolongada da parede arterial e DIT secundário. Neurônios (amarelo); fibroblastos (verde). Adaptado de Kuhana, 2007 10

Figura 9 Representação artística da adesão e migração leucocitária, que iniciam o processo de inflamação associado ao VC. As seletinas mediam da captura à adesão e as integrinas são envolvidas na adesão 11

Figura 10 Resumo das principais alterações fisiopatológicas relacionadas ao VC. A oxidação dos íons ferro presentes no coágulo no espaço subaracnóideo gera radicais livres (RL). Há redução neuronal perivascular de NOS e aumento de EN-1. Este processo causa vasoconstrição devido ao aumento da concentração intracelular de íons cálcio. A redução de NO é agravada pela geração de bilirrubina e pelos produtos de oxidação da bilirrubina e D-Metil arginina assimétrica, com consequente inibição da NOS endotelial. Alterações inflamatórias secundárias à HSA contribuem para vasoconstrição e aumentam a supressão na NOS. Aumento da EN-1 atua em receptores tipo A para ativação da via de constrição da musculatura lisa via PKC. A elevação prolongada dos níveis de cálcio na musculatura lisa podem causar morte celular por apoptose e necrose, aumentando a resposta de remodelamento vascular 13

Figura 11 Esquema dos componentes inflamatórios no VC. A resposta inflamatória é uma reação complexa desencadeada pelos componentes do sangue no espaço subaracnóideo 14

Figura 12. Representação da estrutura da PCR 19

LISTA DE QUADROS

Quadro 1	Escala de Hunt Hess	15
Quadro 2	Escale da WFNSS	16
Quadro 3	Escala de Coma de Glasgow	16
Quadro 4	Escala de Fisher	17
Quadro 5	Escala Prognóstica de Glasgow (GOS)	34
Quadro 6	Escala de Rankin Modificada (mRS)	34

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Distribuição dos aneurismas segundo a localização (n=100)	33
Tabela 2.	Distribuição dos aneurismas segundo o tamanho em milímetro (n=100)	33
Tabela 3.	Distribuição dos valores na GCS admissionais dos doentes do estudo (n=100)	38
Tabela 4.	Distribuição dos valores na escala de Hunt Hess admissionais dos doentes do estudo (n=100)	38
Tabela 5.	Distribuição dos valores na escala de Fisher admissionais dos doentes do estudo (n=100)	38
Tabela 6.	Distribuição dos valores na GOS na alta dos doentes do estudo (n=100)	39
Tabela 7.	Distribuição dos valores na mRS na alta dos doentes do estudo (n=100)	39
Tabela 8.	Concentrações séricas médias da PCR, valores medianos e desvio padrão dos doentes do estudo (n=100)	39
Tabela 9.	Distribuição dos valores médios das concentrações séricas da PCR, mediana e desvio padrão (mg/L) para os grupos sem vasoespasma, com alterações hemodinâmicas no DTC e com vasoespasma clínico (n=100)	42
Tabela 10.	Resultado do modelo de regressão logística multivariada para comparação dos grupos com e sem vasoespasma encefálico	45

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1	Distribuição dos indivíduos do estudo segundo a faixa etária (em anos) e gênero (n=100) 32
Gráfico 2	Distribuição dos indivíduos do estudo por grupo étnico (n=100) 32
Gráfico 3	Distribuição da média das concentrações séricas da PCR (mg/L) dos doentes do estudo 40
Gráfico 4	Distribuição temporal das concentrações séricas da PCR (mg/L) segundo o índice de admissão da escala de coma de Glasgow (GCS) 40
Gráfico 5	Distribuição temporal das concentrações séricas da PCR (mg/L) segundo o índice de admissão da escala de Hunt Hess (HH) <3 e ≥ 3..... 41
Gráfico 6	Distribuição temporal das concentrações séricas da PCR (mg/L) segundo o índice de admissão da escala de Fisher 1-2 e 3-4..... 41
Gráfico 7	Distribuição temporal das concentrações séricas da PCR (mg/L) em doentes sem VC e com alterações hemodinâmicas no DTC 43
Gráfico 8	Distribuição temporal das concentrações séricas da PCR (mg/L) em doentes sem VC e com VC clínico 43
Gráfico 9	Distribuição temporal das concentrações séricas da PCR (mg/L) relacionadas ao índice prognóstico de Glasgow (GOS) ≥ 4 e < 4 na alta hospitalar 43

Gráfico 10	Distribuição temporal das concentrações séricas da PCR (mg/L) relacionadas à escala de Rhankim modificada (mRS) 0-2 e 3-6 na alta hospitalar 44
Gráfico 11	Distribuição temporal das concentrações séricas da PCR (mg/L) e sua relação entre o tempo de permanência hospitalar 44

RESUMO.

Romero, FR. **Concentração sérica da proteína C reativa como indicador preditivo do prognóstico clínico em indivíduos com hemorragia subaracnóidea aneurismática.** 2014. 115f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2014.

INTRODUÇÃO: O vasoespasmo cerebral (VC) é definido como constrição gradual e prolongada das artérias cerebrais no espaço subaracnóideo após episódio de hemorragia subaracnóidea (HSA). É a causa mais importante de morbidade nestes doentes. O objetivo deste estudo é de avaliar a relação entre as concentrações séricas da proteína C reativa (PCR) e o prognóstico neurológico em indivíduos com HSA aneurismática. **CASUÍSTICA E MÉTODO:** Cem indivíduos adultos com diagnóstico de HSA foram avaliados prospectivamente. Escala de coma de Glasgow (GCS), escala de Hunt Hess (HH), escala de Fisher (EF), tomografia computadorizada (TC) de crânio, angiografia cerebral e exame neurológico foram anotados. A PCR sérica foi dosada diariamente da admissão ao 10º dia. Os indivíduos foram submetidos a Doppler transcraniano (DTC) seriado em dias alternados. A escala prognóstica de Glasgow (GOS) e a escala de Rankin modificada (mRS) foram utilizadas para avaliar o prognóstico. **RESULTADOS:** Foi observado aumento progressivo nas concentrações séricas de PCR em todos os doentes da admissão ao terceiro dia, seguidos por uma queda lenta até o nono dia. Observou-se que a ocorrência de VC, identificada por alterações nos parâmetros hemodinâmicos do DTC foi associada com concentrações séricas mais elevadas de PCR (metodologia do coeficiente de correlação; $z = 8.381$, $p < 0.0001$, $r = 0,86$) e doentes que manifestaram VC sintomático apresentaram concentrações ainda mais elevadas (metodologia do coeficiente de correlação; $z = 7.863$, $p < 0.0001$, $r = 0,74$). Indivíduos com valores menores na GCS apresentaram níveis séricos mais elevados de PCR durante a avaliação seriada (metodologia do coeficiente de correlação; $z = -8.712$, $p < 0.0001$, $r = -0,87$). Doentes com altos valores na escala de HH na admissão apresentaram concentrações séricas mais elevadas de PCR (metodologia do coeficiente de correlação; $z = 6.842$, $p < 0.0001$, $r = 0,80$). Doentes com pontuações elevadas na EF apresentaram valores mais elevados de PCR sérica (metodologia do coeficiente de correlação; $z = 7.789$, $p < 0.0001$, $r = 0,84$). Doentes com concentrações séricas mais elevadas de PCR apresentaram prognóstico menos favorável pela escala de GOS (metodologia do coeficiente de correlação; $z = -6.181$, $p < 0.0001$, $r = -0,80$). Houve uma relação inversa estatisticamente significativa entre as concentrações séricas de PCR e os valores de GOS. Houve relação similar fortemente significativa entre os valores na mRS na alta hospitalar e as concentrações séricas de PCR (metodologia do coeficiente de correlação; $z = 6.688$, $p < 0.0001$, $r = 0,81$). **CONCLUSÕES:** O prognóstico clínico dos doentes com HSA relacionou-se significativamente com as concentrações séricas de PCR. Há associação entre alterações hemodinâmicas sugestivas de VC no DTC e maiores concentrações séricas de PCR. Maior permanência hospitalar foi observada em doentes com concentrações séricas mais elevadas de PCR.

PALAVRAS CHAVE: 1. Vasoespasmo intracraniano; 2. Hemorragia subaracnóidea; 3. Proteína C; 4. Aneurisma intracraniano.

SUMMARY.

Romero, FR. **Serum C reactive protein levels as predictor of clinical outcome in patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage.** 2014. 115f. Thesis (Master) – Botucatu Medical School, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2014.

INTRODUCTION: Cerebral vasospasm is a prolonged constriction in arteries of subarachnoid space. It is the main cause of morbidity after subarachnoid hemorrhage (SAH). The objective was to study the relationships between C-reactive protein levels and clinical outcome and the development of cerebral vasospasm after aneurysmal SAH. **METHOD:** One hundred adult patients with aneurysmal SAH were prospectively evaluated. Glasgow Coma Scale (GCS) score, Hunt and Hess grade, Fisher grade, CT scans, digital subtraction angiography studies, transcranial doppler (TCD) and daily neurological examinations were recorded. Serial serum C reactive protein (CRP) measurements were evaluated daily from the admission to the 10th day. Glasgow Outcome Scale (GOS) and the modified Rankin Scale (mRS) were used to predict the outcome. **RESULTS:** There was progressive increase in the CRP levels from the admission to 3rd postictal day, followed by slow decrease until the 9th day. Hemodynamic changes in TCD were associated with higher serum CRP levels (correlation coefficient methodology; $z = 8.381$, $p < 0.0001$, $r = 0,86$). Clinical vasospasm patients showed the highest serum CRP levels (correlation coefficient methodology; $z = 7.863$, $p < 0.0001$, $r = 0,74$). Patients with lower GCS scores presented with increased CRP levels (correlation coefficient methodology; $z = -8.712$, $p < 0.0001$, $r = -0,87$). Low admission GCS scores were inversely correlated with high serum CRP levels. Patients with higher Hunt and Hess grades on admission presented significantly higher CRP serum levels (correlation coefficient methodology; $z = 6.842$, $p < 0.0001$, $r = 0,80$). Similarly, patients with higher admission Fisher grades showed increased levels of CRP (correlation coefficient methodology; $z = 7.789$, $p < 0.0001$, $r = 0,84$). In regard to their GOS scores, patients with higher CRP serum levels presented less favorable outcomes (correlation coefficient methodology; $z = -6.181$, $p < 0.0001$, $r = -0,80$). A statistically significant inverse correlation was established between CRP serum levels and GOS scores. There was similar statistically strong relationship between mRS scores on discharge and the CRP levels (correlation coefficient methodology; $z = 6.688$, $p < 0.0001$, $r = 0,81$). **CONCLUSION:** Increased CRP levels were strongly associated with poor clinical outcome. CRP levels can predict cerebral vasospasm and delayed ischemic deficits, with high statistic significance. There is association between hemodynamic changes in TCD and higher CRP levels.

KEY WORDS: 1.Intracranial Vasospasm; 2.Subarachnoid Hemorrhage; 3.C Protein; 4.Intracranial Aneurism.



1. Introdução

1. Introdução.

1.1. Vasoespasmo cerebral.

O vasoespasmo cerebral (VC) é caracterizado por constrição prolongada e de início gradual das artérias cerebrais no espaço subaracnóideo após um episódio de hemorragia subaracnóidea (HSA) (Bendok et al., 1998). É a maior causa de morbidade em indivíduos na fase aguda (Figura 1) (Kassel et al., 1985). As medidas utilizadas na prática clínica na maioria das vezes falham em prevenir essa complicação e a patogênese permanece incompletamente compreendida (Dorsch, 2002).

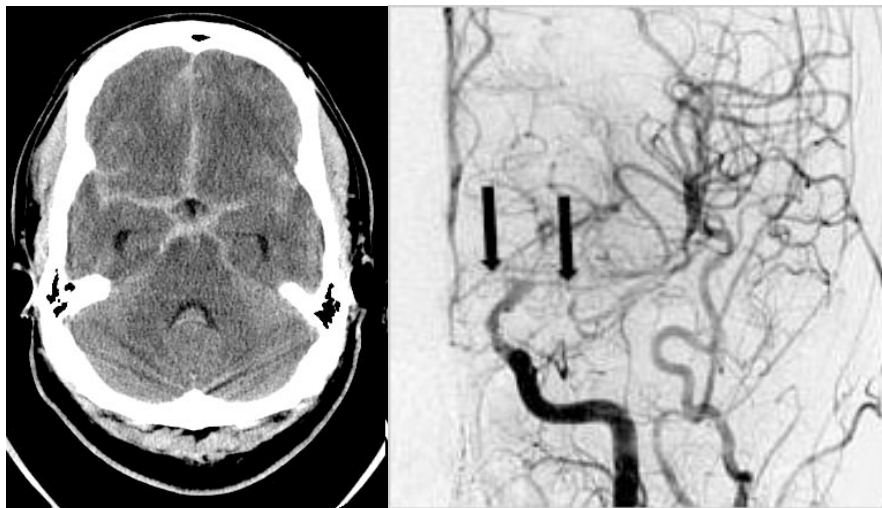


Figura 1. Corte axial de TC de crânio sem contraste (figura à esquerda) evidenciando HSA Fisher III e angiografia encefálica (figura à direita) mostrando vasoespasmo da artéria cerebral anterior e artéria cerebral média (setas).

Há duas definições para o VC: o angiográfico e o sintomático. O VC angiográfico é caracterizado pelo estreitamento da coluna de contraste no interior das artérias cerebrais (Ecker, Riemenscheider, 1951). Instala-se entre o terceiro e o quinto dias após a HSA, exibindo máxima contração do lúmen arterial durante o quinto e o

décimo quarto dias após o sangramento, resolvendo-se usualmente em 2 a 4 semanas (Mayberg et al., 1990). É identificado em 30 a 70% das arteriografias de encéfalo realizadas nos sete primeiros dias após o sangramento (Kassel et al., 1985).

O VC sintomático, por outro lado, é uma síndrome vascular encefálica decorrente do espasmo arterial cerebral, caracterizada geralmente por quadro de cefaleia, confusão mental e rebaixamento do nível de consciência, que pode ou não ser seguido por déficit motor localizado e/ou alterações na linguagem. Seu curso se mostra paralelo ao VC angiográfico, já que até 70% dos doentes desenvolvem espasmo detectado na angiografia, mas apenas 20 a 30% manifestam déficits neurológicos (Haley et al., 1992).

O desenvolvimento de déficits isquêmicos secundários à HSA (Figura 2) é resultado de uma interação complexa de múltiplos fatores que influenciam o fluxo sanguíneo cerebral e o metabolismo celular neuronal, como:

- Presença de arteriosclerose de grandes e pequenos vasos, uma vez que doença acentuada das artérias intracranianas relaciona-se com maior incidência de déficits isquêmicos em consequência ao vasoespasmo após a HSA (Lang et al., 2001; Bor-Sen-Shu et al., 2007);
- Capacidade funcional da circulação cerebral colateral (Bor-Sen-Shu et al., 2007);
- Reserva cerebral microvascular: perda progressiva da reatividade ao dióxido de carbono cerebrovascular identifica indivíduos com alto risco de déficits isquêmico (Bor-Sen-Shu et al., 2007; Vergouwen et al., 2008; Gonzales et al., 2008);
- Gravidade do espasmo das artérias encefálicas (Lang et al., 2001; Bor-Sen-Shu et al., 2007; Vergouwen et al., 2008; Gonzales et al., 2008);

- Estado funcional do metabolismo cerebral: hiperemia ou crises epiléticas podem aumentar a taxa metabólica cerebral e a incidência de DIT (Vergouwen et al., 2008; Gonzales et al., 2008);
- Localização da isquemia: indivíduos com HSA podem apresentar extensas áreas de infarto sem manifestação clínica importante (Lang et al., 2001; Bor-Sen-Shu et al., 2007; Vergouwen et al., 2008; Gonzales et al., 2008);
- Pressão intracraniana (PIC): aumentos da PIC podem levar a redução do fluxo sanguíneo cerebral e a DIT (Bor-Sen-Shu et al., 2007);
- Capacidade cardiocirculatória de otimizar o fluxo sanguíneo cerebral (Lang et al., 2001; Bor-Sen-Shu et al., 2007; Gonzales et al., 2008);
- Microtromboses no leito vascular após a HSA, pois há a possibilidade de formação de microtrombos nas artérias intracranianas (Gonzales et al., 2008).



Figura 2. Tomografia do crânio sem contraste em corte axial mostrando isquemia do território da artéria cerebral média direita em doente com VC grave (caso 7).

1.1.1. Vasoespasmo cerebral – dados históricos.

O primeiro relato científico de VC é de meados do século XIX, feito por Sir William W. Gull (Figura 3), que assistiu uma jovem doente com suspeita de acidente vascular encefálico (AVE) isquêmico, que apresentou grave piora neurológica após o quarto dia do evento, evoluindo para óbito. Evidenciou-se no exame necroscópico aneurisma cerebral e HSA, com constrição das artérias cerebrais. (Gull, 1859).



Figura 3. Sir William W. Gull (1816-1890).

Fonte: <http://www.enotes.com>

Apesar disso, somente a partir de 1920, seguiram as publicações relacionadas ao VC. Em 1925, Sir Howard Walter Florey (Figura 4), fisiologista australiano, descreveu alterações espásticas da musculatura das artérias intracranianas de felinos submetidas a estímulos mecânicos e elétricos (Florey, 1925). Em 1927, Egaz Moniz (Figura 5) foi o primeiro médico a realizar arteriografia cerebral em um indivíduo

vivo e a fazer o diagnóstico de aneurisma intracraniano pela angiografia (Moniz, 1933).



Figura 4. Sir Howard Walter Florey (1898-1968)

Fonte: <http://www.nobelprize.org>



Figura 5. António Caetano de Abreu Freire Egas Moniz (1874-1955)

Fonte: <http://www.nobelprize.org>

Em 1949, Robertson revisou uma casuística com aneurismas cerebrais rotos e encontrou evidências de infartos cerebrais em locais com vasos patentes circundados por coágulos sanguíneos. A partir destes dados, propôs a hipótese da isquemia estar associada ao espasmo temporário das artérias próximas à área de sangramento, e não à compressão do tecido encefálico pelo aneurisma (Robertson, 1949). Em 1944, Zucker estudou o papel dos componentes do sangue no desenvolvimento de espasmos das artérias intracranianas (Zucker, 1944).

Em 1948, Russek observou que a papaverina administrada por via oral melhorava sintomas de isquemia em doentes que sofreram HSA (Russek, Zohman, 1948). Em 1951, Ecker (Figura 6) e Riemenschneider apresentaram seis doentes com VC, associados a aneurismas intracranianos e confirmaram angiograficamente a relação de espasmo das artérias intracranianas com a presença de aneurismas rotos (Ecker e Riemenschneider, 1951).



Figura 6. Arthur David Ecker, M.D., Ph.D. (1913-2006)

Fonte: <http://library.upstate.edu>

Nos últimos cinquenta anos, houve muitos avanços no conhecimento do VC, o que possibilitou melhoras na qualidade do atendimento de doentes com aneurisma cerebral roto. Na primeira metade de século XX, ocorreu melhora significativa no entendimento da fisiopatologia do VC após HSA. Porém, poucas medidas clínicas revelaram-se eficazes em prevenir ou tratar indivíduos com esta grave complicação (Rahimi et al., 2006).

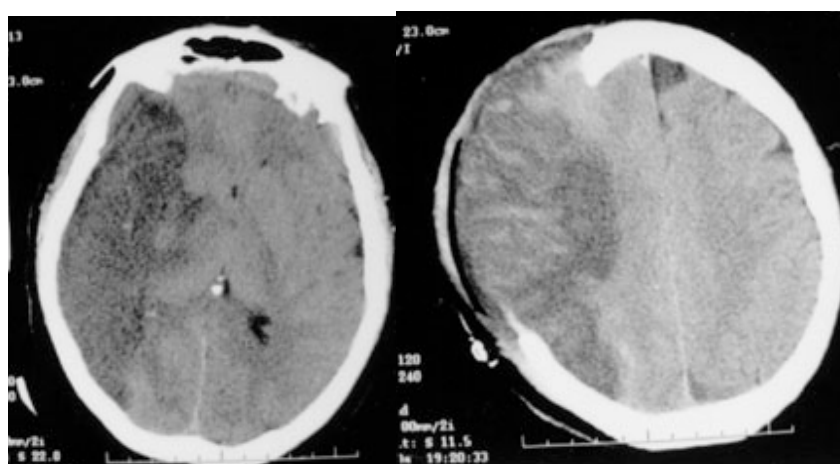


Figura 7. Cortes axiais de tomografia de crânio sem contraste apresentando imagem de hipodensidade relacionada a DIT antes (à esquerda) e após (à direita) craniotomia descompressiva (caso 64).

1.1.2. Dados epidemiológicos.

Apesar dos recentes avanços no cuidado de indivíduos com ruptura de aneurismas intracranianos, as taxas de mortalidade variam de 35 a 50% (McGirth et al., 2009) e mais de 40% dos sobreviventes desenvolvem limitações funcionais e cognitivas prolongadas (Kassel et al., 1985). O novo sangramento e o VC com consequente déficit isquêmico tardio (DIT) correspondem às complicações mais importantes, a última ocorrendo tipicamente do quarto ao décimo quarto dia após o sangramento inicial (Kassel, 1985; Kramer et al, 2009). Sua presença foi

correlacionada ao aumento de 1,5 a três vezes da taxa de mortalidade nas primeiras duas semanas após o sangramento (Kassel et al., 1985).

A isquemia cerebral decorrente do VC com DIT, embora classicamente ocorra entre o quarto e o décimo quarto dias após a hemorragia inicial, pode também se manifestar precocemente (três dias) ou mais tarde (após três semanas). O VC ocorre em 70% dos indivíduos que apresentam HSA, apresentando isquemia cerebral sintomática ou infarto (Figura 7) 36% dos casos (Biller et al, 1988).

1.1.3. Fisiopatologia.

Embora as causas do VC associado à HSA e o consequente DIT não sejam completamente entendidas, estudos em animais sugerem patogênese multifatorial, que compreende inflamação mediada por leucócitos, lesão endotelial, depleção de óxido nítrico (NO) e alterações da autorregulação microvascular (Vajkoczy et al., 2005; Hansen et al., 2004; McGirt et al., 2009). O sangue liberado no espaço subaracnóideo no momento da ruptura do aneurisma, desencadeia série complexa de eventos extracelulares e intracelulares, similar ao que ocorre nos fenômenos de coagulação, desintegração celular, inflamação local, fagocitose e reparo. A constrição acentuada da artéria altera o metabolismo e a estrutura de sua parede, bem como o equilíbrio entre substâncias vasoconstritoras e vasodilatadoras produzidas pelo endotélio, rede neurogênica e células musculares lisas (Weir et al, 1999).

O VC resulta da contração prolongada da musculatura lisa mediada ou desencadeada pela oxihemoglobina (Macdonald et al., 2001), que age diretamente nas células musculares lisas ou de acordo com mecanismos indiretos, como o influxo de

substâncias vasoativas pela parede arterial ou a produção de radicais livres e peróxido lipases (Figura 8) (Dietrich et al, 2000).

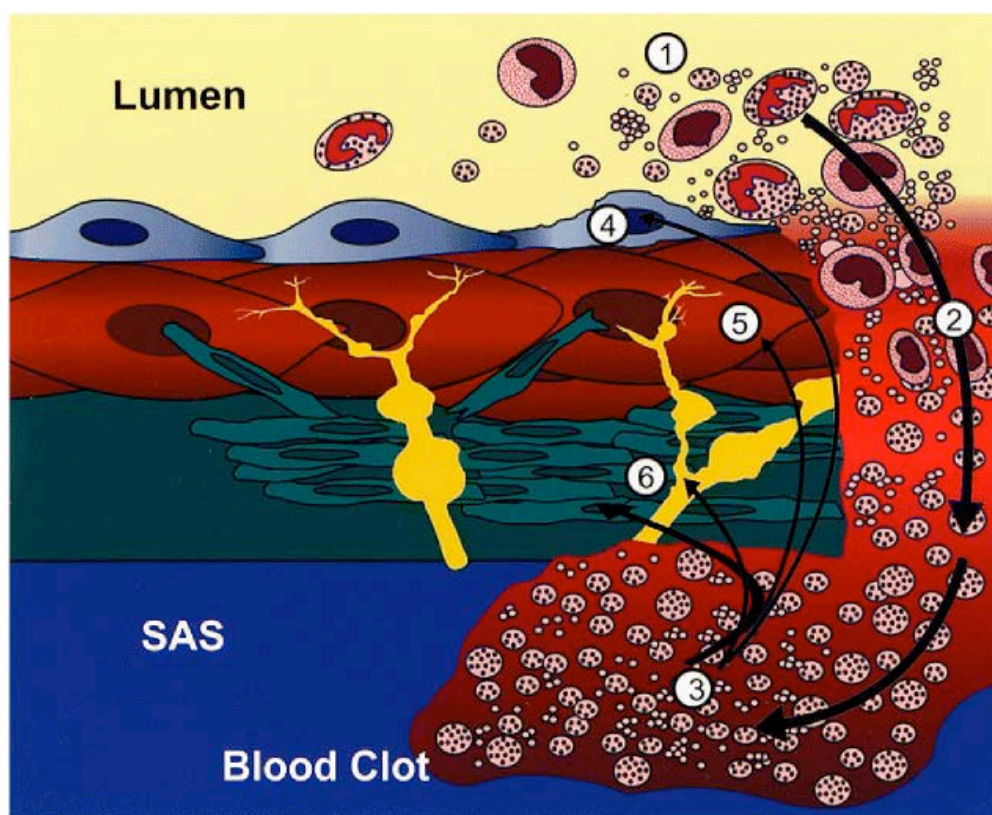


Figura 8. Patogênese de VC após HSA. Após a ruptura do aneurisma intracraniano, produtos de degradação de sangue são liberados do lúmen arterial (1) através da parede do aneurisma roto (2) para o espaço subaracnóideo (SAS). Neste local, forma-se o coágulo sanguíneo (3), que tem propriedades vasoativas. A degeneração dos produtos do sangue contidos no coágulo induzem a formação de oxihemoglobina, que desencadeia cascata de eventos no endotélio vascular (4), musculatura lisa (5) e adventícia (6), resultando em contração prolongada da parede arterial e DIT secundário. Neurônios (amarelo); fibroblastos (verde). Adaptado de Kuhana, 2007.

O papel da inflamação na patogênese do VC é conhecido há alguns anos (Hoshi, 1985), porém, só recentemente, a importância da atuação leucocitária foi determinada (Rothoerl et al., 2006; Pluta et al., 2005; Fountas et al., 2009). A migração leucocitária para o sistema nervoso central é iniciado por interleucinas e quimiocinas, que estimulam a sua ativação, proliferação e quimiostase. A ligação do

LFA-1 às ICAM-1 é necessária para iniciar a migração de leucócitos através da camada vascular média e subsequente migração para sistema nervoso central (Rothoerl et al., 2006; Pluta et al., 2005; Fountas et al., 2009).

Evidências experimentais e clínicas sugerem que as ICAM-1 mediam a migração leucocitária e desempenham papel crucial na patogênese do VC (Figura 9). A HSA resulta em aumento da expressão endotelial de ICAM-1, e em migração de leucócitos perivasculares (Rothoerl et al., 2006; Pluta et al., 2005). Além disso, concentrações séricas de ICAM-1 correlacionam-se ao início do vasoespasma encefálico (Figura 10) (Kramer et al., 2009; Dumont et al, 2003).

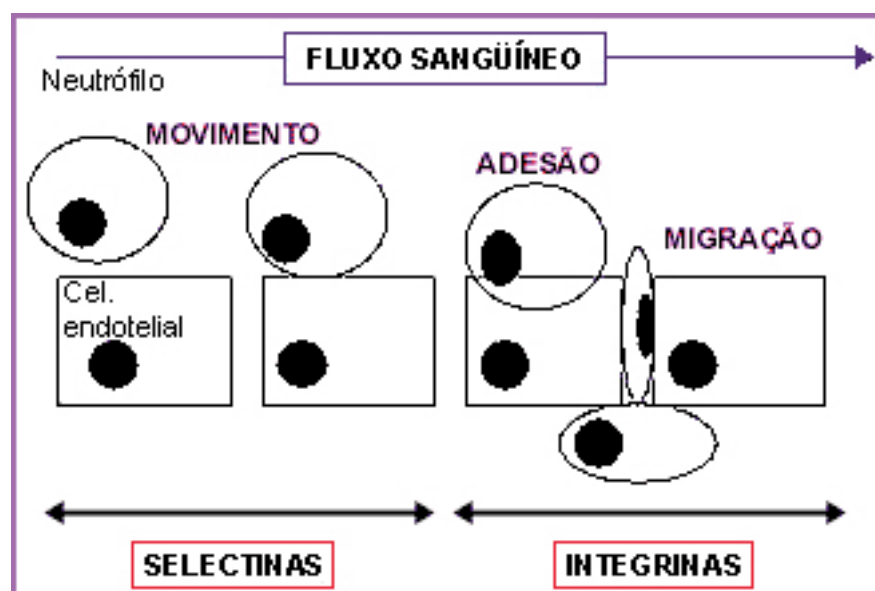


Figura 9. Representação artística da adesão e migração leucocitária, que iniciam o processo de inflamação associado ao VC. As seletinas mediam da captura à adesão e as integrinas são envolvidas intimamente na adesão. Adaptado de Dumont, 2003.

Células inflamatórias perivasculares quimiocina ativadas sintetizam e liberam EN-1 (potente vasoconstritor) e RL superóxido, com a inativação de ON e

vasoconstrição. Anticorpos anti-ICAM-1 diminuem a migração de leucócitos e atenuam os fenômenos vasoconstritores (Suzuki, 1992). Porém, estes fenômenos parecem ser perpetuados por desbalanço na viabilidade periadventícia do NO (Kasuya, 1995). A enzima eNOS responsável pela produção de NO, metaboliza L-arginina em NO e citrulina e mantém eNOS do endotélio cerebrovascular (Figura 10) (Kasuya, 1995 et al.; Rothoerl et al, 2006; Suzuki et al, 1999; Dumont, 2003 et al.).

Após a HSA, RNAm de eNOS e a síntese de proteínas reduzem significativamente. Apesar de mecanismo desconhecido, há redução da produção de NO e perda das respostas de vasodilatação (Kasuya et al., 1995).

Foram determinadas evidências moleculares de predisposição genética ao VC em alguns estudos, demonstrando haver um polimorfismo simples no nucleotídeo T-786C do gene eNOS, associada à presença e gravidade do VC (Dumont et al., 2003; Rothoerl et al., 2006). Outros autores advertiram para o papel de outros fatores como o tabagismo, na origem e gravidade deste fenômeno (Lynch et al., 2004).

Foram detectados níveis elevados de várias moléculas solúveis de adesão (E-selectina, ICAM-1, e VAM-1) e citocinas (IL-6 E IL-1) no plasma e líquido cefalorraquidiano (LCR) de indivíduos com HSA, demonstrando que um mecanismo inflamatório está diretamente envolvido na patogênese do VC (Figura 11) (Mazlam et al., 1994, Pluta et al., 2005, Fountas et al., 2009).

Figura 10. Resumo das principais alterações fisiopatológicas relacionadas ao VC. A oxidação dos íons ferro presentes no coágulo no espaço subaracnóideo gera a produção de radicais livres (RL). Há redução neuronal perivascular de NOS e aumento de EN-1. Este processo causa vasoconstrição devido ao aumento da concentração intracelular de íons cálcio. A redução de NO é agravada pela geração de bilirrubina e pelos produtos de oxidação da bilirrubina e D-Metil arginina assimétrica, com consequente inibição da NOS endotelial. Alterações inflamatórias secundária à HSA contribuem para vasoconstrição e aumentam a supressão na NOS. Aumento da EN-1 atua em receptores tipo A para ativação da via de constrição da musculatura lisa via PKC. A elevação prolongada dos níveis de cálcio na musculatura lisa podem causar morte celular por apoptose e necrose, aumentando a resposta de remodelamento vascular. Adaptado de Macdonald, 2007.

Inflamação e vasoespasmo cerebral

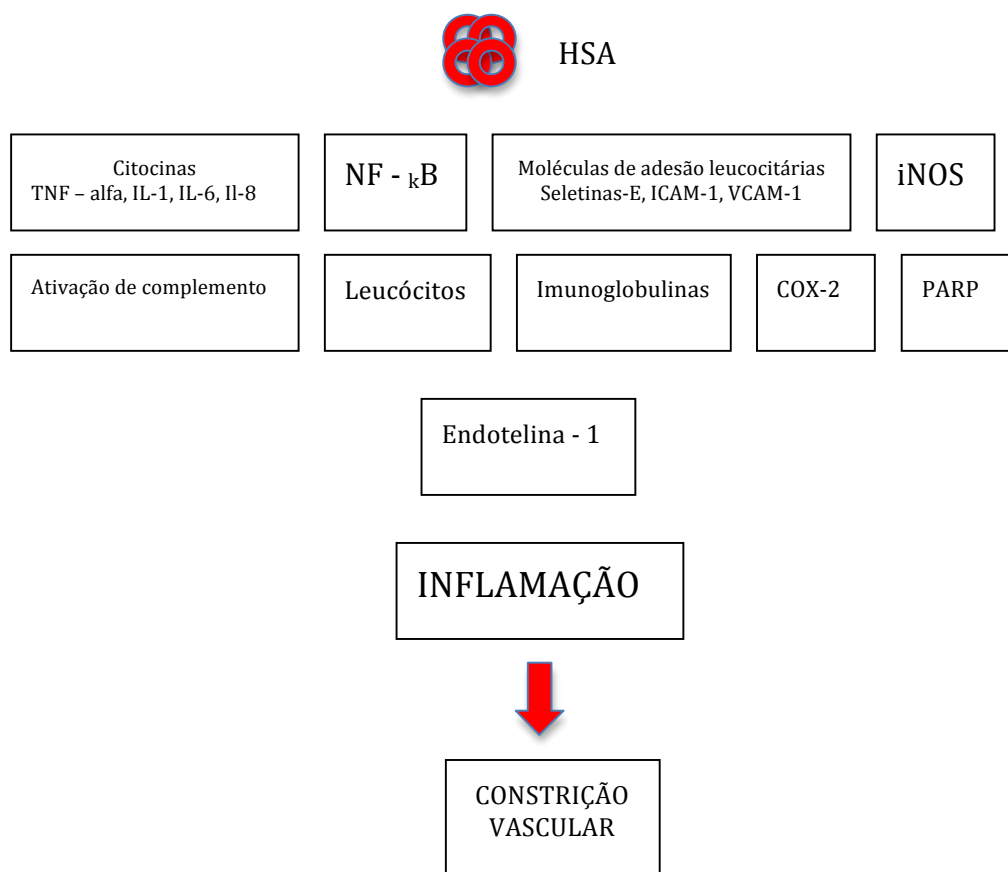


Figura 11. Esquema dos componentes inflamatórios no VC. A resposta inflamatória é uma reação complexa desencadeada pelos componentes do sangue no espaço subaracnóideo. Adaptado de Dumont, 2003. Legenda: HSA: hemorragia subaracnóidea; TNF: fator de necrose tumoral; IL: interleucina; NF: fator nuclear; ICAM: molécula de adesão intercelular; VCAM: molécula de adesão vascular; iNOS: isoforma da enzima óxido nítrico sintetase; COX: cicloxigenase; PARP: enzima poli_ADP ribose polimerase.

1.1.4. Diagnóstico e fatores preditivos.

A arteriografia encefálica dos quatro vasos intracranianos mais importantes (artérias carótidas internas - ACI direita e esquerda e artérias vertebrais - AV direita e

esquerda) é o exame padrão-ouro para o diagnóstico e determinação da gravidade do VC. Porém, doentes com alto risco de VC podem ser identificados precocemente no curso da HSA, usando-se índices preditivos. Os principais métodos disponíveis incluem (Harrod et al., 2005):

- Graduação clínica na admissão (HH, GCS e WFNSS);
- Espessura de coágulo nas cisternas basais (EF);
- Velocidade de fluxo das artérias cerebrais (DT);
- Localização e morfologia do aneurisma.

Um importante fator preditivo clínico de VC é a gradação clínica do doente na admissão hospitalar, normalmente baseado em dados como nível de consciência e disfunções neurológicas. As escalas mais comumente utilizadas como preditivas e prognósticas em pacientes com HSA são a escala de Hunt Hess (HH) (Quadro 1), a escala de coma de Glasgow (GCS) (Quadro 2) e a escala da Federação Mundial de Neurocirurgia (WFNSS) (Quadro 3). Porém, a precisão para se avaliar a incapacidade dos doentes permanece baixa (Harrod et al., 2005). Graf e Nibbelink, em um estudo envolvendo 274 doentes com HSA, estabeleceram clara correlação entre evidências angiográficas de VC e pior gradação clínica na admissão (Graf, Nibbenlink, 1974).

Quadro 1. Escala de Hunt Hess. Adaptado de Hunt, 1968.

Gradação	Achados Clínicos
1	Assintomático ou moderada cefaleia, moderada rigidez de nuca.
2	Cefaleia moderada, rigidez de nuca, paresia de nervos cranianos.
3	Sonolência, confusão mental ou déficit focal moderado.
4	Coma vígil, déficit localizado, alterações neurovegetativas.
5	Coma profundo, descerebração, moribundo.

Outro índice preditivo da ocorrência, gravidade e distribuição de VC é a extensão e tamanho do coágulo evidenciados na TC do crânio (escala de Fisher - EF – Quadro 4). Há importante correlação entre a presença de coágulos e a gravidade do VC, já que indivíduos com índices III ou IV na EF apresentam maiores índices de VC e pior prognóstico clínico (Fisher et al., 1980).

Quadro 2. Escala da WFNSS. Adaptado de Harrod, 2005.

Pontuação	GCS	Alteração clínica
1	15	Sem déficit motor
2	13-14	Sem déficit motor
3	13-14	Com déficit motor
4	7-12	Com ou sem déficit motor
5	3-6	Com ou sem déficit motor

Quadro 3. Escala de Coma de Glasgow – GCS. Adaptado de Teasdale, 1974.

Indicadores	Resposta observada	Pontuação
Abertura ocular	Espontânea	4
	Estímulos verbais	3
	Estímulos dolorosos	2
	Ausente	1
Melhor resposta verbal	Orientado	5
	Confuso	4
	Palavras inapropriadas	3
	Sons inteligíveis	2
	Ausente	1
Melhor resposta motora	Aos comandos verbais	6
	Localiza estímulos	5
	Retirada inespecífica	4
	Padrão flexor	3
	Padrão extensor	2
	Ausente	1

O exame de doppler transcraniano (DTC) é método não invasivo, que utiliza a técnica do ultrassom para avaliar indiretamente o fluxo sanguíneo nas porções proximais das principais artérias intracranianas do polígono de Willis, oferecendo

informações dinâmicas da circulação encefálica. O exame foi descrito em 1982 por Rune Aaslid e, desde então, é progressivamente utilizado na prática clínica. As principais vantagens são sua portabilidade, que viabiliza a realização em unidades intensivas, à beira do leito e durante cirurgias ou procedimentos e o fato de não ser invasivo ou tóxico, o que possibilita a repetição do exame, além de permitir a monitorização hemodinâmica. O DTC é considerado útil (nível A de evidência) na detecção e monitoração de VC após hemorragia subaracnóidea espontânea (Sloan et al., 2004).

DTC é método bem estabelecido de investigação das alterações hemodinâmicas dos vasos intracranianos. Pode detectar aumento da velocidade de fluxo sanguíneo nos segmentos proximais da artéria carótida interna (ACI), artéria cerebral média (ACM), artéria cerebral anterior (ACA), artéria cerebral posterior (ACP), artéria vertebral (AV) e artéria basilar (AB), causadas por redução do seu lúmen. Velocidades de fluxo maiores que 120 cm/s são associadas a VC angiográfico leve a moderado e maiores que 200 cm/s a VC grave (Compton, 1987).

Quadro 4. Escala de Fisher. Adaptado de Fisher, 1980.

GRUPO	HSA NA TC DE CRÂNIO
1	Não se detecta sangue
2	HSA com espessura menor que 1 mm
3	HSA com espessura maior que 1 mm
4	Hematoma intracerebral ou intraventricular com ou sem HSA

Outro fator preditivo que pode influenciar a ocorrência de VC é a dimensão e a localização do aneurisma intracraniano. Evidências clínicas da correlação entre a localização do aneurisma roto e a incidência de VC são inconclusivas. Embora vários

autores sugeriram que a frequência de VC pode variar com a localização do aneurisma, os dados variam muito de estudo para estudo (Harrod et al., 2005).

Um índice de risco baseado na combinação de variáveis pode representar valor preditivo superior (sensibilidade de 68%) aos já convencionalmente usados, com critérios baseados em espessura do coágulo ou VM de fluxo da ACM. As variáveis são (Qureshi et al., 2000):

1. Espessura do coágulo na TC;
2. Elevação precoce da VM de fluxo na ACM (> 110 cm/seg);
3. GCS inferior a 14;
4. Ruptura de aneurisma da ACA ou da ACI.

A identificação precoce de doente com alto risco de desenvolver VC é de fundamental importância no seu prognóstico após a hemorragia subaracnóidea (Harrod et al., 2005).

É desejável a monitorização contínua do metabolismo cerebral para a detecção precoce do VC em indivíduos com HSA. A microdiálise à beira do leito, técnica de monitorização do metabolismo cerebral, pode, através da análise de diversas substâncias no LCR, refletir em mudanças vistas em VC diagnosticado pelo DTC (Treggiari et al., 2001). Outros métodos preditivos disponíveis incluem a angiografia convencional, a TC de crânio com perfusão, a TC com emissão de pósitron, a RMN com sequências em perfusão e difusão (Dorsch et al., 2002).

1.2. A proteína C-reativa.

A proteína c-reativa (PCR) é uma proteína de fase aguda do processo inflamatório, sintetizada pelo fígado e regulada por citocinas, predominantemente a

IL-6, o TNF- α e a IL-1 (Abdellaoui et al, 2007). O fígado é a principal fonte de PCR, que também é sintetizada nos adipócitos e tecido arterial e suas concentrações estão aumentadas em resposta às infecções ativas ou ao processo inflamatório agudo (Francisco et al., 2006).

A PCR foi a primeira proteína da fase aguda inflamatória descrita, considerada por muitos pesquisadores como marcador sistêmico da inflamação, infecção e da lesão celular. O seu nome deriva da capacidade de precipitar o polissacarídeo C do *Streptococcus pneumoniae* (Pepys et al., 2003).

Caracteriza-se por ser um polímero não glicosilado, composto por cinco subunidades idênticas que quando aderido às bactérias, promove a ligação do complemento, facilitando a fagocitose (Figura 12). Por isso, pode ser comparada aos anticorpos (Ebersole et al., 2005). Sua concentração foi muito utilizada para detectar doenças ocultas no organismo, bem como para monitorar a resposta ao tratamento de processos inflamatórios e infecciosos (Pepys et al., 2003; Pepys et al., 1983).

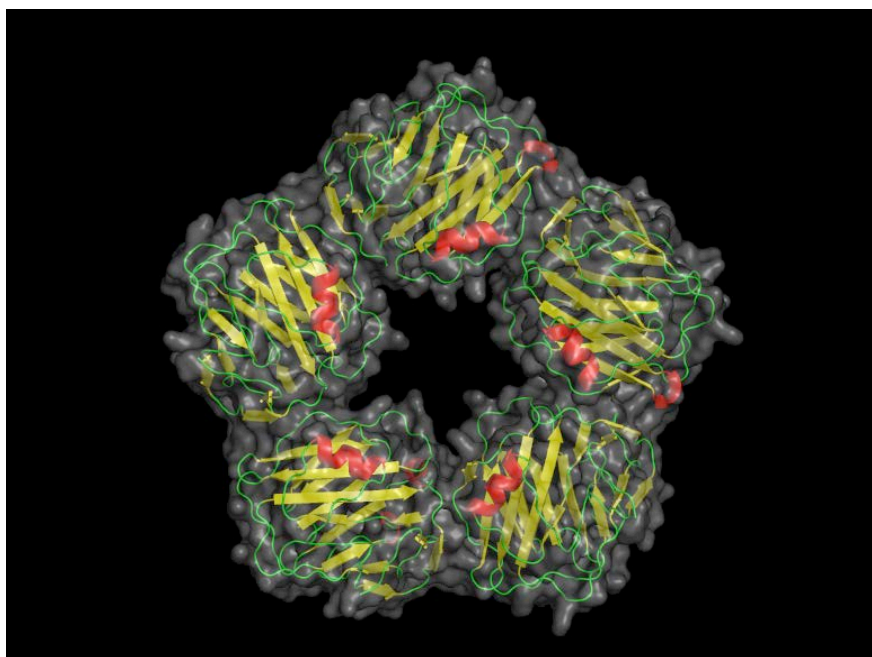


Figura 12. Representação esquemática da estrutura da PCR.
Adaptado de Pepys, 2003.

1.2.1. Fase aguda da resposta inflamatória.

As respostas inflamatórias de fase aguda representam uma resposta inicial do organismo a diversas agressões, tais como infecções bacterianas, viróticas ou parasitárias, traumatismos mecânicos ou térmicos, necrose isquêmica e multiplicação celular. Reflete alterações fisiológicas e metabólicas que resultam imediatamente à instalação de infecção ou lesão tissular.

Nos estágios agudos da inflamação, o equilíbrio homeostático local é alterado, resultando na expressão de moléculas de adesão, que levam à ligação de leucócitos ao endotélio vascular, com migração celular e ativação de diversas substâncias efetoras. A adesão leucocitária é marco importante para o processo inflamatório agudo, já que é fundamental para orquestrar a passagem de leucócitos através do endotélio vascular (Harrod et al., 2005).

Ocorre uma sequência bem caracterizada de eventos para a aproximação e firme ligação dos leucócitos à parede vascular antes que a transmigração possa ocorrer, chamados de marginação, captura, rolamento e adesão (Harrod et al., 2005). Marginação é o processo onde os leucócitos são colocados em estreita proximidade com o endotélio vascular, controlado exclusivamente por fatores reológicos do sangue, como a alta velocidade com que as células vermelhas do sangue trafegam em relação às células brancas. Para que o rolamento possa ocorrer, deve haver evento iniciante, chamado preensão ou captura. Captura é definida como a formação do primeiro complexo molecular entre o endotélio vascular e os leucócitos circulantes. É processo distinto dos leucócitos estáveis, mediado por uma característica gama de moléculas de adesão. Leucócitos estáveis também podem passar à fase de rolamento se a captura for seguida pela formação de um novo complexo molecular, antes do

complexo molecular inicial se dissociar. Rolamento é definido como movimento abaixo da velocidade crítica da célula, em contato contínuo com a parede do vaso, para haver firme preensão do leucócito estável e aumentar seu tempo de exposição aos receptores presentes na membrana celular. Quando um sinal excitatório apropriado é encontrado, ocorre a ativação leucocitária, o que é pré-requisito para ligação firme e duradoura (Dumont et al., 2003).

As seletinas são família de três receptores expressos na superfície dos leucócitos, células endoteliais e plaquetas que são responsáveis pela maioria dos receptores de adesão que mediam a captura e rolamento de leucócitos, denominados seletina leucocitária (seletina-L), seletina plaquetária (seletina –P) e seletina endotelial (seletina-E). As seletinas L e P iniciam a captura, as seletinas P e E mediam o rolamento e a seletina E apoia a transição para firme adesão (Harrod et al., 2005). Além disso, outros receptores leucocitários parecem desempenhar papel importante na aderência leucocitária. Por exemplo, algumas integrinas (antígeno 1 associado à função leucocitária e antígeno 1 de macrófagos – Mac-1) reduzem a velocidade de rolamento e são fundamentais para ligação do leucócito à parede endotelial (Romero et al., 2011). Algumas moléculas de adesão intercelular, membros da superfamília das imunoglobulinas (Ig), também são importantes no recrutamento leucocitário, como a ICAM-1 (CD54), moléculas Ig-like (induzidas pela exposição à citocinas inflamatórias) e as VCAM-1 (Harrod et al., 2005).

Desta forma, uma variedade de eventos celulares e moleculares coordena o recrutamento de leucócitos para os sítios de inflamação. Captura e rolamento são mediadas primariamente por seletinas (L, P e E), enquanto a adesão é mediada, principalmente, pelas integrinas (Mac-1) e moléculas de adesão (ICAM-1 e VCAM-1) (Harrod et al., 2005).

As citocinas são um grupo de proteínas produzidas durante as fases de ativação e efetora da resposta imune, constituindo-se potentes mediadores e reguladores imunológicos (Dumont et al., 2003). As principais citocinas encontradas no VC são TNF-alfa, IL-1, IL-1 beta, IL-6 e IL-8. O TNF-alfa é produzido por fagócitos mononucleares e células T, ativando neutrófilos e células endoteliais (produzindo inflamação e coagulação), estimulando o hipotálamo (produzindo febre) e o fígado (produzindo reagentes de fase aguda da inflamação, como a PCR), levando o organismo a um estado catabólico. IL-1 é produzido predominantemente por fagócitos mononucleares e também age em células endoteliais, hipotálamo e fígado, desempenhando também a resposta catabólica do organismo. IL-6 é produzida por fagócitos mononucleares, células T e células endoteliais, estimulando o crescimento de células B maduras e promovendo a síntese de proteínas de fase aguda no fígado, entre as quais PCR e VHS. IL-8 é uma quimiocina (estimulam a motilidade dos leucócitos – quimiotaxise e direção dos movimentos leucocitários - quimiostase), produzida por fagócitos mononucleares, células T, plaquetas, células endoteliais e fibroblastos. Atuam, principalmente, em leucócitos, através da quimiostase, quimiotaxise, adesão e ativação (Dumont et al., 2003; Harrod et al., 2005).

Os leucócitos também são importantes constituintes da resposta inflamatória. Podem atuar diretamente nas células vasculares, produzindo metabólitos tóxicos do oxigênio (radicais livres), que levam à disfunção endotelial e influxo intracelular de cálcio; ou indiretamente, através da ativação de diversas substâncias, como leucotrienos e outros mediadores lipídicos, que têm potentes efeitos vasculares. Além disso, são capazes de produzir muito outros mediadores, como as citocinas, que ativam e perpetuam a resposta inflamatória (Dumont et al., 2003; Harrod et al., 2005).

Muitos dos fatores acima mencionados têm sido investigados nos últimos anos, em estudos clínicos e experimentais. Alterações nas moléculas de adesão e nas citocinas foram demonstradas no LCR e plasma de pacientes vítimas de HSA (Fountas et al., 2009; Romero et al., 2012). Além disso, alguns estudos demonstraram que níveis de seletina –E, ICAM-1 e VCAM-1 estão elevados no LCR de pacientes com HSA em comparação aos grupos controle, apresentando queda ao longo dos dias, sugerindo correlação com a patogênese do VC (Polin et al., 1998).

Similarmente, concentrações de citocinas inflamatórias e fator ativador plaquetário (PAF) estavam elevados no sangue do bulbo jugular em pacientes na fase aguda da HSA. Houve um aumento progressivo de IL-6 e PAF até o quarto dia após o sangramento, mantendo-se elevada até o décimo quarto dia. IL-8 mostrou-se aumentada transitoriamente entre o quinto e o nono dias após a HSA (Hirashima et al., 1997).

A maioria das proteínas de fase aguda são glicoproteínas, que desempenham vários papéis na resposta homeostática à lesão (Koj, 1996). As proteínas de fase aguda podem ser divididas em dois grupos: tipos I e II. As proteínas do tipo I incluem o amilóide A sérico, a PCR, o complemento C3 e glicoproteína α 1 ácida, as quais são induzidas pelos agentes pró inflamatórios, citocinas semelhantes a IL-1. As do tipo II incluem fibrinogênio, haptoglobina, antitripsina- α 1, macroglobulina- α 2 induzidas pelas citocinas similares a IL-6 (Vadas et al., 1997).

A concentração sérica dessas proteínas aumenta rapidamente durante a infecção e inflamação, podendo chegar a concentrações 2 a 100 vezes maiores que as normais e permanecem elevadas durante todo o processo infeccioso. Elevam-se rapidamente após o estímulo inflamatório (4 a 6 horas) e na ausência de estímulo crônico normalizam-se em 3 a 4 dias (Ebersole e Cappelli, 2005).

A PCR é um dos indicadores mais sensíveis de processos inflamatórios, sendo mais fidedigna do que a velocidade de hemossedimentação (VHS), pois se eleva mais rapidamente e, uma vez controlada a doença, retorna a níveis normais (Berger et al., 1995).

Muitas outras condições podem também estar associadas a aumentos nas concentrações séricas da PCR, como: neoplasias (Herrmann et al., 1994), artrite reumatoide (AR) (Vadas et al., 1997; Devlin et al., 1997); idade elevada (Woloshin, 2005) ansiedade e depressão (Slavkin, 2000), menopausa (Cushman et al., 1999), obesidade (Couillard et al., 2005), partos prematuros (Pitiphat et al., 2005), diabetes mellitus (DM) e síndrome metabólica (Chen et al., 2004; Festa et al., 2002; Ridker et al., 1999).

Similarmente aos anticorpos, a PCR reage com alguma especificidade para seu substrato, a fim de provocar formação em grade e precipitação, hemoaglutinação passiva de eritrócitos revestidos por substrato e induzir edema capsular dos microorganismos pneumocócicos. A PCR ainda ativa o complemento e opsoniza eritrócitos revestidos de polissacarídeo C para aumentar a fagocitose. Apesar de ser semelhante aos anticorpos, a PCR é produzida pelos hepatócitos, enquanto que os anticorpos são sintetizados pelos plasmócitos do tecido linfóide (Ebersole e Cappelli, 2005).

Entre as proteínas de fase aguda, a PCR destaca-se por apresentar meia-vida plasmática curta (aproximadamente 19h) e por ter a concentração plasmática exclusivamente relacionada à sua síntese (Pepys et al., 2003; Koenig et al., 1999).

1.2.2. Métodos de dosagem e valores de referência.

A PCR é usualmente dosada nos laboratórios clínicos por imunonefelometria ou

imunoturbidimetria, métodos reprodutíveis e com limites de detecção baixos. Aproximadamente 90% dos indivíduos aparentemente saudáveis apresentam concentrações plasmáticas da PCR menores que 3mg/L e 99% da população apresentam concentrações menores que 10mg/L (Pepys et al., 1983). Em indivíduos saudáveis, os níveis plasmáticos de PCR apresentam-se em média 0,8mg/L, porém se elevam rápida e dramaticamente nas respostas às infecções bacterianas, traumas, necroses teciduais e vários processos inflamatórios, podendo exceder 300mg/L em apenas 48 horas após um evento agudo (Shineet al., 1981).

1.3. Relevância do estudo.

Marcadores inflamatórios, como a PCR, fibrinogênio, proteína sérica amiloide A, citocinas e comportamento de células do sangue periférico envolvidas na inflamação, como leucócitos, linfócitos e monócitos são estudados nos portadores de angina estável, angina instável, infarto agudo do miocárdio, doenças isquêmicas cardiovasculares, doenças arteriais periféricas e nos indivíduos aparentemente saudáveis com a ajuda do avanço tecnológico obtido na determinação da concentração sérica destes parâmetros (Ridker et al., 2001; Ikata et al., 2000; Liuzzo et al., 1999; Ridker et al., 1998; Becker et al., 1996).

Estudos clínicos demonstraram que concentrações elevadas de PCR podem predizer o desenvolvimento de vasoespasma coronariano (Berk et al., 1990) e propiciar melhor controle de fenômenos trombóticos das artérias coronárias (Hung, 2005). O interesse deste marcador inflamatório para o VC aumentou nos últimos anos, principalmente para predizer o prognóstico clínico de doentes com de HSA (Fountas et al., 2009; McGirth et al., 2009; Romero et al., 2011; Romero et al., 2012).

A relevância deste estudo está baseada no fato da PCR ser utilizada como índice preditivo nos protocolos de atendimento de indivíduos com diagnóstico de HSA em vários países, mesmo não sendo bem estabelecido seu papel (McGirth et al., 2009). Apesar de alguns estudos demonstrarem alguma relação de altas concentrações desta substância no VC desencadeado pela presença de sangue no espaço subaracnóideo (Harrod et al., 2005), não existem estudos prospectivos envolvendo grande número de doentes para confirmar estas informações (Fountas et al., 2009; Romero et al., 2012).

2. Objetivos

2- OBJETIVOS:

O objetivo principal do presente estudo é relacionar o prognóstico clínico de indivíduos com HSA com as variações das concentrações séricas da PCR.

Os objetivos secundários são relacionar as concentrações séricas de PCR com:

- Quadro clínico e neurológico na internação;
- Duração da internação hospitalar;
- Ocorrência de VC;
- Aumento da velocidade de fluxo sanguíneo no DT.

3. Material e Método

3- MATERIAL E MÉTODO:

Participaram do presente estudo indivíduos atendidos no Hospital das Clínicas de Botucatu e Hospital Ipiranga – SUS – São Paulo, no período de janeiro de 2009 a fevereiro de 2013. O projeto de pesquisa obteve a aprovação da Comissão de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade Estadual Paulista (Apêndice 1) e da Comissão de Ética do Hospital Ipiranga SUS – São Paulo (Apêndice 2). Este estudo foi realizado sem subsídio financeiro ou bolsa de estudo.

A anuência para a realização do estudo por parte dos doentes (ou de seus responsáveis legais no caso de indivíduos sem condições neurológicas de compreender os termos do estudo) foi obtida mediante a assinatura do Termo de Consentimento Pós-informado (Apêndice 3).

3.1. Critérios de inclusão.

Os doentes internados na Divisão de Clínica Neurocirúrgica do Hospital das Clínicas de Botucatu e do Hospital Ipiranga – SUS de São Paulo com diagnóstico de HSA aneurismática foram considerados para participação neste estudo, segundo os seguintes critérios de inclusão:

- Indivíduos entre 18 e 65 anos admitidos no hospital por neurocirurgião com diagnóstico de aneurisma intracraniano confirmado por angiografia, angiorressonância magnética nuclear ou angiotomografia;
- Admissão nas primeiras 24 horas do evento hemorrágico;
- Tratamento do aneurisma nas primeiras 72 horas do sangramento;

3.2. Critérios de exclusão.

- Indivíduos com Infarto do miocárdio (IAM) concomitante ou recente;
- Procedimentos cirúrgicos outros num período menor que 60 dias ao evento;
- Evidências clínicas ou laboratoriais de infecção aguda durante a internação, antes do décimo dia de sangramento;
- Evidência de infecção sistêmica crônica;
- Gravidez;
- Alterações renais ou hepáticas;
- Suspeita ou conhecimento de enfermidades que alterem a expectativa de vida, como neoplasias malignas;
- Conhecimento ou forte suspeita de abuso de drogas ou álcool.
- Óbito durante a permanência hospitalar.

3.3. Casuística.

De janeiro de 2009 a fevereiro de 2013 foram atendidos 483 indivíduos vítimas de HSA no Hospital das Clínicas de Botucatu e no Hospital Ipiranga – SUS, São Paulo. Foram incluídos no estudo 82 pacientes do Hospital Ipiranga e 18 pacientes do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade Estadual Paulista, totalizando 100 pacientes, obedecendo aos critérios de inclusão e exclusão. Cinquenta e seis eram homens (56%) e 44 mulheres (44%), com média de idade de 48,03 anos (18-65 anos) e distribuição etária conforme ilustrado no gráfico 1. De acordo com a cor da pele, 25 (25%) eram leucodermas, 19 (19%) eram melanodermas e 56 (56%) eram feoderma (gráfico 2). Os 100 doentes apresentaram 126 aneurismas, 48 localizados na ACI (38% - segmentos oftálmico, comunicante posterior, coróidea anterior e bifurcação), 23 na artéria comunicante anterior (AComA) (18,25%), 36 na ACM (28,57%), 12 na AB (9,52%), 4 na artéria pericalosa

(APer) (3,17%) e 3 na artéria cerebelar pósterio inferior (PICA) (2,38%) (Tabela 1). A dimensão dos aneurismas foi determinada pelo neurorradiologista durante exame arteriográfico diagnóstico, onde 69 (54,76%) apresentavam tamanho menor que 10 mm, 32 (25,39%) tamanho entre 10 e 25 mm e 25 (19,84%) eram maiores que 25 mm (Tabela 2).

Gráfico 1. Distribuição dos indivíduos do estudo segundo a faixa etária (em anos) e o gênero (n=100).

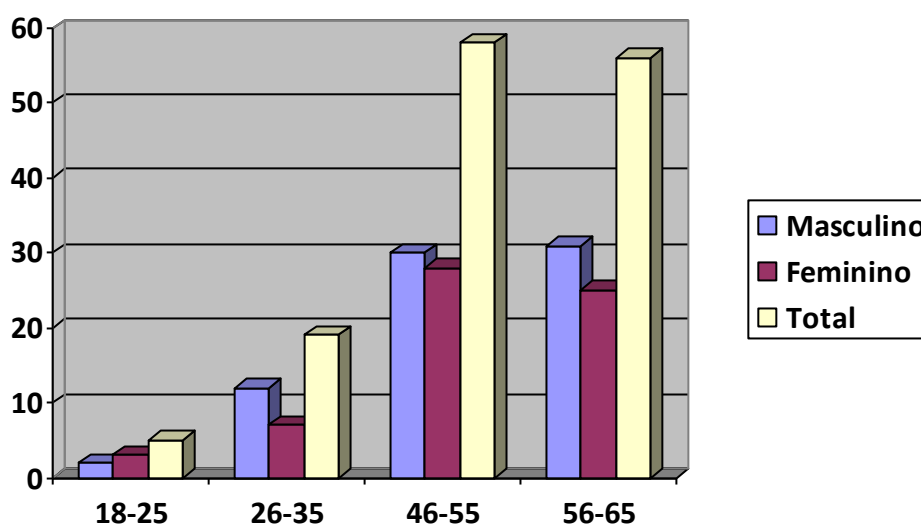


Gráfico 2. Distribuição dos indivíduos do estudo por cor da pele (n=100).

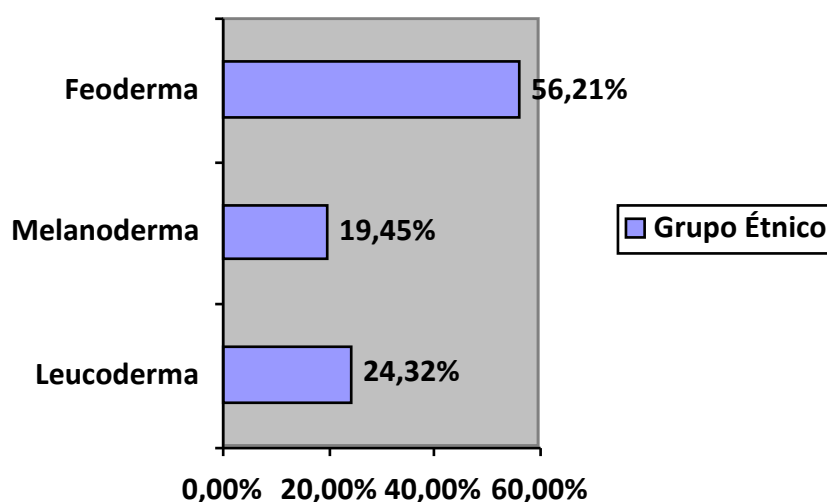


Tabela 1. Distribuição dos aneurismas segunda a localização.

Localização	Número	Porcentagem (%)
Artéria carótida interna	48	38,00
Artéria comunicante anterior	23	18,25
Artéria cerebral média	36	28,57
Artéria basilar	12	9,52
Artéria cerebelar pósterio inferior	3	2,38
Artéria pericalosa	4	3,17
Total	126	100,00

Tabela 2. Distribuição dos aneurismas segundo o tamanho em milímetros.

Tamanho (mm)	Número	Porcentagem (%)
< 10	69	54,76
10-25	32	25,39
> 25	25	19,84
Total	126	100,00

3.4. Método.

Os dados demográficos dos doentes (Apêndice 6), avaliação clínica inicial (GCS e HH), TC de crânio, quantificação do sangramento (EF) e localização do aneurisma (angiografia cerebral, angiotomografia ou angioressonância) foram anotados. As concentrações séricas de PCR foram dosadas diariamente da admissão até o décimo dia após o sangramento, utilizando-se o método de imunoturbidimetria. O exame clínico e neurológico, GCS e HH foram diariamente avaliados. O prognóstico clínico foi avaliado através da escala prognóstica de Glasgow (GOS) (Quadro 5) e escala modificada de Rankin (mRS) (Quadro 6). Pontuações entre 4 e 5 na GOS e 1 a 3 na mRS foram considerados indicadores de bom prognóstico. Foi realizado DTC seriado e os resultados anotados em prontuário, considerando-se alterações hemodinâmicas as velocidades maiores que 120 cm/s nas artérias do polígono de Willis ou índice de Lindengaard maior que 3.

Quadro 5. Escala Prognóstica de Glasgow. Adaptado de Jane, 1985.

Pontuação	Característica
1	Óbito
2	Estado vegetativo persistente
3	Incapacidade grave
4	Incapacidade moderada
5	Boa recuperação com retorno às atividades habituais

O tratamento microcirúrgico foi realizado nas primeiras 72 horas em 57 (57%) dos 100 pacientes, para 72 (57,14%) dos 126 aneurismas, enquanto o tratamento endovascular foi utilizado em 43 pacientes (43%), para 54 (42,86%) dos 126 aneurismas. A escolha entre cirurgia ou terapia endovascular foi baseada em critérios como localização do aneurisma, dimensões e características morfológicas, presença de múltiplos aneurismas, efeito de massa causado pelo aneurisma e/ou hematoma associado e as condições clínica e neurológica do doente.

Quadro 6. Escala de Rankin modificada. Adaptado de Kassel, 1985.

Pontuação	Característica
0	Assintomático
1	Sem incapacidade. Capaz de realizar suas tarefas e atividade habituais prévias.
2	Incapacidade leve. Incapaz de realizar todas suas atividade habituais prévias, mas capaz de realizar suas atividades pessoais.
3	Incapacidade moderada. Requer alguma ajuda para as suas atividades, mas é capaz de andar sem ajuda de outra pessoa.
4	Incapacidade moderada a grave. Incapaz de andar sem ajuda, incapaz de realizar suas atividades sem ajuda.
5	Incapacidade grave. Limitado a cama, incontinência, requer cuidados de enfermeiros e atenção constante.
6	Óbito.

3.5. Análise estatística.

As medidas descritivas foram apresentadas em tabelas com a média e a porcentagem, considerando-se mediana e desvio padrão. O valor de n refere-se ao

tamanho da amostra avaliada. As comparações com relação às variáveis de interesse foram realizadas utilizando-se o teste Qui quadrado, comparando grupos independentes quanto à proporção de ocorrência de eventos de interesse. Nos casos com valores esperados menores que 5, utilizou-se o teste exato de Fisher. As seguintes variáveis foram avaliadas: GCS de admissão, pontuação na escala de HH na admissão, índice na escala de Fisher à admissão, GOS e mRS na alta.

Para estimativa de risco, taxas de razão de chance – OR (“odds ratio”) não ajustadas foram calculadas com intervalo de confiança de 95% e probabilidade de significância menor que 5% ($p < 0,05$). Todos os resultados foram considerados significativos para uma probabilidade de significância inferior a 5% ($p < 0,05$). Tendo, portanto, pelo menos 95% de confiança nas conclusões apresentadas.

Para avaliar a correlação das variáveis com as médias das concentrações séricas de PCR, a análise estatística foi realizada utilizando-se o coeficiente de correlação de Pearson (representado pela letra r), que é uma medida do grau de relação linear entre duas variáveis quantitativas. Pode variar entre -1 e 1, sendo o valor 1 indicativo de relação linear perfeita e o valor -1 relação linear perfeita, mas inversa. Quanto mais próximo r estiver de 1 ou -1, mais forte é a associação linear entre duas variáveis, sendo valores maiores 0,7 ou menores -0,7 indicativos de forte associação. Também utilizamos o Índice de Transformação de Fisher (representado pela letra z), que estabelece a estabilização para r quando as variáveis seguem uma distribuição normal bivariável (Magnusson, 2003).

Para cada grupo de interesse foram criados modelos multivariados para identificar os fatores de risco que, de forma conjunta, estavam relacionados com a maior ocorrência de VC. Estes modelos foram obtidos por uma regressão logística multivariada passo a passo com retirada reversa (step wise – backward), onde num

primeiro passo participaram do modelo variáveis selecionadas em uma análise univariada que apresentaram uma probabilidade de significância menor que 25% ($p = 0,25$).

A variável que apresentou menos significância foi então removida e um novo modelo foi construído com aquelas variáveis que permaneceram. O procedimento de ajuste das variáveis se repetiu, removendo-se uma variável a cada passo, até permanecerem apenas variáveis com uma probabilidade de significância menor que 5% ($p < 0,05$).

No entanto, é importante ressaltar que para a realização desta análise, é necessário dicotomizar todas as variáveis envolvidas no processo. Ressalta-se que a permanência de uma variável dicotômica no modelo, obriga a permanência das demais variáveis do grupo, mesmo que não sejam significativas.

Para a estimativa de risco, taxas de razão de chance – OR (“odds ratio”) ajustadas foram calculadas com um intervalo de confiança de 95% e uma probabilidade de significância menos que 5% ($p < 0,05$).

Para a realização de todos os testes estatísticos específicos, o software utilizado foi SPSS – Statistical Package for Social Sciences (versão 9.0).



4. Resultados

4- Resultados.

Os dados dos pacientes, como a avaliação clínica inicial (GCS e HH), TC de crânio e quantificação do sangramento (EF), localização do aneurisma (angiografia cerebral, angiotomografia ou angiorressonância), escalas de GOS e mRS estão detalhados nas tabelas 3 a 7. Na admissão, as pontuações na GCS variaram de 3 a 15 (média de 14), índices de HH de I a V (mediana 2) e EF de 1 a 4 (mediana 3). O índice GOS na alta hospitalar variou de 2 a 5 (mediana de 5) e o mRS de 0 a 5 (mediana de 0).

Tabela 3. Distribuição dos valores na GCS admissionais dos doentes do estudo (n=100).

Pontuação na GCS	Número de doentes	Porcentagem (%)
14-15	57	57,00
8-13	29	29,00
5-7	9	9,00
3-4	5	5,00

Tabela 4. Distribuição dos valores na escala de Hunt Hess admissionais dos doentes do estudo (n=100).

Pontuação na escala HH	Número de doentes	Porcentagem (%)
I	24	24,00
II	30	30,00
III	24	24,00
IV	18	18,00
V	4	4,00

Tabela 5. Distribuição dos valores na escala de Fisher admissionais dos doentes do estudo (n=100).

Pontuação na EF	Número de doentes	Porcentagem (%)
1	5	5,00
2	27	27,00
3	45	45,00
4	23	23,00

Tabela 6. Distribuição dos valores na GOS na alta dos doentes do estudo (n=100).

Pontuação na GOS	Número de doentes	Porcentagem (%)
1	0	0,00
2	8	8,00
3	9	9,00
4	19	19,00
5	64	64,00

Tabela 7. Distribuição dos valores na mRS na alta dos doentes do estudo (n=100).

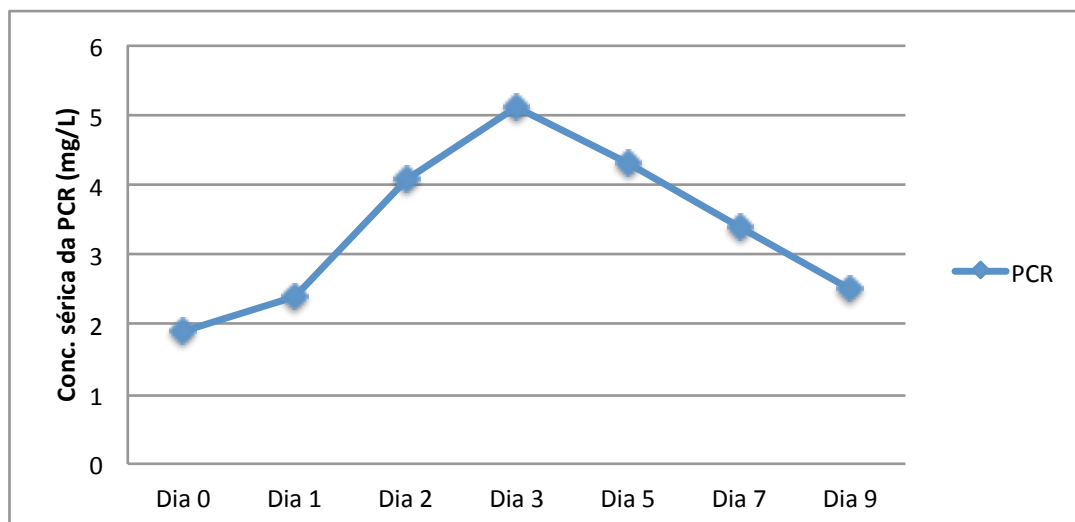
Pontuação na mRS	Número de doentes	Porcentagem (%)
0	55	55,00
1	10	10,00
2	22	22,00
3	4	4,00
4	5	5,00
5	4	4,00
6	0	0,00

Aumento progressivo nos níveis de PCR foi observado em todos os doentes da admissão ao terceiro dia, seguidos por uma queda lenta até o nono dia (Gráfico 3). As concentrações médias, valores medianos e desvio padrão estão expressos na tabela 8.

Tabela 8. Concentrações médias da PCR, valores medianos e desvio padrão (mg/L) dos doentes do estudo (n=100).

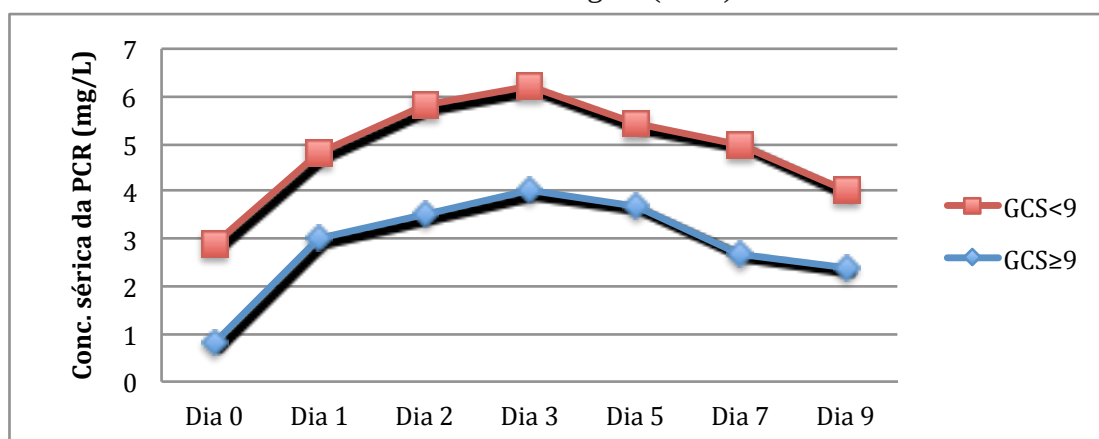
Dia	Média	Mediana	Desvio padrão
0	1,9	2,1	1,3
1	2,4	2,7	1,1
2	4,1	3,8	0,9
3	5,1	5,6	1,4
5	4,3	4,2	0,8
7	3,4	4,1	1,3
9	2,5	1,9	1,1

Gráfico 3. Distribuição da média das concentrações séricas da PCR (mg/L) dos doentes do estudo.



Indivíduos com índices menores na GCS apresentaram concentrações séricas mais elevadas de PCR durante a avaliação seriada (metodologia do coeficiente de correlação; $z = -8.712$, $p < 0.0001$, $r = -0,87$) (Gráfico 4). Índices mais baixos na GCS foram inversamente correlacionados com altas concentrações séricas da PCR.

Gráfico 4. Distribuição temporal das concentrações séricas da PCR (mg/L) segundo o índice de admissão da escala de coma de Glasgow (GCS).



Analisando-se a escala de Hunt Hess (HH), indivíduos com altos índices na admissão apresentaram altas concentrações de PCR sérico (metodologia do

coeficiente de correlação; $z = 6.842$, $p < 0.0001$, $r = 0,80$) (Gráfico 5). Similarmente, aqueles com pontuações altas na EF apresentaram concentrações mais elevadas de PCR sérica (metodologia do coeficiente de correlação; $z = 7.789$, $p < 0.0001$, $r = 0,84$) (Gráfico 6).

Gráfico 5. Distribuição temporal das concentrações séricas da PCR (mg/L) segundo o índice de admissão da escala de Hunt Hess (HH) <3 e ≥ 3 .

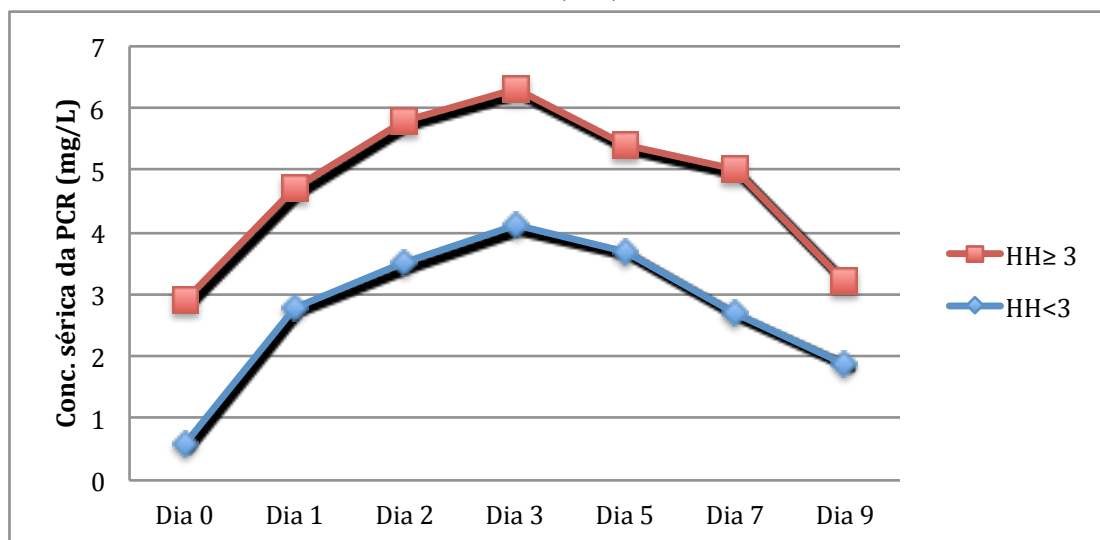
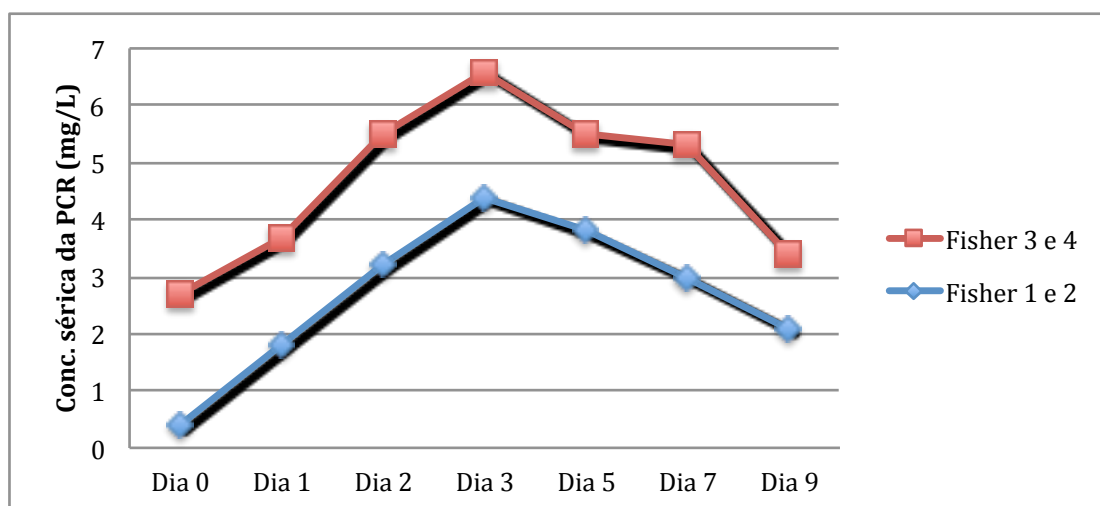


Gráfico 6. Distribuição temporal das concentrações séricas da PCR (mg/L) segundo o índice de admissão da escala de Fisher 1-2 e 3-4.



Não houve diferença estatisticamente significativa nas concentrações séricas da PCR entre os grupos de indivíduos submetidos ao tratamento cirúrgico e os tratados

por via endovascular (metodologia quiquadrado; $\chi^2 = 0.004$, $df = 1$, $p = 0.95$).

Observa-se que as alterações nos parâmetros hemodinâmicos do DTC são associadas com concentrações séricas mais elevadas de PCR (metodologia do coeficiente de correlação; $z = 8.381$, $p < 0.0001$, $r = 0,86$) e indivíduos que manifestaram VC sintomático apresentaram concentrações séricas ainda mais elevadas (metodologia do coeficiente de correlação; $z = 7.863$, $p < 0.0001$, $r = 0,74$) (Gráficos 7 e 8). A tabela 9 mostra os valores médios da PCR, a mediana e o desvio padrão para os grupos sem vasoespasma, com alterações hemodinâmicas no DTC e com vasoespasma clínico.

Tabela 9. Valores médios das concentrações séricas da PCR, mediana e desvio padrão (mg/L) para os grupos sem vasoespasma, com alterações hemodinâmicas no DTC e com vasoespasma clínico (n=100).

Dia	Pacientes sem VC (n=46)			Pacientes com alterações hemodinâmicas no DTC (n=53)			Pacientes com VC clínico (n=30)		
	Média	Mediana	DP	Média	Mediana	DP	Média	Mediana	DP
0	0,7	0,8	0,3	3,3	3,6	0,8	4,1	4,2	0,6
1	1,3	1,2	0,7	3,9	4,1	1,1	4,7	4,3	0,9
2	2,1	2,4	1,2	5,2	4,9	0,5	5,9	6,2	1,3
3	3,0	3,2	0,4	6,0	6,3	1,2	7,2	6,8	0,6
5	2,7	2,8	0,3	4,3	4,6	0,9	5,4	5,1	1,1
7	1,4	1,9	0,8	5,4	5,0	1,0	5,8	5,9	0,7
9	0,9	1,1	1,2	5,1	4,7	0,8	5,3	5,4	1,2

Legenda: DP: desvio padrão, VC: vasoespasma cerebral, DTC: doppler transcraniano.

Em relação aos índices de GOS, indivíduos com concentrações séricas mais elevadas de PCR apresentam prognóstico menos favorável (metodologia do coeficiente de correlação; $z = -6.181$, $p < 0.0001$, $r = -0,80$) (Gráfico 9). Relação inversa estatisticamente significativa foi estabelecida entre as concentrações séricas de PCR e os índices de GOS. Relação similar, fortemente significativa do ponto de vista estatístico, foi observada entre os índices na mRS na alta hospitalar e as concentrações séricas de PCR (metodologia do coeficiente de correlação; $z = 6.688$, $p < 0.0001$, $r = 0,81$) (Gráfico 10).

Gráfico 7. Distribuição temporal das concentrações séricas da PCR (mg/L) em doentes sem VC e com alterações hemodinâmicas no DTC.

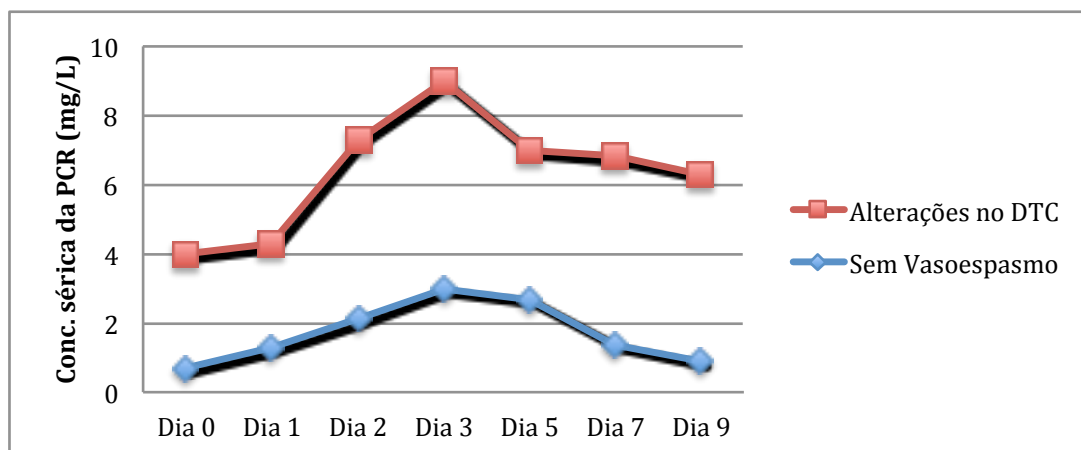


Gráfico 8. Distribuição temporal das concentrações séricas da PCR (mg/L) em doentes sem VC e com VC clínico..

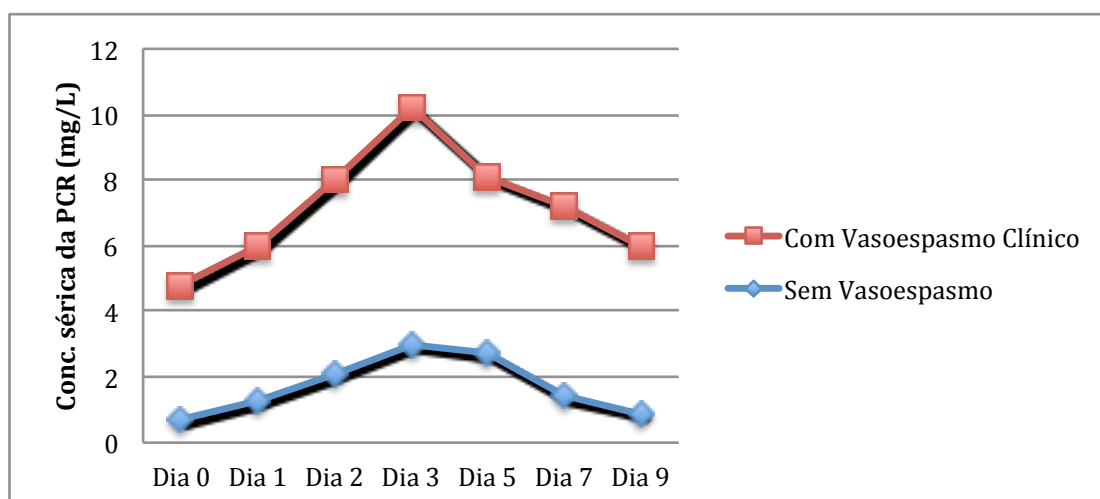
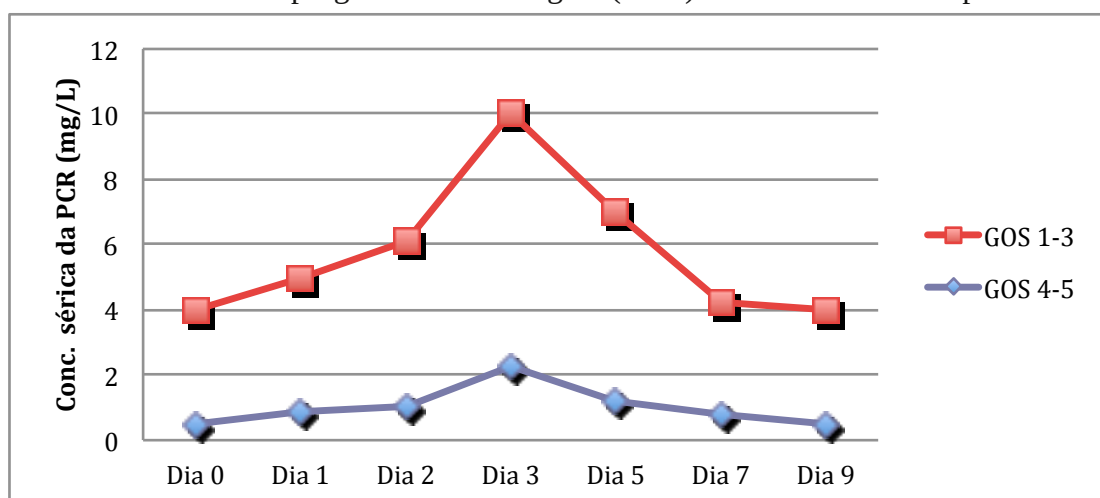


Gráfico 9. Distribuição temporal das concentrações séricas da PCR (mg/L) relacionadas ao índice prognóstico de Glasgow (GOS) ≥ 4 e < 4 na alta hospitalar.



O tempo de internação hospitalar média foi de 18,7 dias (6 a 132 dias) e observou-se que indivíduos que permaneceram mais tempo internados apresentaram concentrações séricas de PCR mais elevados (Gráfico 11) (metodologia do coeficiente de correlação; $z = 7.386$, $p < 0.0001$, $r = 0,84$).

Gráfico 10. Distribuição temporal das concentrações séricas da PCR (mg/L) relacionadas à escala de Rhankim modificada (mRS) 0-2 e 3-6 na alta hospitalar.

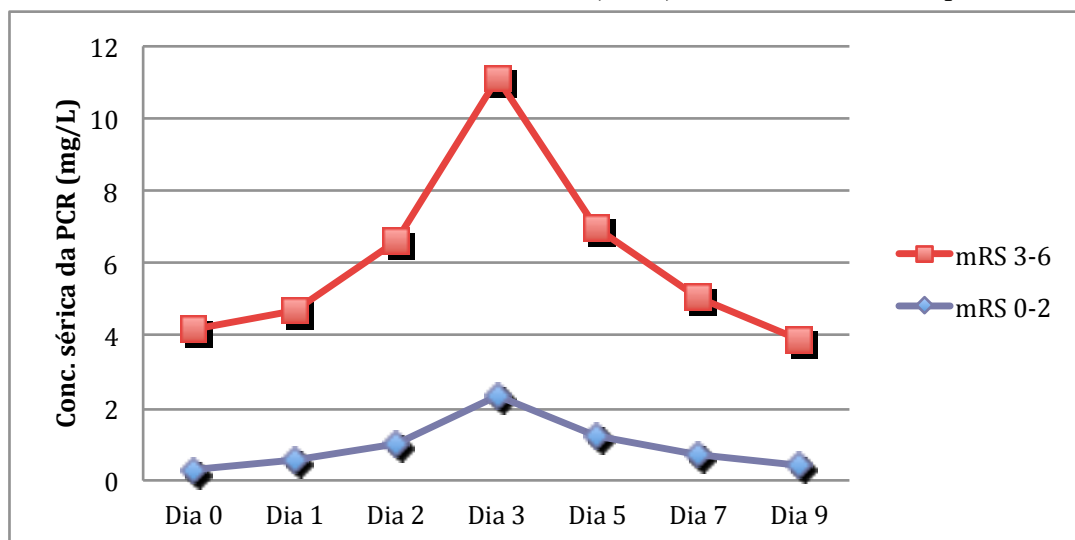
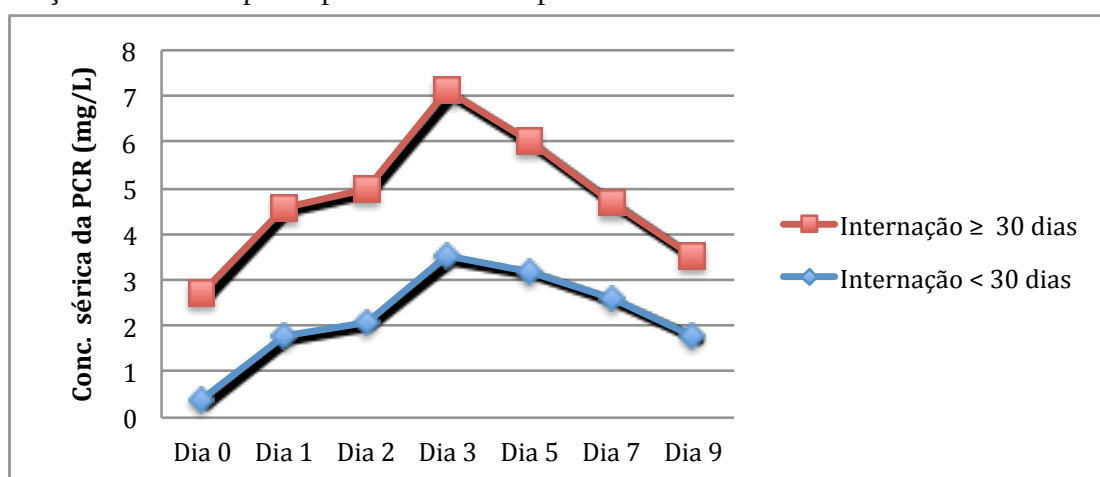


Gráfico 11. Distribuição temporal das concentrações séricas da PCR (mg/L) e sua relação entre o tempo de permanência hospitalar.



Os resultados do modelo multivariado de regressão logística podem ser vistos na tabela 10. Após os ajustes, permanecem no modelo final como variáveis

independentes associadas com maior incidência de vasoespasma encefálico e déficit isquêmico tardio: a) pontuação admissional na GCS, onde quanto mais baixa o índice de entrada, maior a chance de apresentar as intercorrências avaliadas (OR=1.9, 95% IC 1.1 a 3.3); b) pontuação na escala de HH à admissão, onde a chance de indivíduos com índices ≥ 3 de apresentar as intercorrências avaliadas é de cerca de 3,7 vezes maior (OR = 3.4, 95% IC 1.8 a 7.3); c) pontuação admissional na escala de Fisher, onde quanto maior o índice na entrada maior a chance de apresentar as intercorrências avaliadas (OR = 1.8, 95% IC 1.3 a 2.7); d) número de aneurismas intracranianos, onde quanto maior o número de lesões apresentados pelos doentes maior a chance de apresentar as intercorrências avaliadas (OR = 0.9, 95% IC 0.8 a 0.9); e) concentrações séricas da PCR, onde maior valores séricos da PCR estão associados à maior chance de apresentar as intercorrências avaliadas (OR = 1.9, 95% IC 1.4 a 2.2); f) velocidades médias das artérias do polígono de Willis no doppler transcraniano, onde velocidades maiores que 120 cm/s apresentam chance de apresentar as intercorrências avaliadas 3,4 vezes maior (OR = 3.7, 95% IC 1.6 a 6.8).

Tabela 10. Resultado do modelo de regressão logística multivariado para comparação dos grupos com e sem vasoespasma encefálico.

Variável	Estimativas				IC (95%) OR	
	Coefficiente	Wald	p	OR	LI	LS
Constante	-1,1	7,1	0,0076			
GCS admissional	0,7	5,8	0,0161	1,9	1,1	3,3
HH admissional	1,3	12,9	0,0003	3,4	1,8	7,3
EF admissional	0,6	9,6	0,0019	1,8	1,3	2,7
Número de aneurismas	-0,1	19,6	0,0000	0,9	0,8	0,9
PCR sérica	0,7	6,2	0,0021	1,9	1,4	2,2
DTC > 120 cm/s	1,1	7,3	0,0067	3,7	1,6	6,8

Legenda: OR: Razão das chances; LI: Limite inferior do intervalo de confiança para a razão de chances; LS: Limite superior do intervalo de confiança para a razão de chances.



5. Discussão

5- Discussão.

A resposta inflamatória é reação complexa e multifatorial contra agentes estranhos ao organismo. Na HSA, uma série de eventos celulares e moleculares é desencadeada pela presença de sangue no espaço subaracnóideo, convergindo para uma robusta resposta inflamatória (Harrod et al., 2005).

Modelos animais de HSA demonstram que a contagem de macrófagos ativados e células-T estavam aumentadas, com pico após o segundo dia do evento (Kubota et al., 1993). Além disso, existem evidências de que a EN-1, produzida pela ativação de leucócitos acompanhando o processo inflamatório, está diretamente envolvida no desenvolvimento do VC (Dumont et al., 2003). Alguns estudos mais recentes demonstraram que há alterações na expressão do gene relacionado com produtos ligados à inflamação (Aihara et al., 2001; Dumont et al., 2003; Fountas et al., 2009).

Níveis aumentados de várias moléculas de adesão (E-seletina, ICAM-1, VAM-1) e citocinas (IL-6 e IL-1) foram identificados no plasma e no LCR de pacientes com HSA (Fountas et al., 2009). Existe um aumento na concentração sérica de ICAM-1 e VAM-1 em pacientes com HSA e níveis séricos mais elevados destas substâncias estão associados com maiores taxas de déficits isquêmicos tardios (Kubo et al., 2008). Um aumento na velocidade do fluxo sanguíneo das artérias cerebrais basais, mensurados no DTC, foi associado com níveis mais elevados de PAF e TNF- alfa em pacientes após HSA (Dumont et al., 2003; Fassbender et al., 2001). Além disso, valores aumentados de imunoglobulinas e fatores de complemento são observados no plasma e na parede dos vasos durante o VC (Dumont et al., 2003; Hoshi et al, 1984; Kasuya et al., 1989).

Imunoglobulinas e complemento também têm sido estudados na gênese do VC.

Alguns estudos demonstraram aumentos dos níveis destas substâncias no sangue e parede dos vasos durante o curso do VC (Pelletieri et al., 1981; Pelletiere et al., 1986). A ativação do complemento está relacionada com aumento da velocidade de lise de eritrócitos, contribuindo para o VC através da liberação de agentes espasmogênicos no espaço subaracnóideo. Sua depleção relaciona-se com atenuação do VC (Peterson et al., 1989). Bandas oligoclonais IgG foram encontradas no sangue e no LCR de alguns pacientes com HSA. Os autores sugerem que há dois mecanismos e dois locais diferentes de síntese de IgG, incluindo o processo inflamatório após um estágio agudo de lesão vascular e um processo imunológico latente (ativação de células B policlonais pela lesão cerebral). Os dados apoiam o conceito de que a HSA é acompanhada por uma resposta inflamatória que desempenha papel importante no desenvolvimento de VC (Tsementzis et al., 1986).

A análise da expressão dos genes em processos patológicos complexos, como o VC, pode contribuir para caracterizar a patogênese de forma mais específica e delinear alvos possíveis em estratégias terapêuticas e preventivas. Sabe-se que a síntese de RNA é necessária para desenvolvimento de espasmo arterial após a HSA, já que existem evidências que inibidores da síntese de RNA previnem o desenvolvimento de VC (Mima, 1997). A produção de ciclooxigenase-2 (COX-2) induzida após HSA está hiperestimulada em artérias basilares de cães tanto na fase aguda quanto na fase crônica da HSA (Osuka et al., 1998). Além disso, injeção intracisternal de IL-1 beta, IL-6 ou IL-8 podem induzir expressão de COX-2 na artéria basilar (Tran et al., 2001). COX-2 é conhecido como importante substância em muitas respostas inflamatórias e pode representar futuro alvo terapêutico (Harrod et al., 2005). Foram identificados 18 genes expressos positivamente e 2 genes expressos negativamente para VC em relação ao grupo controle. Foram demonstradas diferenças

significativas na expressão de RNAm em artérias espásticas de cães para IL-1, IL-6, IL-8, ICAM-1 e colágeno tipo 1 nos dias 0, 2, 7 e 14 em relação ao grupo controle, sugerindo que o aumento na expressão de genes relacionados à inflamação em artérias basilares espásticas estão associados com perpetuação da contração arterial (Airaha et al., 2001). Tais dados associam fortemente a resposta inflamatória ao desenvolvimento e perpetuação de VC.

O papel dos mecanismos inflamatórios no desenvolvimento e manutenção do VC tem ganhado importância nos últimos anos (Dumont et al., 2003). Sua patogênese envolve múltiplas vias de sinalização na proliferação, inflamação, morte celular, alterações fenotípicas da musculatura lisa, remodelamento vascular e contração, como a via da tirosina kinase-MAP, a via esfingosina-1-Rho miosina kinase e a proteína kinase C (Romero et al., 2011). Diversos estudos clínicos e com animais demonstraram que as vias inflamatórias são fundamentais no desenvolvimento do VC (Rothoerl et al., 2006; Fountas et al., 2009).

Diversos estudos tentaram nos últimos anos estabelecer uma relação entre os marcadores inflamatórios (PCR, fibrinogênio, a proteína sérica amiloide A e citocinas) e o comportamento de células do sangue periférico envolvidas na inflamação, como leucócitos, linfócitos e monócitos (Ridker, 2001; Rothoerl et al., 2006; Fountas et al., 2009). Portadores de doenças oclusivas da artéria coronária (angina estável, angina instável, infarto agudo do miocárdio e outras doenças isquêmicas cardiovasculares), indivíduos com doenças arteriais periféricas e indivíduos aparentemente saudáveis, com a ajuda do avanço tecnológico obtido na determinação da concentração sérica destes parâmetros, foram envolvidos em pesquisas para estabelecer tal correlação (Ridker, 2001).

A PCR é uma substância produzida predominantemente pelo fígado a partir dos

estímulos de citocinas como IL-1 e IL-6, e que apresenta alta sensibilidade como marcador inflamatório. Sabidamente, IL-1 e IL-6 são substâncias envolvidas na patogênese do VC. As concentrações da PCR têm sido muito utilizadas como um marcador bioquímico da inflamação, o qual contribui para a detecção de alguma doença oculta no organismo, para o monitoramento da resposta ao tratamento de certos processos inflamatórios e infecciosos, para a detecção de infecções intercorrentes em indivíduos imunocomprometidos bem como de algumas doenças específicas caracterizadas pela resposta moderada ou ausente dos marcadores inflamatórios (Pepys, 2003). Desta forma, concentrações elevadas de PCR poderiam estar associadas com maior chance de desenvolvimento de VC e, consequentemente, DIT.

Uma possível limitação aos nossos resultados seria a baixa especificidade da PCR, que se mostra alterada em diversas situações de demanda metabólica, inflamatória e infecciosa. Além disso, a manipulação cirúrgica ou endovascular poderia influenciar os níveis séricos da PCR. Entretanto, os rigorosos critérios de inclusão e exclusão do estudo minimizaram a influência destes outros fatores, principalmente infecções concomitantes, neoplasias, e eventos coronarianos. Além disso, não houve diferença estatisticamente significativa nos índices médios de PCR entre o grupo de doentes submetido a tratamento microcirúrgico e no grupo tratado por via endovascular.

Os resultados encontrados no presente estudo mostram que concentrações séricas mais elevadas de PCR estão associadas com maior incidência de VC. Há uma forte correlação inversa entre o quadro clínico de admissão do paciente (GCS) e os níveis séricos de PCR (metodologia do coeficiente de correlação; $z = -8.712$, $p < 0.0001$, $r = -0,87$). Os dados admissionais nas HH e EF também permitem relacionar

com níveis de PCR sérico com forte significância estatística. Além disso, concentrações séricas elevadas de PCR foram observadas em doentes que apresentaram pior prognóstico clínico, através das GOS e mRS.

Dados semelhantes foram observados em outros estudos, que demonstraram haver elevação de concentrações séricas de PCR em todos os doentes submetidos a procedimentos neurocirúrgicos, que foram mais elevados conforme a extensão do traumatismo operatório e que foram ainda mais altos em doentes com HSA (Bengzon, 2003). Outros autores fizeram associação entre o PCR e o prognóstico clínico, demonstrando que altos níveis de PCR se associam com pior prognóstico (Rothoerl et al., 2006; Fountas et al., 2009). Demonstraram, também, que existe um pico sérico de PCR entre o terceiro e o quarto dias, assim como em nosso estudo, com queda progressiva até o nono dia (Takizawa et al., 2001; Kacira et al., 2007; Fountas et al.). Alguns autores demonstraram existir relação entre os prognóstico clínico e os níveis de PCR no LCR (Fountas et al., 2009) e no plasma dos doentes (Romero et al., 2012).

Os dados clínicos da admissão de nossos doentes, baseados na escala de HH e GCS, permitem associar fortemente indivíduos com maior gravidade a índices séricos mais elevados de PCR. Alguns autores associam quadros clínicos admissionais com piores prognósticos neurológicos nos casos de HSA (Macdonald et al. 2007), indicando a possibilidade de uma resposta inflamatória mais intensa nestes casos, com aumento mais significativo de marcadores, como a PCR (Fountas et al., 2009).

A análise das alterações hemodinâmicas no DTC se aplica com eficácia comprovada na detecção precoce e no seguimento de casos de VC (Compton et al., 1987; Constantoyannis et al., 2007). Nossos dados estabelecem forte associação entre

aumentos no fluxo das artérias do polígono de Willis e aumento de níveis séricos de PCR (metodologia do coeficiente de correlação; $z = 8.381$, $p < 0.0001$, $r = 0,86$), evidenciando maiores constrições arteriais em casos de resposta inflamatória mais exuberante. Os dados da literatura mostram forte associação de VC com velocidades maiores que 200 cm/s nas artérias do polígono de Willis (Constantoyannis et al., 2007), porém a análise de regressão multivariada mostrou aumento do risco de VC com velocidades maiores que 120 cm/s (OR ajustada 3.4).

Os achados relacionados à quantidade de sangue nas cisternas da base do crânio, através da EF permitem associar fortemente graus maiores de hemocisternas (Fisher III ou IV) com aumentos das concentrações séricas níveis PCR (metodologia do coeficiente de correlação; $z = 7.789$, $p < 0.0001$, $r = 0,84$). Já é estabelecida relação entre a presença de coágulos no ESA e maior ocorrência de VC (Fisher et al., 1989), porém, nossos dados estabelecem forte associação entre a quantidade de coágulo e a intensidade da resposta inflamatória. Estudos recentes na literatura também estabelecem esta relação para PCR no sangue e para PCR no sangue e LCR (Fountas et al., 2009).

A permanência hospitalar também foi fortemente associada com as concentrações séricas mais elevadas de PCR, mostrando que as consequências do VC no prognóstico dos doentes estão associadas com a intensidade da resposta inflamatória, já que observamos forte relação entre os níveis mais elevados de PCR e pontuações mais baixas nas escalas de GOS e mRS, conforme achados em estudos recentes (Fountas et al., 2009).

A análise estatística multivariada proporcionou conhecimento de algumas variáveis que desempenham papel significativo no risco de desenvolvimento de VC, sendo considerados: índices nas escala de Glasgow, HH e Fisher na admissão, GOS e

mRS na alta, velocidades das artérias do polígono de Willis no DTC e valores séricos da PCR. Tais dados estão de acordo com publicações prévias, que isoladamente associaram tais variáveis ao maior risco de desenvolvimento de espasmo das artérias intracranianas após evento hemorrágico em espaço subaracnóideo e, consequentemente, pior prognóstico (Harrod et al, 2005).

No modelo final multivariado as concentrações séricas de PCR mais elevadas permaneceram como uma variável independente associada a maior risco de VC, com uma OR ajustada de 1,9, juntamente com o GCS admissional (OR ajustada 1,9), os índices na escala de HH na admissão (OR ajustada 3,4) e na escala de Fisher na internação (OR ajustada 1,8), número de aneurismas intracranianos (OR ajustada 0,9) e velocidades médias mais elevadas nas artérias do polígono de Willis medidas no DTC (OR ajustada 3,7) (Tabela 10).

Devido à gravidade dos quadros isquêmicos secundários ao VC e das poucas opções terapêuticas disponíveis, métodos que sejam preditivos em relação ao seu desenvolvimento e ao prognóstico clínico devem ser utilizados de rotina. A dosagem das concentrações séricas da PCR constitui uma ferramenta útil devido à facilidade na obtenção da amostra através do sangue periférico, do baixo custo e da alta sensibilidade como marcador inflamatório. Não existem grandes casuísticas e nem trabalhos prospectivos que avaliem esta relação da PCR (Fountas et al., 2009).

A dosagem de rotina dos níveis da PCR pode identificar indivíduos com alto risco de desenvolver VC e auxiliar no planejamento de estratégias terapêuticas, possibilitando melhor condução de casos de HSA. Os resultados do presente estudo permitem incluir a PCR nos protocolos de assistência aos doentes com HSA.

6. Conclusões

6- Conclusões:

Este estudo possibilitou concluir que:

- O prognóstico clínico de indivíduos com HSA relaciona-se significativamente com as concentrações séricas de PCR;
- Concentrações séricas mais elevadas de PCR são encontrados em doentes com quadros clínicos admissionais mais graves;
- Observa-se maior tempo de permanência hospitalar em indivíduos com maiores concentrações séricas de PCR;
- Indivíduos com vasoespasma clínico apresentam concentrações séricas mais elevadas de PCR;
- Há associação entre alterações hemodinâmicas sugestivas de VC no DTC e maiores concentrações séricas de PCR;



7. Referências Bibliográficas

7- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

Abdellaoui A, AL-Khaffa H. C-reactive protein (CPR) as a marker in peripheral vascular disease. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2007;20:1-5.

Aihara Y, Kasuya H, Onda H, Hori T, Takeda J. Quantitative analysis of gene expressions related to inflammation in canine spastic artery after subarachnoid hemorrhage. *Stroke*. 2001;32:212-7.

Avitsian R, Fiorella D, Soliman MM, Mascha E. Anesthetic considerations of selective intra-arterial nicardipine injection for intracranial vasospasm: a case series. *J Neurosurg Anesthesiol*. 2007;19:125-9.

Barker FG, Ogilvy CS. Efficacy of prophylactic nimodipine for delayed ischemic deficit after subarachnoid hemorrhage: a meta-analysis. *J Neurosurg*. 1996;84:405-14.

Beck J, Raabe A, Lanfermann H, Berkefeld J, De Rochemont R M, Zanella F et al. Effects of balloon angioplasty on perfusion- and diffusion-weighted magnetic resonance imaging results and outcome in patients with cerebral vasospasm. *J Neurosurg*. 2006;105:220-7.

Bendok BR, Getch CC, Malisch TW, Batjer HH. Treatment of aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Semin Neurol*. 1998;18:521-531.

Bengzon J, Grubb A, Bune A, Heillstrom K, Lindstrom V, Brandt L. C-reactive protein levels following standard neurosurgical procedures. *Acta Neurochir. (Wien)* 2003;145:667–71.

Berger C, Uehlinger J, Ghelfi D, Blau N, Fanconi S. Comparison of C-reactive protein and white blood cell count with differential in neonates at risk for septicaemia. *Eur J Pediatr.* 1995;154(2):138-44.

Berk BC, Weintraub WS, Alexander RW. Elevation of C- reactive protein in “active” coronary artery disease. *Am J Cardiol.* 1990;65:168–72.

Biller J, Goderski JC, Adams Jr HP. Management of anerysmal subarachnoid hemorrhage. *Stroke.* 1988;19:1300-50.

Bonita R, Beaglehole R. Modification of Rankin Scale: Recovery of motor function after stroke. *Stroke.* 1988;19(2):1497-1500.

Bor-Seng-Shu E, Teixeira MJ. Brain vasospasm after head injury. *J Neurosurg.* 2007;106(4):728-730.

Carr WP. The role of the laboratory in rheumatology. Acute- phase proteins. *Clin Rheum Dis.* 1983;9:227–39.

Cecon AD, Figueiredo EG, Bor-Seng-Shu E, Scaff M, Teixeira MJ. Extremely delayed cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage. *Arq Neuropsiquiatr.* 2008;66(3A):554-6.

Chen J, Wildman RP, Hamm LL, Muntner P, Reynolds K, Whelton PK, et al. Association between inflammation and insulin resistance in U.S. nondiabetic adults: results from the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Diabetes Care*. 2004;27(12):2960-5.

Compton JS, Redmond S, Simon L. Cerebral blood velocity in subarachnoid hemorrhage: A transcranial Doppler study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1987;50:1499–1503.

Constantoyannis C, Sakellaropoulos GC, Kagadis GC, Katsakiori PF, Maraziotis T, Nikiforidis GC et al. Transcranial cerebral oximetry and transcranial doppler sonography in patients with ruptured cerebral aneurysms and delayed cerebral vasospasm. *Med Sci Monit*. 2007;13:35-40.

Couillard C, Ruel G, Archer WR, Pomerleau S, Bergeron J, Couture P, et al. Circulating levels of oxidative stress markers and endothelial adhesion molecules in men with abdominal obesity. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005;90(12):6454-9.

Cushman M, Legault C, Barrett-Connor E, Stefanick ML, Kessler C, Judd HL, et al. Effect of postmenopausal hormones on inflammation-sensitive proteins: the Postmenopausal Estrogen/Progestin Interventions (PEPI) Study. *Circulation*. 1999;100(7):717-22.

Deshmukh VR, Kakarla UK, Figueiredo EG, Zabramski JM, Spetzler RF. Long-term clinical and angiographic follow-up of unclippable wrapped intracranial aneurysms. *Neurosurgery*. 2006; 58(3):434-42.

Devlin J, Gough A, Huissoon A, Perkins P, Holder R, Reece R, et al. The acute phase and function in early rheumatoid arthritis. C-reactive protein levels correlate with functional outcome. *J Rheumatol*. 1997;24(1):9-13.

Dietrich HH, Dacey RG Jr. Molecular keys to the problems of cerebral vasospasm. *Neurosurgery*. 2000;46:517–30.

Dorsch NW. Therapeutic approaches to vasospasm in subarachnoid hemorrhage. *Curr Opin Crit Care*. 2002;8:128–33.

Dumont AS, Dumont RJ, Chow MM, Lin C, Calisaneller T, Ley KF, et al. Cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage: putative role of inflammation. *Neurosurgery*. 2003;53:123– 35.

Ebersole JL, Cappelli D. Reagentes de fase aguda nas doenças infecciosas e inflamatórias. In: Ebersole JL; Cappelli D. *Periodontologia 2000*. São Paulo: Editora Santos; 2005. p.19-49.

Ecker A, Riemenscheider PA. Angiographic demonstration of spasm of the intracranial arteries with special reference to saccular arterial aneurysms. *J Neurosurg*. 1951;8:660–7.

Fassbender K, Hodapp B, Rossol S, Bertsch T, Schmeck J, Schutt S, et al. Inflammatory cytokines in subarachnoid hemorrhage: association with abnormal blood flow velocities in basal cerebral arteries. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2001;70:534–7.

Festa A, D'Agostino R Jr, Tracy RP, Haffner SM. Elevated levels of acute-phase proteins and plasminogen activator inhibitor-1 predict the development of type 2 diabetes: the insulin resistance atherosclerosis study. *Diabetes*. 2002;51(4):1131-7.

Fisher CM, Kistler JP, Davis JM. Relation of cerebral vasospasm to sub- arachnoid hemorrhage visualized by computerized tomographic scanning. *Neurosurgery*. 1980;6:1–9.

Florey H. Microscopical observations on the circulation of the blood in the cerebral cortex. *Brain*. 1925;48:43-64.

Francisco G, Hernandez C; Simó R. Serum markers of vascular inflammation in dyslipidemia. *Clin Chim Acta*. 2006;33:223-33.

Fountas KN, Tasiou A, Kapsalaki EZ, Paterakis KN, Grigorian AA, GrEGory, et al. Serum and cerebrospinal fluid C-reactive protein levels as predictors of vasospasm in aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Neurosurg Focus*. 2009;26(5):22-31.

Foroni LH, Figueiredo EG, Teixeira MJ, Caldas JG, Leszczynski A, Rivau FR. Saccular aneurysms at middle basilar trunk fenestration. *Arq Neuropsiquiatr*. 2010;68(2):309-11.

Goddard AJP, Raju PPJ, Gholkar A. Does the method of treatment of acutely ruptured intracranial aneurysms influence the incidence and duration of cerebral vasospasm and clinical outcome? *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2004;75:868–872.

Gonzalez NR, Boscardin WJ, Glenn T, Vinuela F, Martin NA. Vasospasm probability index: a combination of transcranial Doppler velocities, cerebral blood flow, and clinical risk factors to predict cerebral vasospasm after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg*. 2007;107(6):1101-1112.

Graf CJ, Nibbelink DW. Cooperative study of intracranial aneurysms and subarachnoid hemorrhage. *Stroke*. 1974;5:559–601.

Gull WM. Cases of aneurism of the cerebral vessels. *Guys Hosp Rep*. 1859;5:281-304.

Haley EC Jr, Kassell NF, Torner JC. The International Cooperative Study on the Timing of Aneurysm Surgery: The North American experience. *Stroke*. 1992;23:205–14.

Hansen-Schwartz J. Cerebral vasospasm: a consideration of the various cellular mechanisms involved in the pathophysiology. *Neurocrit Care*. 2004;1:235–46.

Hergenroeder G, Redell JB, Moore AN, Dubinsky WP, Funk RT, Crommett J, et al. Identification of serum biomarkers in brain-injured adults: potential for predicting elevated intracranial pressure. *J Neurotrauma*. 2008;25:79–93.

Herrmann JL, Blanchard H, Brunengo P, Lagrange PH. TNF alpha, IL-1 beta and IL-6 plasma levels in neutropenic patients after onset of fever and correlation with the C-reactive protein (CRP) kinetic values. *Infection*. 1994;22(5):309-15.

Hirashima Y, Nakamura S, Endo S, Kuwayama N, Naruse Y, Takaku A. Elevation of platelet activating factor, inflammatory cytokines, and coagulation factors in the internal jugular vein of patients with subarachnoid hemorrhage. *Neurochem Res*. 1997;22:1249–1255.

Hoshi T, Shimizu T, Kito K, Yamasaki N, Takahashi K, Takahashi M, et al. Immunological study of late cerebral vasospasm in subarachnoid hemorrhage: detection of immunoglobulins, C3, and fibrinogen in cerebral arterial walls by immunofluorescence method. *Neuro Med Chir. (Tokyo)* 1984;24:647–54.

Hung MJ, Cherng WJ, Yang NI, Cheng CW, Li LF. Relation of high-sensitivity C-reactive protein level with coronary vasospastic angina pectoris in patients without hemodynamically significant coronary artery disease. *Am J Cardiol*. 2005;96:1484–90.

Hunt WE, Hess RM. Surgical risk as related to time of intervention in the repair of

intracranial aneurysms. *J Neurosurg.* 1968 Jan;28(1):14-20.

Ikata J, Wakatsuki T, Oishi Y, Oki T, Ito S. Leukocyte counts and concentrations of soluble adhesion molecules as predictors of coronary atherosclerosis. *Coron Artery Dis.* 2000;11(6):445-9.

Jane JA, Alves WM. Mild brain injury: damage and outcome. In: Becker DP, Povlishock JT, editor. *Central Nervous System Trauma Status Report.* 1985; 255-70.

Kacira T, Kemerdere R, Atukeren P, Hanimoglu H, Zihni Sanus G, Kucur M, et al. Detection of capsase-3, neuron specific enolase, and high-sensitivity C-reactive protein levels in both cerebrospinal fluid and serum of patients after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Neurosurgery.* 2007;60:674–80.

Kassell NF, Sasaki T, Colohan AR, Nazar G. Cerebral vasospasm following aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Stroke.* 1985;16:562–72.

Kasuya H, Weir BK, Nakane M, Pollock JS, Johns L, Marton LS, et al. Nitric oxide synthase and guanylate cyclase levels in canine basilar artery after subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg.* 1995;82:250–5.

Koenig W, Sund M, Fröhlich M. C-reactive protein, a sensitive marker of inflammation, predicts future risk of coronary heart disease in initially healthy middle-aged men- results from the MONICA (Monitoring Trends and Determinants in Cardiovascular Disease) Augsburg Cohort Study, 1984 to 1992. *Circulation.*

1999;99(2):237-42.

Koj, A. Initiation of acute phase response and synthesis of cytokines. *Biochim Biophys Acta*. 1996;1317(2):84-94.

Kramer AH, Gurka MJ, Nathan B, Dumont AS, Kassell NF, Bleck TP. Statin use was not associated with less vasospasm or improved outcome after subarachnoid hemorrhage. *Neurosurgery*. 2008;62:422–30.

Kubo Y, Ogasawara K, Kakino S, Kashimura H, Tomitsuka N, Sugawara A, et al. Serum inflammatory adhesion molecules and high-sensitivity C-reactive protein correlates with delayed ischemic neurologic deficits after subarachnoid hemorrhage. *Surg Neurol*. 2008;69:592–6.

Kubota T, Handa Y, Tsuchida A, Kaneko M, Kobayashi H, Kubota T. The kinetics of lymphocyte subsets and macrophages in subarachnoid space after subarachnoid hemorrhage in rats. *Stroke*. 1993;24:1993–2001.

Lang EW, Diehl RR, Mehdorn HM. Cerebral autoregulation testing after aneurysmal subarachnoid hemorrhage: the phase relationship between arterial blood pressure and cerebral blood flow velocity. *Crit Care Med*. 2001;29(1):158-163.

Liuzzo G, Baisucci LM, Gallimore JR, Caligiuri G, Buffon A, Rebuzzi AG, et al. Enhanced inflammatory response in patients with preinfarction unstable angina. *J Am Coll Cardiol*. 1999;34(6):1696-703.

Lynch JR, Blessing R, White WD, Gracott HP, Newman MF, Laskowitz DT. Novel diagnostic test for acute stroke. *Stroke*. 2004;35: 57-63.

Macdonald RL. Pathophysiology and molecular genetics of vasospasm. *Acta Neurochir Suppl. (Wien)* 2001;77:7–11.

Macdonald RL, Pluta RM, Zhang JH. Cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage: the emerging revolution. *Nature Clinical Practice Neurology*. 2007;3:256-263.

Magnusson WE, Mourão G. *Estatística sem Matemática*. Londrina, 2003, Editora Planta.

Mayberg MR, Batjer HH, Dacey RG Jr, Diringer M, Haley EC Jr, Heros RC, et al. Guidelines for the management of aneurysmal subarachnoid hemorrhage: A statement for healthcare professionals from a special writing group of the Stroke Council, American Heart Association. *Circulation*. 1990;90: 2592–605.

Mayberg MR, Batjer HH, Dacey RG Jr, Diringer M, Haley EC, Heros RC, et al. Guidelines for the management of aneurysmal subarachnoid hemorrhage: a statement for healthcare professionals from a special writing group of the Stroke Council, American Heart Association. *Stroke*. 1994;25:2315–28.

Mayberg MR. Cerebral vasospasm. *Neurosurg Clin N Am*. 1998; 9:615-29.

Mazlam MZ, Hodgson HJ. Interrelations between interleukin-6, interleukin-1 beta, plasma C-reactive protein values, and in vitro C-reactive protein generation in patients with inflammatory bowel disease. *Gut*. 1994;35:77–83.

McGirt MJ, Ambrossi GLG, Huang J, Tamargo RJ. Simvastatin for the prevention of symptomatic cerebral vasospasm following aneurysmal subarachnoid hemorrhage: a single-institution prospective cohort study. *Neurosurgery*. 2009;110:968–74.

Mima T, Mostafa MG, Mori K. Therapeutic dose and timing of administration of RNA synthesis inhibitors for preventing cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage. *Acta Neurochir Suppl. (Wien)* 1997;70:65– 7.

Moniz E. Aneurysme intracranien de la carotide interne droite rendu visible par l'arteriographie cerebrale. *Rev Otoneuroophthalmol*. 1933;11:746-8.

Muehlschlegel S, Dunser MW, Gabrielli A, Wenzel V, Layon AJ. Arginine vasopressin as a supplementary vasopressor in refractory hypertensive, hypervolemic, hemodynamic therapy in subarachnoid hemorrhage. *Neurocrit Care*. 2007;6:3-10.

Origitano TC, Wascher TM, Reichman OH, Anderson DE. Sustained increased cerebral blood flow with prophylactic hypertensive hypervolemic hemodilution (“triple H” therapy) after subarachnoid hemorrhage. *Neurosurgery*. 1990;27:729-39.

Osuka K, Suzuki Y, Watanabe Y, Takayasu M, Yoshida J. Inducible cyclooxygenase expression in canine basilar artery after experimental subarachnoid

hemorrhage. *Stroke*. 1998;29:1219–1222.

Pellettieri L, Carlson CA, Lindholm L. Is the vasospasm following sub- arachnoid hemorrhage an immunoreactive disease? *Experientia*. 1981;37:1170–1.

Pellettieri L, Nilsson B, Carlsson CA, Nilsson U. Serum immunocomplexes in patients with subarachnoid hemorrhage. *Neurosurgery*. 1986;19:767–71.

Pepys MB, Baltz ML. Acute phase proteins with special reference to C-reactive protein and related proteins (pentaxins) and serum amyloid A protein. *Adv Immunol*. 1983;34:141-212.

Pepys MB, Hirschfield GM. C-reactive protein: a critical update. *J Clin Invest*. 2003;111(12):1805-12.

Peterson JW, Searle R, Mandy FF, Teramura A, Hackett JD, Morgan JA, et al. Immunological reaction against the aging human subarachnoid erythrocyte: A model for the onset of cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg*. 1989;71:718–26.

Pitiphat W, Gillman MW, Joshipura KJ, Williams PL, Douglass CW, Rich-Edwards JW. Plasma C-reactive protein in early pregnancy and preterm delivery. *Am J Epidemiol*. 2005;162(11):1108-13.

Pluta RM. Delayed cerebral vasospasm and nitric oxide: review, new hypothesis, and proposed treatment. *Pharmacol Ther*. 2005;105:23–56.

Polin RS, Bavbek M, Shaffrey ME, Billups K, Bogaev CA, Kassell NF, et al.

Detection of soluble E-selectin, ICAM-1, VCAM-1, and L-selectin in the cerebrospinal fluid of patients after subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg.* 1998;89:559–567.

Qureshi AI, Luft AR, Sharma M, Guterman LR, Hopkins LN. Prevention and treatment of thromboembolic and ischemic complications associated with endovascular procedures: Part I – Pathophysiological and pharmacological features. *Neurosurgery.* 2000;46:1344-59.

Rahimi SY, Brown JH, Maconsom SD, Jensen MA, Alleyne CH. Evolution of the Treatment of Cerebral Vasospasm. *Neurosurg Focus.* 2006;20(6):21-8.

Rankin J. Cerebral vascular accidents in patients over the age of 60. *Scott Med J.* 1957;2:200-15.

Ridker PM, Hennekens CH, Rifai N, Buring JE, Manson JE. Hormone replacement therapy and increased plasma concentration of C-reactive protein. *Circulation.* 1999;100(7):713-6.

Ridker PM, Rifai N, Clearfield M, Downs JR, Weis SE, Miles JS, et al. Air Force/Texas Coronary Atherosclerosis Prevention Study Investigators. Measurement of C-reactive protein for the targeting of statin therapy in the primary prevention of acute coronary events. *N Engl J Med.* 2001;344(26): 1959-65.

Romero FR, Figueiredo EG, Teixeira MJ. Signaling pathways in cerebral vasospasm.

Arq Bras Neurocir. 30(3): 116-9, 2011.

Romero FR, Bertolini E, Figueiredo EG, Teixeira MJ. Serum C-reactive protein levels predict neurological outcome after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. Arq Neuropsiquiatr. 2012;70(3):202-5.

Romero FR, Ducati LG, Zanini MA, Cataneo DC, Cataneo AMJ, Gabarra RC. Predicting vasospasm after aneurysmal subarachnoid hemorrhage with C reactive protein levels. Health (Irvine). 2013;7(A5):1-6.

Robertson EG. Cerebral lesions due to intracranial aneurysms. Brain. 1949;72:150-85.

Rothoerl RD, Schebesch KM, Kubitz M, Woertgen C, Brawanski A, Pina AL. ICAM-1 and VCAM-1 expression following aneurysmal subarachnoid hemorrhage and their possible role in the pathophysiology of subsequent ischemic deficits. Cerebrovasc Dis. 2006;22:143–9.

Russek HI, Zohman BL. Papaverine in cerebral angiospasm. JAMA. 1948;136:930-2.

Sayama CM, Liu JK, Couldwell WT. Update on endovascular therapies for cerebral vasospasm induced by aneurysmal subarachnoid hemorrhage. Neurosurg Focus. 2006; 21: E12.

Shine B, de Beer FC, Pepys MB. Solid phase radioimmunoassays for human C-reactive protein. Clin Chim Acta. 1981;117(1):13-23.

Slavkin HC, Baum BJ. Relationship of dental and oral pathology to systemic illness. *JAMA*. 2000;284(10):1215-7.

Sloan MA, Alexandrov AV, Tegeler CH. Transcranial Doppler ultrasonography: report of the therapeutics and technology assessment Subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology*. 2004;62:1468-1481.

Suzuki H, Kanamaru K, Tsunoda H, Inada H, Kuroki M, Sun H, et al. Heme oxygenase-1 gene induction as an intrinsic regulation against delayed cerebral vasospasm in rats. *J Clin Invest*. 1999;104:59–66.

Suzuki R, Masaoka H, Hirata Y, Marumo F, Isotani E, Hirakawa K. The role of endothelin-1 in the origin of cerebral vasospasm in patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *J. Neurosurg*. 1992;77:96-100.

Takizawa T, Tada T, Kitazawa K, Tanaka Y, Hongo K, Kameko M, et al. Inflammatory cytokine cascade released by leukocytes in cerebrospinal fluid after subarachnoid hemorrhage. *Neurol Res*. 2001;23:724–30.

Teasdale G, Murray G, Parker L, Jennett B. Adding up the Glasgow Coma Score. *Acta Neurochir Suppl. (Wien)* 1979;28(1):13–6.

Tsimentzis SA, Chao SW, Hitchcock ER, Gill JS, Beevers DG. Oligoclonal immunoglobulin G in acute subarachnoid hemorrhage and stroke. *Neurology*. 1986;36:395–397.

Tran Dinh YR, Jomaa A, Callebort J, Reynier-Rebuffel AM, Tedgui A, Savarit A, Sercombe R. Overexpression of cyclooxygenase-2 in rabbit basilar artery endothelial cells after subarachnoid hemorrhage. *Neurosurgery*. 2001;48:626–35.

Treggiari-Venzi MM, Suter PM, Romand JA. Review of medical prevention of vasospasm after aneurismal subarachnoid hemorrhage: a problem of neurointensive care. *Neurosurgery*. 2001;48:249-62.

Vadas P, Grouix B, Stefanski E, Wloch M, Pruzanski W, Schroeder J, et al. Coordinate expression of group II phospholipase A2 and the acute-phase proteins haptoglobin (HP) and α 1-anti-chymotrypsin (ACH) by HepG2 cells. *Clin Exp Immunol*. 1997;108(1):175-180.

Van Swieten JC, Koudstaal PJ, Visser MC, Schouten HJ, van Gijn J. Interobserver agreement for the assessment of handicap in stroke patient. *Stroke*. 2004;19(5): 604-607.

Vajkoczy P, Meyer B, Weidauer S, Raabe A, Thome C, Ringel F, et al. Clazosentan (AXV-034343), a selective endothelin A receptor antagonist, in the prevention of cerebral vasospasm following severe aneurysmal subarachnoid hemorrhage: results of a randomized, double-blind, placebo-controlled, multicenter Phase IIa study. *Neurosurgery*. 2005;103:9–17.

Vermeulen M. Subarachnoid hemorrhage: diagnosis and treatment. *J Neurol*. 1996; 243:496-501.

Vergouwen MD, Vermeulen M, Coert BA, Stroes ES, Roos YB. Microthrombosis after aneurysmal subarachnoid hemorrhage: an additional explanation for delayed cerebral ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2008;28(11):1761-1770.

Weir B, Macdonald, RL, Stoodley, M. Etiology of cerebral vasospasm. *Acta Neurochir. (Wien)* 1999;72(suppl.):27-46.

Weyer GW, Nolan CP, Macdonald RL. Evidence- based cerebral vasospasm management. *Neurosurg Focus.* 2006; 21: E8.

Woloshin S, Schwartz LM. Distribution of C-reactive protein values in the United States. *N Engl J Med.* 2005;352(15):1611-3.

Zucker MB. A study of substances in blood serum and platelets which stimulate smooth muscle. *Am J Physiol.* 1944;142:12-26.

8. *Anexas*

8.1 . Anexo A.



Universidade Estadual Paulista
Faculdade de Medicina de Botucatu



Distrito Rubião Junior, s/nº - Botucatu - S.P.
CEP: 18.618-970
Fone/Fax: (0xx14) 3811-6143
e-mail secretaria: capellup@fmb.unesp.br
e-mail coordenadoria: tsarden@fmb.unesp.br



Registrado no Ministério da Saúde
em 30 de abril de 1997

Botucatu, 01 de outubro de 2012

OF. 465/2012

Ilustríssima Senhora
Profª. Drª. Daniele Cristina Cataneo
Departamento de Cirurgia e Ortopedia da
Faculdade de Medicina de Botucatu

Prezada Drª Daniele,

De ordem do Senhor Coordenador, informo que o Projeto de Pesquisa (Protocolo CEP 4351-2012) "Concentração sérica da proteína C reativa como indicador preditivo do prognóstico clínico em indivíduos com hemorragia subaracnóidea aneurismática", a ser conduzido por Flávio Ramalho Romero, orientado por Vossa Senhoria, recebeu do relator parecer favorável, aprovado em reunião de 01/10/2012.

Situação do Projeto: APROVADO. Os pesquisadores deverão apresentar ao CEP ao final da execução do Projeto o "Relatório Final de Atividades".

Atenciosamente,

Alberto Santos Capelluppi
Secretário do CEP

8.2. Anexo B.



SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE
COORDENADORIA DE SERVIÇO DE SAÚDE
UGA II - HOSPITAL IPIRANGA



APROVAÇÃO

A Comissão de Ética do Hospital Ipiranga – UGA II aprovou o Projeto de Pesquisa intitulado “O NÍVEL SÉRICO DA PROTEÍNA C-REATIVA COMO FATOR PREDITIVO DO PROGNÓSTICO CLÍNICO EM PACIENTES COM HEMORRAGIA SUBARACNOÍDEA ESPONTÂNEA”. Estamos cientes da realização da pesquisa em conjunto com a Divisão de Neurocirurgia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Foi apresentado inclusive termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Cabe ao pesquisador elaborar os relatórios parciais e finais e apresentar à Comissão de Ética.

Pesquisador Responsável: **Dr. Eberval Gadelha Figueiredo**

Pesquisador Executante: **Flávio Ramalho Romero**.

São Paulo, 25/05/2011.


Dr. Ernesto Giordano Filho
Comissão de Ética – Hospital Ipiranga – UGA II
Diretor Técnico de Serviço de Pronto Socorro
Hospital Ipiranga – UGA II

8.3. Anexo C.



UNESP **UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**
CAMPUS DE BOTUCATU

FACULDADE DE MEDICINA - Disciplina de Cirurgia Torácica

BOTUCATU, SP – Rubião Júnior – CEP 18618-970 – Fone (14) 3811-6230 – Fax (14)3815-7615

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

“O respeito devido à dignidade humana exige que toda pesquisa se processe após consentimento livre e esclarecido dos sujeitos, indivíduos ou grupos que por si e/ou por seus representantes legais manifestem a sua anuência à participação na pesquisa.” (Resolução. nº 196/96-IV, do Conselho Nacional de Saúde)

Eu, ..., tendo sido convidado a participar do estudo **CONCENTRAÇÃO SÉRICA DA PROTEÍNA C REATIVA COMO INDICADOR PREDITIVO DO PROGNÓSTICO CLÍNICO EM INDIVÍDUOS COM HEMORRAGIA SUBARACNOÍDEA ANEURISMÁTICA**, recebi do(a) Sr(a)....., do(a) **DEPARTAMENTO DE CIRURGIA E ORTOPEDIA.**, responsável por sua execução, os seguintes esclarecimentos:

- A contração das artérias cerebrais (vasoespasm cerebral) é uma grave complicação que pode ocorrer após um sangramento decorrente de uma doença nas artérias cranianas chamada aneurisma cerebral, afetando negativamente o prognóstico dos pacientes que sofrem desta doença. Relacionada a esta complicação, estuda-se a Proteína C reativa (PCR), que é um marcador da atividade de inflamação que normalmente aumenta em situações de inflamação ou infecção. Nós tentaremos estabelecer uma possível relação entre os níveis da PCR e o maior risco de desenvolver contração das artérias cerebrais;
- A PCR será dosada em exames de sangue, coletado em veia do antebraço diariamente, nos primeiros 10 (dez) dias após o sangramento;
- Os riscos possíveis de sua participação são aqueles que normalmente estão associados à coleta de uma amostra de sangue para a realização de exames de rotina e incluem desconforto no local da punção venosa e eventual formação de hematoma local transitório;
- Não há procedimentos experimentais e não rotineiros;
- O participante não terá benefício imediato com esta pesquisa. Poderá haver benefício futuro caso haja comprovação da relação dos níveis de PCR com maior chance de desenvolver vasoespasm e novas modalidades de tratamento mais específicas e eficazes sejam descobertas;
- O indivíduo que recusar-se a participar da pesquisa continuará a receber o mesmo tratamento médico, sem qualquer prejuízo para diagnóstico, tratamento e seguimento do caso;
- Em qualquer etapa do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas;
- É garantida a liberdade da retirada de consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem qualquer prejuízo à continuidade de seu tratamento na Instituição;
- As informações obtidas serão analisadas em conjunto com outros pacientes, não sendo divulgado a identificação de nenhum paciente;
- Receberei uma cópia deste termo podendo tirar dúvidas sobre o projeto a qualquer momento. Qualquer dúvida adicional, você poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa, através do telefone 3880-1608.

unesp UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CAMPUS DE BOTUCATU
FACULDADE DE MEDICINA - Disciplina de Cirurgia Torácica

BOTUCATU, SP – Rubião Júnior – CEP 18618-970 – Fone (14) 3811-6230 – Fax (14)3815-7615

Declaro que entendi os objetivos, riscos e benefícios de minha participação na pesquisa e concordo em participar.

O pesquisador me informou que o projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Hospital das Clínicas, Distrito de Rubião Júnior s/n CEP 18618-970 Botucatu, São Paulo, Brasil. Telefone/Fax (14)38801608 Endereço Eletrônico: capellup@fmb.unesp.br

Dados complementares do participante

Endereço:

Telefone:

Assinatura do participante

Assinatura do pesquisador

Responsável: Prof^a. Assist. Dr^a. Daniele Cristina Cataneo – UNESP – Departamento de Cirurgia e Ortopedia
CEP. 18.600 - Botucatu-SP - Tel.: (014) 3811-6091 - e-mail: dcataneo@fmb.unesp.br



9. *Apêndices*

9.1. Apêndice A.

Vol.5, No.7A5, 1-6 (2013)
doi:10.4236/health.2013.57A5001

Health

Predicting vasospasm after aneurismal subarachnoid hemorrhage with C reactive protein levels*

Flávio R. Romero^{1#}, Luis G. Ducati¹, Marco A. Zanini², Daniele C. Cataneo³,
Antônio J. M. Cataneo³, Roberto C. Gabarra²

¹Neurosurgeon at Hospital das Clínicas de Botucatu-UNESP, Botucatu, Brazil;

[#]Corresponding Author: fromero@ig.com.br, romeroncr@gmail.com

²Neurosurgery at São Paulo State University Medical School, Botucatu, Brazil

³Thoracic Surgery at São Paulo State University Medical School, Botucatu, Brazil

Received 21 April 2013; revised 26 May 2013; accepted 15 June 2013

Copyright © 2013 Flávio R. Romero *et al.* This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

ABSTRACT

Aim: The interest of inflammatory marker increased in the last years, even in preventing clinical outcome after subarachnoid hemorrhage (SAH). Our objective was to study the relationships between C-reactive protein levels and clinical outcome and the development of cerebral vasospasm after aneurismal SAH. **Methods:** One hundred adult patients with aneurismal SAH were prospectively evaluated. Glasgow Coma Scale (GCS) score, Hunt and Hess grade, Fisher grade, CT scans, digital subtraction angiography studies, transcranial doppler (TCD) and daily neurological examinations were recorded. Serial serum CRP measurements were obtained on daily between admission and 10th days. Glasgow Outcome Scale (GOS) and the modified Rankin Scale (mRS) were used to predict outcome. **Results:** A progressive increase in the CRP levels from the admission to the 3rd postictal day was observed, followed by a slow decrease until the 9th day. Hemodynamic changes in TCD were associated with higher serum CRP levels. Patients with lower GCS scores presented with increased CRP levels. Patients with higher Hunt and Hess grades on admission developed significantly higher CRP serum levels. Patients with higher admission Fisher grades showed increased levels of CRP. A statistically significant inverse correlation was established in our series between CRP serum levels and GOS and mRS scores on discharge and CRP levels. **Conclu-**

sion: Increased CRP levels were strongly associated with poor clinical outcome. CRP levels can predict cerebral vasospasm and delayed ischemic deficits with higher statistic significance. There are relationships between hemodynamic changes in TCD and higher CRP levels.

Keywords: Intracranial Vasospasm; Subarachnoid Hemorrhage; C Protein; Intracranial Aneurism

1. INTRODUCTION

Cerebral vasospasm is the major cause of delayed morbidity following aneurysmal subarachnoid hemorrhage (SAH). Despite recent advances in the management of patients with ruptured cerebral aneurysms, case fatality rates remain high (35% to 50%) [1-3]. More than 40% of survivors experience long-term cognitive and functional limitations [1-5].

A multiple inflammatory mechanisms are directly involved in the pathogenesis of cerebral vasospasm, with increased levels of various soluble adhesion molecules (such as E-selectin, intercellular adhesion molecule-1, and vascular adhesion molecule-1) and cytokines (such as IL-6 and IL-1) have been detected in the plasma and cerebrospinal fluid (CSF) of patients with SAH [2,3,6-9].

Identifying risk factors may improve clinical prediction and allow for more effective treatment of vasospasm. The measurement of sensitive inflammatory markers such as CRP significantly increases our ability to predict with accuracy and prevent or appropriately treat coronary thrombotic events [10-13]. Previous clinical studies have shown that elevated levels of high-sensitivity CRP could predict the development of coronary vasospasm [8,9].

*Conflicts of interest: none.

Interest in inflammatory markers for cerebral vasospasm has increased, particularly when related with neurologic outcome.

In our study, we measured the CRP serum levels in patients suffering SAH, and analyzed the relationships between systemic CRP levels and the severity of SAH.

2. METHODS

Between January 2009 and February 2013, 100 adult patients were selected for a prospective cohort study at Hospital Ipiranga and Hospital das Clínicas in Botucatu, Brazil. The inclusion criteria were as follows: 1) diagnosis of aSAH and cerebral aneurysms established by a CT scan and four-vessel DS angiography study; 2) patient age > 18 years; 3) patient admission to our institutions within the first 24 hours postictus. The exclusion criteria were concomitant or recent acute myocardial infarction, recent surgery (≤ 30 days) prior to the event, and/or clinical or laboratory evidence of chronic systemic infection. In addition, patients who died before completing 10 days of treatment were not included.

Patient demographics, clinical status on admission Glasgow Coma Scale (GCS) (GCS scores and Hunt and Hess grades), head CT scans, severity of the SAH blood clot load (Fisher grades), location of a ruptured aneurysm (standard four-vessel DS angiography) and neurological examinations on admission and daily thereafter were recorded. Surgical clipping was performed in 57 (57%) of the 100 patients for 72 (57.14%) of the 126 aneurysms, whereas endovascular treatment was used in 43 patients (43%) for 54 (42.86%) of the 126 aneurysms. The selection of surgical versus endovascular treatment was based on criteria, such as the anatomical location of the lesion, the size and morphological features of the aneurysm, the presence of multiple aneurysms, the presence of a mass effect caused by the aneurysm and/or an associated hematoma, and the patient's neurological and general medical condition and preference.

The serum CRP levels were measured daily between admission and the tenth day, and the measurements ob-

tained were recorded. Transcranial Doppler (TD) was performed daily. The patients' clinical outcome was evaluated using the Glasgow Outcome Scale (GOS) and modified Rankin Scale (mRS) at discharge from our institutions. This study was approved by the local Ethics Committee. Statistical analyses were performed using SAS version 9.1.3.

3. RESULTS

The admission GCS scores ranged from 3 to 15 (mean = 14). Hunt and Hess scores on admission ranged from I to V (mean = 2.5), and Fisher grades from 1 to 4 (mean = 1.5). The GOS scores on discharge ranged from 2 to 5 (mean = 4.2), and the range of mRS scores was from 0 to 5 (mean = 0.8).

A progressive increase in CRP levels from admission to the third day post ictus was observed, followed by a slow decrease until the ninth day (**Figure 1**). Patients with lower GCS scores presented increased CRP measurements (correlation coefficient methodology; $z = -8.912$, $p < 0.0001$, $r = -0.89$). Patients with higher Hunt and Hess grades on admission developed significantly higher serum CRP levels (correlation coefficient methodology; $z = 6.941$, $p < 0.0001$, $r = 0.81$) (**Figure 2**). Similarly, patients with higher Fisher grades on admission showed increased levels of CRP (correlation coefficient methodology; $z = 7.821$, $p < 0.0001$, $r = 0.86$) (**Figure 3**). Occurrences of clinical vasospasm were significantly correlated with higher CRP levels (correlation coefficient methodology; $z = 7.921$, $p < 0.0001$, $r = 0.75$) and patients with hemodynamic changes in transcranial Doppler showed higher CRP levels than patients without vasospasm (correlation coefficient methodology; $z = 8.421$, $p < 0.0001$, $r = 0.88$) (**Figure 4**).

There was no statistically significant difference in serum CRP levels between the group of patients undergoing surgical clipping and those undergoing endovascular coil occlusion. With regard to their GOS scores, patients with higher serum CRP levels (correlation coefficient methodology; $z = -6.181$, $p < 0.0001$, $r = -0.81$) (**Figure**

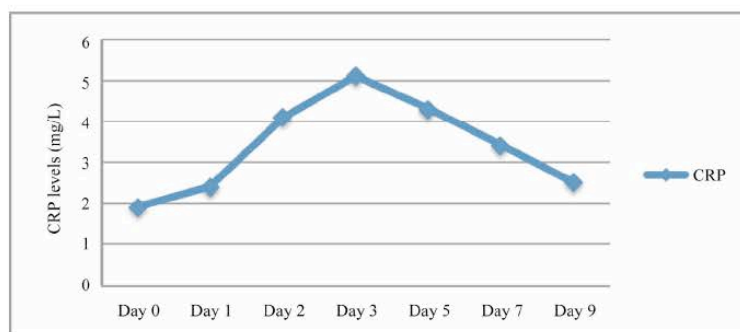


Figure 1. Schematic representation of summated measured CRP serum levels of our patients.

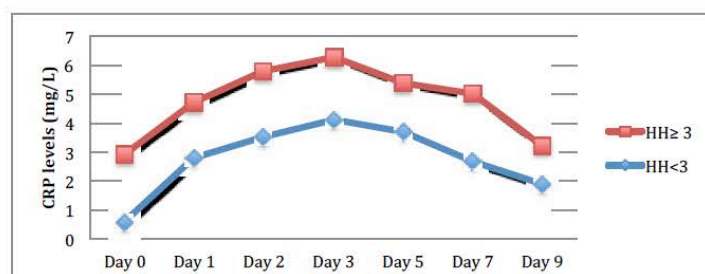


Figure 2. Schematic representation of serum CRP levels with regard to the admission Hunt-Hess score (HH).

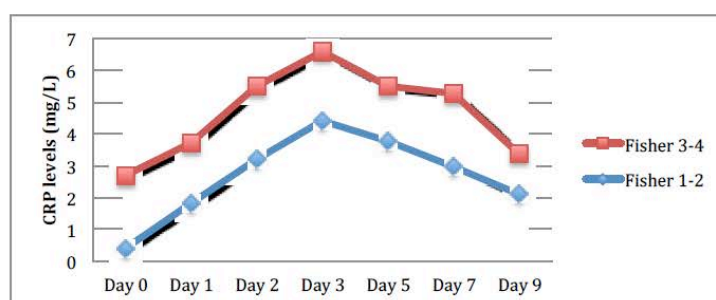


Figure 3. Schematic representation of serum CRP levels in patients with admission fisher score 1 - 2 versus patients with fisher score 3 - 4.

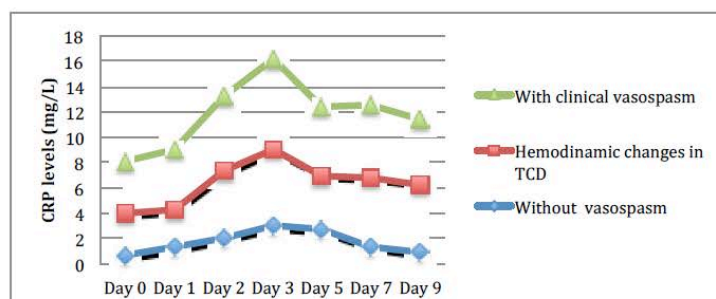


Figure 4. Schematic representation of serum CRP levels in patients with and without vasospasm and with hemodynamic changes in TCD.

5) presented less favorable outcomes. A statistically significant inverse correlation was established in our series between serum CRP levels and GOS scores. A similar statistically strong relationship was found between mRS scores on discharge and CRP measurements (correlation coefficient methodology; $z = 6.762$, $p < 0.0001$, $r = 0.82$) (Figure 6).

4. DISCUSSION

Cerebral vasospasm after SAH is common, potentially

devastating, and incompletely understood. Inflammation accompanying SAH may be a critical pathway underlying the development of cerebral vasospasm. Inflammation is a complex and multifaceted response aimed to ultimately defend against foreign antigens [8,9,14-18]. In the instance of SAH, a complex series of cellular and molecular events is elicited by the presence of blood clot in the subarachnoid space, culminating in a robust inflammatory response. Although the possible role of inflammation in the genesis of cerebral vasospasm has

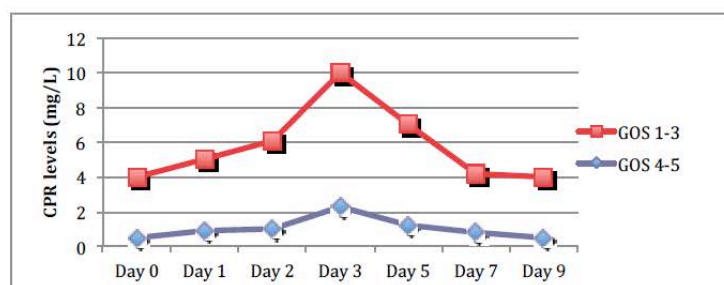


Figure 5. Schematic representation of serum CRP measurements in patients with GOS score 4 - 5 versus patients with GOS score 1 - 3 at discharge.

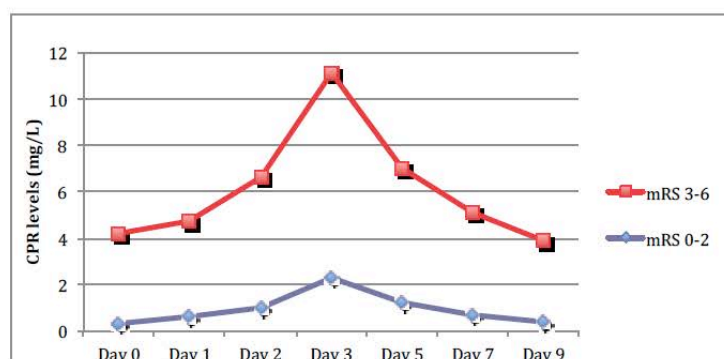


Figure 6. Schematic representation of serum CRP measurements in patients with mRS score 3 - 6 versus patients with mRS score 0 - 2 at discharge.

been recognized for some time, its cellular and molecular basis and putative importance have not been more clearly defined until recently [2,3,19,20].

In the acute stages of inflammation, the local homeostatic milieu is altered, resulting in expression of adhesion molecules that evoke leukocyte adherence to the endothelium, with subsequent migration, activation, and release of effector substances [8,21]. Leukocytes are also critical constituents of the inflammatory response. Leukocytes may act by direct effects on the vasculature or indirectly through the elaboration and propagation of the inflammatory response [22]. For example, neutrophils may produce and release reactive metabolites of oxygen that evoke endothelial dysfunction and calcium influx [2,23]. Furthermore, leukocytes may release a variety of other substances (including leukotrienes and other lipid mediators) that have powerful vascular effects. In addition, leukocytes produce a host of factors (such as cytokines) that further activate and propagate immune responses [24,25].

Experimental and clinical evidence suggests that Interleukin Adhesion Molecule 1 (ICAM-1) mediated leukocyte migration may play a crucial role in the patho-

genesis of cerebral vasospasm [9-13]. SAH increases endothelial ICAM-1 expression [1,3-5,26,27] and resultant perivascular leukocyte migration [1,3-5,9,14,15]. Furthermore, serum ICAM-1 level correlates with the onset of cerebral vasospasm [1,3,6-9]. Perivascular chemokine-activated inflammatory cells synthesize and release endothelin-1, a potent vasoconstrictor, as well as superoxide free radicals, leading to inactivation of nitric oxide (NO) and vasoconstriction [1,3,6-9,26,27]. Anti-ICAM-1 antibodies decrease leukocyte migration and attenuate cerebral vasospasm after SAH [1,3,6-9].

CRP is a sensitive inflammatory marker, with synthesis in hepatocytes is strongly stimulated by interleukin-6 [1-3,6,7,20,21]. Additionally, IL-1, which has been implicated in the pathogenesis of cerebral vasospasm, also represents a strong stimulus for CRP synthesis [1-5]. So, elevated concentrations of CRP may well be associated with an increased possibility of developing cerebral vasospasm and subsequently a DIND [1,3,22-25,28].

There was a strong inverse correlation between admitting GCS scores and CRP levels in serum ($r = -0.89$ and $r = -0.82$, respectively). Hunt and Hess and Fisher grades were also correlated in a statistically significant fashion

with the CRP measurements in our cohort. These data clearly indicates that CRP levels significantly relate with the severity of aSAH and occurrence of vasospasm. Furthermore, the elevated CRP levels were associated with worse clinical outcome, as expressed in GOS and mRS scores. Additionally, we found no statistically significant differences in the occurrence of angiographic vasospasm between patients undergoing surgical treatment and those undergoing endovascular coil occlusion.

Our strict inclusion criteria minimized the influence of other confounding factors such as systemic infection or concomitant systemic conditions, and statistical analysis is compelling to define the influence of CRP levels on vasospasm occurrence and neurological final outcomes. Unfortunately, the clinical significance of elevated serum CRP measurements in patients sustaining aSAH is confounded by the fact that most of these patients may have other concomitant systemic infections or pathological conditions that could potentially result in increased CRP serum concentrations. Additionally, the surgical manipulation in these patients could influence the systemic CRP levels.

It is well known that clinical outcome in patients with aSAH is multifactorial. The association between CRP levels systemically with the clinical outcome may well be influenced by other parameters in a complex and frequently unpredictable way. In addition, CRP represents a sensitive but nonspecific inflammatory marker. A large-scale, multicenter, prospective clinical study is necessary to validate our results and to determine the role of serum CRP in the identification of patients at high risk for developing cerebral vasospasm.

5. CONCLUSION

Clinical and radiologic severity of SAH correlated significantly with serum CRP levels, since patients with low GCS scores and high Hunt and Hess and Fisher grades presented elevated serum CRP levels. Additionally, CRP levels were able to predict occurrences of vasospasm and poor clinical outcomes in a statistically significant fashion. Routine use of CRP levels may identify patients who are at a high risk of developing cerebral vasospasm and may have a positive impact on therapeutic strategies and the future management of patients with aSAH.

REFERENCES

- [1] Bengzon, J., Grubb, A., Bune, A., Heillstrom, K., Lindstrom, V. and Brandt, L. (2003) C-reactive protein levels following standard neurosurgical procedures. *Acta Neurochirurgica*, **145**, 667-671. doi:10.1007/s00701-003-0083-5
- [2] Romero, F.R., Bertolini, E.G., Figueiredo, E.G. and Teixeira, M.J. (2012) Serum C-reactive protein levels predict neurological outcome after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Arg Neuropsiquiatr*, **70**, 202-205.
- [3] Fountas, K.N., Tasiou, A., Kapsalaki, E.Z., Paterakis, K.N., Grigorian, A.A. and Lee, G.P. (2009) Serum and cerebrospinal fluid C-reactive protein levels as predictors of vasospasm in aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Neurosurgical Focus*, **26**, 22-31. doi:10.3171/2009.2.FOCUS08311
- [4] Kramer, A.H., Gurka, M.J., Nathan, B., Dumont, A.S., Kassell, N.F. and Bleck, T.P. (2008) Statin use was not associated with less vasospasm or improved outcome after subarachnoid hemorrhage. *Neurosurgery*, **62**, 422-430. doi:10.1227/01.neu.0000316009.19012.e3
- [5] Suzuki, R., Masaoka, H., Hirata, Y., Marumo, F., Isotani, E. and Hirakawa, K. (1992) The role of endothelin-1 in the origin of cerebral vasospasm in patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Journal of Neurosurgery*, **77**, 96-100. doi:10.3171/jns.1992.77.1.0096
- [6] Vajkoczy, P., Meyer, B., Weidauer, S., Raabe, A., Thome, C., Ringel, F., et al. (2005) Clazosentan (AXV-034343), a selective endothelin A receptor antagonist, in the prevention of cerebral vasospasm following severe aneurysmal subarachnoid hemorrhage: Results of a randomized, double-blind, placebo-controlled, multicenter Phase IIa study. *Neurosurgery*, **103**, 9-17. doi:10.3171/jns.2005.103.1.0009
- [7] Goddard, A.J.P., Raju, P.P.J. and Gholkar, A. (2004) Does the method of treatment of acutely ruptured intracranial aneurysms influence the incidence and duration of cerebral vasospasm and clinical outcome? *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, **75**, 868-872. doi:10.1136/jnnp.2003.033068
- [8] Berk, B.C., Weintraub, W.S. and Alexander, R.W. (1990) Elevation of C-reactive protein in "active" coronary artery disease. *American Journal of Cardiology*, **65**, 168-172. doi:10.1016/0002-9149(90)90079-G
- [9] Carr, W.P. (1983) The role of the laboratory in rheumatology. Acute-phase proteins. *Rheumatic Diseases Clinics of North America*, **9**, 227-239.
- [10] Dumont, A.S., Dumont, R.J., Chow, M.M., Lin, C., Calisaneller, T., Ley, K.F., et al. (2003) Cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage: Putative role of inflammation. *Neurosurgery*, **53**, 123-135. doi:10.1227/01.NEU.0000068863.37133.9E
- [11] Hansen-Schwartz, J. (2004) Cerebral vasospasm: A consideration of the various cellular mechanisms involved in the pathophysiology. *Neurocritical Care*, **1**, 235-246. doi:10.1385/NCC:1:2:235
- [12] Hergenroeder, G., Redell, J.B., Moore, A.N., Dubinsky, W.P., Funk, R.T., Crommett, J., et al. (2008) Identification of serum biomarkers in brain-injured adults: Potential for predicting elevated intracranial pressure. *Journal of Neurotrauma*, **25**, 79-93. doi:10.1089/neu.2007.0386
- [13] Hoshi, T., Shimizu, T., Kito, K., Yamasaki, N., Takahashi, K., Takahashi, M., et al. (1984) Immunological study of late cerebral vasospasm in subarachnoid hemorrhage: Detection of immunoglobulins, C3, and fibrinogen in cerebral arterial walls by immunofluorescence method. *Neurologia Medico-Chirurgica*, **24**, 647-654.

- [doi:10.2176/nmc.24.647](https://doi.org/10.2176/nmc.24.647)
- [14] Rothoerl, R.D., Schebesch, K.M., Kubitz, M., Woertgen, C., Brawanski, A. and Pina, A.L. (2006) ICAM-1 and VCAM-1 expression following aneurysmal subarachnoid hemorrhage and their possible role in the pathophysiology of subsequent ischemic deficits. *Cerebrovascular Diseases*, **22**, 143-149. [doi:10.1159/000093243](https://doi.org/10.1159/000093243)
- [15] Rankin, J. (1957) Cerebral vascular accidents in patients over the age of 60. *Scottish Medical Journal*, **2**, 200-215.
- [16] Bonita, R. and Beaglehole, R. (1988) Modification of rankin scale: Recovery of motor function after stroke. *Stroke*, **19**, 1497-1500. [doi:10.1161/01.STR.19.12.1497](https://doi.org/10.1161/01.STR.19.12.1497)
- [17] Van Swieten, J.C., Koudstaal, P.J., Visser, M.C., Schouten, H.J. and van Gijn, J. (1988) Interobserver agreement for the assessment of handicap in stroke patient. *Stroke*, **19**, 604-607. [doi:10.1161/01.STR.19.5.604](https://doi.org/10.1161/01.STR.19.5.604)
- [18] Lynch, J.R., Blessing, R., White, W.D., Gracott, H.P., Newman, M.F. and Laskowitz, D.T. (2004) Novel diagnostic test for acute stroke. *Stroke*, **35**, 57-63. [doi:10.1161/01.STR.0000105927.62344.4C](https://doi.org/10.1161/01.STR.0000105927.62344.4C)
- [19] Suzuki, H., Kanamaru, K., Tsunoda, H., Inada, H., Kuroki, M., Sun, H., *et al.* (1999) Heme oxygenase-1 gene induction as an intrinsic regulation against delayed cerebral vasospasm in rats. *Journal of Clinical Investigation*, **104**, 59-66. [doi:10.1172/JCI5357](https://doi.org/10.1172/JCI5357)
- [20] Pluta, R.M. (2005) Delayed cerebral vasospasm and nitric oxide: review, new hypothesis, and proposed treatment. *Pharmacology & Therapeutics*, **105**, 23-56. [doi:10.1016/j.pharmthera.2004.10.002](https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2004.10.002)
- [21] Mazlam, M.Z. and Hodgson, H.J. (1994) Interrelations between interleukin-6, interleukin-1 beta, plasma C-reactive protein values, and in vitro C-reactive protein generation in patients with inflammatory bowel disease. *Gut*, **35**, 77-83. [doi:10.1136/gut.35.1.77](https://doi.org/10.1136/gut.35.1.77)
- [22] Kassell, N.F., Sasaki, T., Colohan, A.R.T. and Nazar, G. (1985) Cerebral vasospasm following aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Stroke*, **16**, 562-572. [doi:10.1161/01.STR.16.4.562](https://doi.org/10.1161/01.STR.16.4.562)
- [23] Kasuya, H., Weir, B.K., Nakane, M., Pollock, J.S., Johns, L., Marton, L.S., *et al.* (1995) Nitric oxide synthase and guanylate cyclase levels in canine basilar artery after subarachnoid hemorrhage. *Journal of Neurosurgery*, **82**, 250-255. [doi:10.3171/jns.1995.82.2.0250](https://doi.org/10.3171/jns.1995.82.2.0250)
- [24] Hung, M.J., Cherng, W.J., Yang, N.I., Cheng, C.W. and Li, L.F. (2005) Relation of high-sensitivity C-reactive protein level with coronary vasospastic angina pectoris in patients without hemodynamically significant coronary artery disease. *American Journal of Cardiology*, **96**, 1484-1490. [doi:10.1016/j.amjcard.2005.07.055](https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2005.07.055)
- [25] Deshmukh, V.R., Kakarla, U.K., Figueiredo, E.G., Zabramski, J.M. and Spetzler, R.F. (2006) Long-term clinical and angiographic follow-up of unclippable wrapped intracranial aneurysms. *Neurosurgery*, **58**, 434-442.
- [26] Mayberg, M.R., Batjer, H.H., Dacey, R.G. Jr, Diringer, M., Haley, E.C., Heros, R.C., *et al.* (1994) Guidelines for the management of aneurysmal subarachnoid hemorrhage: A statement for healthcare professionals from a special writing group of the Stroke Council, American Heart Association. *Stroke*, **25**, 2315-2328. [doi:10.1161/01.STR.25.11.2315](https://doi.org/10.1161/01.STR.25.11.2315)
- [27] Kasuya, H., Weir, B.K., Nakane, M., Pollock, J.S., Johns, L., Marton, L.S., *et al.* (1995) Nitric oxide synthase and guanylate cyclase levels in canine basilar artery after subarachnoid hemorrhage. *Journal of Neurosurgery*, **82**, 250-255. [doi:10.3171/jns.1995.82.2.0250](https://doi.org/10.3171/jns.1995.82.2.0250)
- [28] Cecon, A.D., Figueiredo, E.G., Bor-Seng-Shu, E., Scaff, M. and Teixeira, M.J. (2008) Extremely delayed cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage. *Arq Neuropsiquiatr*, **66**, 554-556. [doi:10.1590/S0004-282X2008000400024](https://doi.org/10.1590/S0004-282X2008000400024)

9.2. Apêndice B.

ARTICLE

Serum C-reactive protein levels predict neurological outcome after aneurysmal subarachnoid hemorrhage

O nível sérico da proteína C-reativa como fator preditivo do prognóstico neurológico após hemorragia subaracnóidea aneurismática

Flávio Ramalho Romero¹, Eduardo de Freitas Bertolini², Eberval G. Figueiredo³, Manoel Jacobsen Teixeira⁴

ABSTRACT

Objectives: Our aim was to evaluate the relationship between serum C-reactive protein (CRP) levels and the neurological prognosis and development of vasospasm in patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage (aSAH). **Methods:** Eighty-two adult patients with aSAH diagnoses were prospectively evaluated. Glasgow Coma Scale (GCS) score, Hunt and Hess grade, Fisher grade, cranial CT scans, digital subtraction angiography studies and daily neurological examinations were recorded. Serial serum CRP measurements were obtained daily between admission and the tenth day. Glasgow Outcome Scale (GOS) and the modified Rankin Scale (mRS) were used to assess the prognosis. **Results:** Serum CRP levels were related to severity of aSAH. Patients with lower GCS scores and higher Hunt and Hess and Fisher grades presented statistically significant higher serum CRP levels. Patients with higher serum CRP levels had a less favorable prognosis. **Conclusions:** Increased serum CRP levels were strongly associated with worse clinical prognosis in this study.

Key words: C-reactive protein, subarachnoid hemorrhage, vasospasm, intracranial aneurysm.

RESUMO

Objetivos: Nosso propósito foi avaliar a relação entre os níveis séricos de proteína C-reativa (PCR), o prognóstico neurológico e o desenvolvimento de vasoespasmio em pacientes com hemorragia subaracnóidea aneurismática (HSAa). **Métodos:** Foram avaliados prospectivamente 82 pacientes adultos com diagnóstico de HSAa. Foram anotados em prontuário: a escala de coma de Glasgow (ECG), a escala de Hunt-Hess, a escala de Fisher, TC de crânio, angiografia cerebral e o exame neurológico diário. Foi determinada diariamente a PCR sérica, da admissão ao décimo dia. Foi utilizadas a escala de resultados de Glasgow e a escala de Rankin modificada (mRS) para avaliar o prognóstico. **Resultados:** Os níveis séricos de PCR estavam relacionados à severidade da HSAa. Pacientes com EGC baixos e altos graus pelas escalas de Hunt-Hess e Fisher tiveram níveis de PCR séricos estatisticamente elevados. Pacientes com altos níveis de PCR séricos tiveram prognóstico menos favorável. **Conclusões:** Aumentos dos níveis séricos da PCR foram fortemente associados com pior prognóstico clínico neste estudo.

Palavras-Chave: proteína C-reativa, hemorragia subaracnóidea, vasoespasmio, aneurisma intracraniano.

Cerebral vasospasm is the major cause of delayed morbidity and mortality following aneurysmal subarachnoid hemorrhage (aSAH). Despite recent advances in the management of patients with ruptured cerebral aneurysms, case fatality rates remain high (35 to 50%)¹⁻³. More than 40% of survivors experience long-term cognitive and functional limitations^{1,3-5}. Although approximately two-thirds of patients with aneurysmal SAH develop angiographic vasospasm, only half of this group will develop a delayed neurological deficit^{1,3,6-9}.

Experimental and clinical evidence suggests that intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) mediating leukocyte

migration may play a crucial role in the pathogenesis of cerebral vasospasm⁹⁻¹³. SAH increases endothelial ICAM-1 expression^{1,3-5,14,15} and the resultant perivascular leukocyte migration^{1,3-5,9,16,17}. Furthermore, serum ICAM-1 levels correlate with the onset of cerebral vasospasm^{1,3,6-9}. Perivascular chemokine-activated inflammatory cells synthesize and release endothelin-1, a potent vasoconstrictor, as well as superoxide free radicals, thus leading to inactivation of nitric oxide (NO) and vasoconstriction^{1,3,6-9,14,15}. Anti-ICAM-1 antibodies decrease leukocyte migration and attenuate cerebral vasospasm after SAH^{1,3,6-9}.

¹Neurosurgeon at Hospital Ipiranga, São Paulo SP, Brazil, and Hospital São Luiz, São Paulo SP, Brazil. Postgraduate student in Neurosurgery Division, University of São Paulo, São Paulo SP, Brazil;

²Neurosurgeon at Hospital Ipiranga/SUS, São Paulo SP, Brazil;

³Head of Neurovascular Group, Neurosurgery Division, Hospital das Clínicas, University of São Paulo Medical School, São Paulo SP, Brazil;

⁴Head of Neurosurgery Division, Hospital das Clínicas, University of São Paulo Medical School, São Paulo SP, Brazil.

Correspondence: Flávio Ramalho Romero; Rua Pascoal Vita 366 / ap. 94; 05445-000 São Paulo SP - Brasil; E-mail: frrromero@ig.com.br / romeroncr@gmail.com

Conflict of interest: There is no conflict of interest to declare.

Received 21 March 2011; Received in final form 29 August 2011; Accepted 06 September 2011

Identifying risk factors may improve clinical prediction and allow for more effective treatment of vasospasm. Measurement of sensitive inflammatory markers, such as C-reactive protein (CRP), significantly increases the ability to make accurate predictions and prevent or appropriately treat coronary thrombotic events^{8,18,19}. Previous clinical studies have shown that elevated levels of high-sensitivity CRP could predict the development of coronary vasospasm^{8,9}. Berk et al.⁸ found that elevated CRP was associated with increased risk of a subsequent myocardial infarction. Interest in inflammatory markers for cerebral vasospasm has increased, particularly when related to neurological outcomes.

In this study, we measured serum CRP levels in patients with aSAH and analyzed the relationships between systemic CRP levels and the severity of aSAH.

METHODS

Between May 2006 and May 2010, 82 adult patients were selected for a prospective cohort study at Hospital Ipiranga/SUS in São Paulo. The inclusion criteria were as follows: 1) diagnosis of aSAH and cerebral aneurysms established by a CT scan and four-vessel DS angiography study; 2) patient age >18 years; 3) patient admission to our institutions within the first 24 hours postictus. The exclusion criteria were concomitant or recent acute myocardial infarction, recent surgery (≤ 30 days) prior to the event, and/or clinical or laboratory evidence of chronic systemic infection. In addition, patients who died before completing 10 days of treatment were not included.

Patient demographics, clinical status on admission Glasgow Coma Scale (GCS) (GCS scores and Hunt and Hess grades), head CT scans, severity of the SAH blood clot load (Fisher grades), location of a ruptured aneurysm (standard four-vessel DS angiography) and neurological examinations on admission and daily thereafter were recorded. Surgical clipping was performed in 56 (68.2%) of the 82 patients for 70 (76.1%) of the 92 aneurysms, whereas endovascular treatment was used in 26 patients (31.7%) for 22 (23.9%) of the 92 aneurysms. The selection of surgical versus endovascular treatment was based on criteria, such as the anatomical location of the lesion, the size and morphological features of the aneurysm, the presence of multiple aneurysms, the presence of a mass effect caused by the aneurysm and/or an associated hematoma, and the patient's neurological and general medical condition and preference.

The serum CRP levels were measured daily between admission and the tenth day, and the measurements obtained were recorded. The patients' clinical outcome was evaluated using the Glasgow Outcome Scale (GOS) and modified Rankin Scale (mRS) at discharge from our institutions. This study was approved by the local Ethics Committee. Statistical analyses were performed using SAS version 9.1.3.

RESULTS

The admission GCS scores ranged from 3 to 15 (mean=12). Hunt and Hess scores on admission ranged from I to V (mean=2.5), and Fisher grades from 1 to 4 (mean=1.5). The GOS scores on discharge ranged from 2 to 5 (mean=4.0), and the range of mRS scores was from 0 to 5 (mean=1.3).

A progressive increase in CRP levels from admission to the third day post ictus was observed, followed by a slow decrease until the ninth day (Fig 1). Patients with lower GCS scores presented increased CRP measurements (correlation coefficient methodology; $z=-8.912$, $p<0.0001$, $r=-0.89$) (Fig 2). Low admission GCS scores were significantly inversely correlated with high serum CRP values. Likewise, patients with higher Hunt and Hess grades on admission developed significantly higher serum CRP levels (correlation coefficient methodology; $z=6.467$, $p<0.0001$, $r=0.82$). Similarly, patients with higher Fisher grades on admission showed increased levels of CRP (correlation coefficient methodology; $z=7.652$, $p<0.0001$, $r=0.86$).

There was no statistically significant difference in serum CRP levels between the group of patients undergoing surgical clipping and those undergoing endovascular coil occlusion. With regard to their GOS scores, patients with higher serum CRP levels (correlation coefficient methodology; $z=-6.181$, $p<0.0001$, $r=-0.81$) (Fig 3) presented less favorable outcomes. A statistically significant inverse correlation was

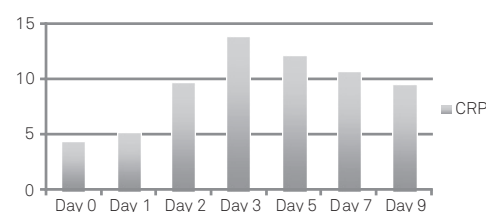


Fig 1. Schematic representation of summated measured serum CRP levels of our patients. CRP: C-reactive protein.

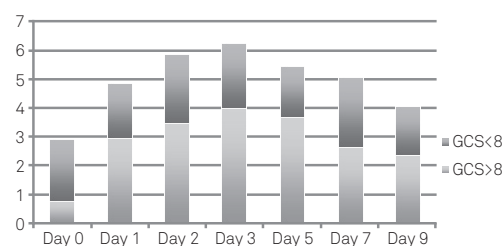


Fig 2. Schematic representation of serum CRP levels with regard to the GCS score at admission. CRP: C-reactive protein; GCS: Glasgow Coma Scale.

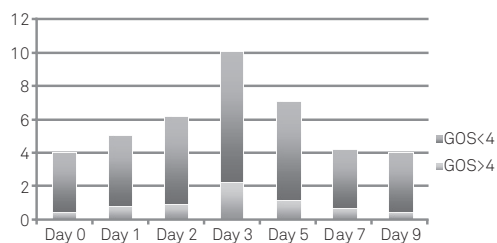


Fig 3. Schematic representation of serum CRP measurements in patients with GOS score ≥ 4 versus patients with GOS score < 4 at discharge. CRP: C-reactive protein; GOS: Glasgow Outcome Scale.

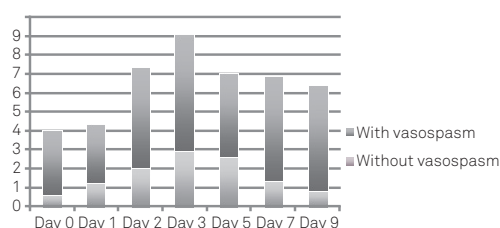


Fig 4. Schematic representation of serum C-reactive protein levels in patients with and without vasospasm.

established in our series between serum CRP levels and GOS scores. A similar statistically strong relationship was found between mRS scores on discharge and CRP measurements (correlation coefficient methodology; $z=6.762$, $p<0.0001$, $r=0.82$). Occurrences of vasospasm were significantly correlated with higher CRP levels (Fig 4).

DISCUSSION

Delayed cerebral vasospasm is associated with high rates of morbidity and mortality. Several inflammatory mechanisms are directly involved in the pathogenesis of cerebral vasospasm, with increased levels of various soluble adhesion molecules (such as E-selectin, intercellular adhesion molecule-1 and vascular adhesion molecule-1) and cytokines (such as IL-6 and IL-1) that have been detected in the plasma and CSF of patients with aSAH^{3,6-9}.

CRP is a sensitive inflammatory marker, with synthesis in hepatocytes. It is strongly stimulated by interleukin-6^{1-3,6,7,20-23}. Additionally, IL-1, which has been implicated in the pathogenesis of cerebral vasospasm, also provides a strong stimulus for CRP synthesis^{1,3-5}. Therefore, elevated CRP concentrations may well be associated with an

increased possibility of developing cerebral vasospasm and subsequently a delayed ischemic neurological deficit (DIND)^{1,3,24-29}.

There was a strong inverse correlation between admitting GCS scores and serum CRP levels on admission ($r=-0.89$ and $r=-0.82$, respectively). Hunt and Hess and Fisher grades were also correlated in a statistically significant fashion with the CRP measurements in our cohort. These data clearly indicate that CRP levels significantly correlate with the severity of aSAH and with occurrences of vasospasm. Furthermore, the elevated CRP levels were associated with worse clinical outcome, as expressed in GOS and mRS scores. Additionally, we found no statistically significant differences in occurrences of angiographic vasospasm between patients undergoing surgical treatment and those undergoing endovascular coil occlusion.

Our strict inclusion criteria minimized the influence of other confounding factors, such as systemic infection or concomitant systemic conditions, and hence the statistical analysis defining the influence of CRP levels on vasospasm occurrences and neurological final outcomes is compelling. Unfortunately, the clinical significance of elevated serum CRP measurements in patients with aSAH is confounded by the fact that most of these patients may have other concomitant systemic infections or pathological conditions that could potentially result in increased serum CRP concentrations. Additionally, the surgical manipulation in these patients could influence the systemic CRP levels.

It is well known that the clinical outcome among patients with aSAH depends on many factors. The systemic association between CRP levels and clinical outcomes may well be influenced by other parameters in a complex and frequently unpredictable way. In addition, CRP is a sensitive but nonspecific inflammatory marker. A large-scale, multicenter, prospective clinical study is necessary to validate our results and to determine the role of serum CRP in identifying patients who are at high risk of developing cerebral vasospasm.

In conclusion, this prospective clinical study demonstrated that the clinical and radiologic severity of aSAH correlated significantly with serum CRP levels, since patients with low GCS scores and high Hunt and Hess and Fisher grades presented elevated serum CRP levels. Additionally, CRP levels were able to predict occurrences of vasospasm and poor clinical outcomes in a statistically significant fashion. Routine use of CRP levels may identify patients who are at high risk of developing cerebral vasospasm and may have a positive impact on therapeutic strategies and the future management of patients with aSAH.

References

1. Bengzon J, Grubb A, Bune A, Heillström K, Lindström V, Brandt L. C-reactive protein levels following standard neurosurgical procedures. *Acta Neurochir (Wien)* 2003;145:667-671.
2. McGirt MJ, Garces Ambrossi GL, Huang J, Tamargo RJ. Simvastatin for the prevention of symptomatic cerebral vasospasm following aneurysmal subarachnoid hemorrhage: a single-institution prospective cohort study. *Neurosurgery* 2009;110:968-974.
3. Fountas KN, Tasiou A, Kapsalaki EZ, et al. Serum and cerebrospinal fluid C-reactive protein levels as predictors of vasospasm in aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Clinical article. Neurosurg Focus* 2009;26:22-31.
4. Kramer AH, Gurka MJ, Nathan B, Dumont AS, Kassell NF, Bleck TP. Statin use was not associated with less vasospasm or improved outcome after subarachnoid hemorrhage. *Neurosurgery* 2008;62:422-430.
5. Suzuki R, Masaoka H, Hirata Y, Marumo F, Isotani E, Hirakawa K. The role of endothelin-1 in the origin of cerebral vasospasm in patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg* 1992;77:96-100.
6. Vajkoczy P, Meyer B, Weidauer S, et al. Clazosentan (AXV-034343), a selective endothelin A receptor antagonist, in the prevention of cerebral vasospasm following severe aneurysmal subarachnoid hemorrhage: results of a randomized, double-blind, placebo-controlled, multicenter Phase IIa study. *J Neurosurg* 2005;103:9-17.
7. Goddard AJ, Raju PP, Gholkar A. Does the method of treatment of acutely ruptured intracranial aneurysms influence the incidence and duration of cerebral vasospasm and clinical outcome? *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2004;75:868-872.
8. Berk BC, Weintraub WS, Alexander RW. Elevation of C-reactive protein in "active" coronary artery disease. *Am J Cardiol* 1990;65:168-172.
9. Carr WP. The role of the laboratory in rheumatology. Acute-phase proteins. *Clin Rheum Dis* 1983;9:227-239.
10. Dumont AS, Dumont RJ, Chow MM, et al. Cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage: putative role of inflammation. *Neurosurgery* 2003;53:123-135.
11. Hansen-Schwartz J. Cerebral vasospasm: a consideration of the various cellular mechanisms involved in the pathophysiology. *Neurocrit Care* 2004;1:235-246.
12. Hergenroeder G, Redell JB, Moore AN, et al. Identification of serum biomarkers in brain-injured adults: potential for predicting elevated intra-cranial pressure. *J Neurotrauma* 2008;25:79-93.
13. Hoshi T, Shimizu T, Kito K, et al. Immunological study of late cerebral vasospasm in subarachnoid hemorrhage. Detection of immunoglobulins, C3, and fibrinogen in cerebral arterial walls by immunofluorescence method. *Neuro Med Chir (Tokyo)* 1984;24:647-654.
14. Mayberg MR, Batjer HH, Dacey RG Jr, et al. Guidelines for the management of aneurysmal subarachnoid hemorrhage. A statement for healthcare professionals from a special writing group of the Stroke Council, American Heart Association. *Stroke* 1994;25:2315-2328.
15. Kasuya H, Weir BK, Nakane M, et al. Nitric oxide synthase and guanylate cyclase levels in canine basilar artery after subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg* 1995;82:250-255.
16. Rothoerl RD, Schebesch KM, Kubitz M, Woertgen C, Brawanski A, Pina AL. ICAM-1 and VCAM-1 expression following aneurysmal subarachnoid hemorrhage and their possible role in the pathophysiology of subsequent ischemic deficits. *Cerebrovasc Dis* 2006;22:143-149.
17. Rankin J. Cerebral vascular accidents in patients over the age of 60. II. Prognosis. *Scott Med J* 1957;2:200-215.
18. Bonita R, Beaglehole R. Modification of Rankin Scale: recovery of motor function after stroke. *Stroke* 1988;19:1497-1500.
19. van Swieten JC, Koudstaal PJ, Visser MC, Schouten HJ, van Gijn J. Interobserver agreement for the assessment of handicap in stroke patient. *Stroke* 1988;19:604-607.
20. Lynch JR, Blessing R, White WD, Grocott HP, Newman MF, Laskowitz DT. Novel diagnostic test for acute stroke. *Stroke* 2004;35:57-63.
21. Suzuki H, Kanamaru K, Tsunoda H, et al. Heme oxygenase-1 gene induction as an intrinsic regulation against delayed cerebral vasospasm in rats. *J Clin Invest* 1999;104:59-66.
22. Pluta RM. Delayed cerebral vasospasm and nitric oxide: review, new hypothesis, and proposed treatment. *Pharmacol Ther* 2005;105:23-56.
23. Mazlam MZ, Hodgson HJ. Interrelations between interleukin-6, interleukin-1 beta, plasma C-reactive protein values, and in vitro C-reactive protein generation in patients with inflammatory bowel disease. *Gut* 1994;35:77-83.
24. Kassell NF, Sasaki T, Colohan ART, Nazar G. Cerebral vasospasm following aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Stroke* 1985;16:562-572.
25. Kasuya H, Weir BK, Nakane M, et al. Nitric oxide synthase and guanylate cyclase levels in canine basilar artery after subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg* 1995;82:250-255.
26. Hung MJ, Chergn WJ, Yang NI, Cheng CW, Li LF. Relation of high-sensitivity C-reactive protein level with coronary vasospastic angina pectoris in patients without hemodynamically significant coronary artery disease. *Am J Cardiol* 2005;96:1484-1490.
27. Deshmukh VR, Kakarla UK, Figueiredo EG, Zabramski JM, Spetzler RF. Long-term clinical and angiographic follow-up of unclippable wrapped intracranial aneurysms. *Neurosurgery* 2006;58:434-442.
28. Cecon AD, Figueiredo EG, Bor-Seng-Shu E, Scaff M, Teixeira MJ. Extremely delayed cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage. *Arq Neuropsiquiatr* 2008;66:554-556.
29. Foroni LH, Figueiredo EG, Teixeira MJ, Caldas JG, Leszczynski A, Rivau FR. Saccular aneurysms at middle basilar trunk fenestration. *Arq Neuropsiquiatr* 2010;68:309-311.

9.3. Apêndice C.

Arq Bras Neurocir 30(3): 116-9, 2011

Signaling pathways in cerebral vasospasm

Flávio Ramalho Romero¹, Eberval Gadelha Figueiredo², Manoel Jacobsen Teixeira²

São Paulo University, São Paulo, SP, Brazil.

ABSTRACT

Cerebral vasospasm is a deadly complication following the rupture of intracranial aneurysms. One new development in the experimental treatment of cerebral vasospasm is the looming target of signaling pathways. The pathogenesis of cerebral vasospasm involves multiple signaling pathways in proliferation, inflammation, cell death, smooth muscle phenotype changes, vascular remodeling, and contraction. A review of all of these areas is beyond the scope of this article, and as such, three systems that mediate these vascular responses have been selected: the tyrosine kinase-MAP kinase pathway, the sphingosine-1-Rho myosin light chain kinase pathway and protein kinase C.

KEYWORDS

Cerebral vasospasm, signaling pathways, protein kinase C.

RESUMO

Vias sinalizadoras em vasoespasmo cerebral

O vasoespasmo cerebral é a complicação mais grave após a ruptura de um aneurisma intracraniano. Um novo foco experimental de tratamento de vasoespasmo cerebral são as vias sinalizadoras. A patogênese do vasoespasmo cerebral envolve múltiplas vias de sinalização na proliferação, inflamação, morte celular, alterações fenotípicas da musculatura lisa, remodelamento vascular e contração. Uma revisão de todas essas áreas é o objetivo deste artigo, e três sistemas que comandam essa resposta vascular foram selecionados: a via da tirosina quinase-MAP quinase, a via esfingosina-1-Rho miosina quinase e a proteína quinase C.

PALAVRAS-CHAVE

Vasoespasmo cerebral, vias de sinalização, proteína quinase C.

Introduction

Cerebral vasospasm is a deadly complication following the rupture of intracranial aneurysms.^{4,19,23,28} The time course of cerebral vasospasm is unique in that it is slow developing, usually takes 4-7 days to peak, but lasts up to 2-3 weeks, and is resistant to most known vasodilators.^{4,23,27} These special features make cerebral vasospasm the most important determinant in the outcome of patients suffering subarachnoid hemorrhage. Vasospasm adversely affects 10% to 20% of patients with aneurysmal SAH.^{4,5,7,11,15,19} Although it is present on catheter angiograms in 40% to 70% of patients with SAH, only 20% to 30% will develop clinical vasospasm.^{11,15,27,28} Up to 15% of patients surviving the ictus of SAH experience stroke or death from vasospasm despite maximal

medical therapy, including hemodynamic therapy and nimodipine.^{4,7,27,28}

The available treatment strategies include mechanical dilation of spastic cerebral arteries (angioplasty) and non-selective vasodilatation such as by Ca²⁺ channel blockers.^{4,7,9,15,27,28} One new development in the experimental treatment of cerebral vasospasm is the looming target of signaling pathways. Understanding vasospastic signals in cerebral arteries might offer a new avenue for selective treatment of cerebral vasospasm in the future.

The pathogenesis of cerebral vasospasm involves multiple signaling pathways in proliferation, inflammation, cell death, smooth muscle phenotype changes, vascular remodeling, and contraction.^{20,22,24} A review of all of these areas is beyond the scope of this article, and as such, two systems that mediate these vascular

1. Neurosurgery Division of São Paulo University, São Paulo, SP, Brazil.

2. Neurosurgery Division of Hospital das Clínicas of Medical School of São Paulo University, São Paulo, SP, Brazil.

responses have been selected: the tyrosine kinase-MAP kinase pathway and the sphingosine-1-Rho myosin light chain kinase pathway. Papers related to endothelin, nitric oxide, free radicals and gene therapy are not included in this review.

Tyrosine kinase and mitogen-activated protein (MAP) kinase

MAP kinase has been suggested to be one of the most important signaling pathways involved in cerebral vasospasm based in part on the role of MAP kinase in cell differentiation, proliferation, contraction, death and remodeling.¹

MAP kinase is involved in the regulation of Ca^{2+} in cerebral smooth muscle cells and in the contraction of cerebral arteries.^{1,2,10} Blood clot components including hemoglobin and vasoactive agents released from the vessel wall such as endothelin-1 enhance MAP kinase expression and activity in cerebral arteries. Free radicals activate MAP kinase in vascular smooth muscle cells. MAP kinase inhibitors were reported to decrease MAP kinase expression in vasospastic arteries and to reduce the degree of cerebral vasospasm in animal models.¹ A recent study¹ demonstrated that antisense oligodeoxynucleotides to MAP kinase abolished MAP kinase activity and phosphorylated MAP kinase and reduce vasospasm in a rat model of subarachnoid hemorrhage.^{1,10}

Because MAP kinase is a substrate of tyrosine kinase, the possible role of tyrosine kinase as an upstream modulator of MAP kinase in cerebral vasospasm needs to be addressed.⁶ Tyrosine kinase regulates intracellular Ca^{2+} and smooth muscle contraction induced by spasmogens including blood clot components and vasoactive agents.^{1,6,24} Tyrosine kinase is involved in the compaction of fibroblasts. Some G-protein coupled receptor agonist and growth factors activate tyrosine kinase. The level of these G-protein receptor agonist such as adenosine triphosphate and endothelins, growth factors, and their receptors are increased in cerebrospinal fluid or in cerebral arteries.¹ Tyrosine activation phosphorylates other substrates such as Ras protein and phosphatidylinositol-3 kinase tyrosine kinase. Ras is increased after spasmogen stimulation, and phosphatidylinositol-3 kinase is enhanced after vasospasm in animals. The tyrosine kinase inhibitors sumarin but not phosphatidylinositol-3-kinase inhibitors reduced vasospasm in animal models.^{1, 16-18,24}

Overall, MAP kinase and particularly the extracellular regulated kinase (ERK) system is involved in proliferation, differentiation, and contraction of cerebral arteries after subarachnoid hemorrhage.

Sphingosine-1 and Rho/myosin light chain kinase

Sphingosine-1-phosphate (S1P) is a bioactive sphingolipid metabolite that is known to mediate diverse cellular responses including cell growth, survival, and migration.^{2,24} Most of these effects have been attributed to its binding to a specific subfamily of G protein-coupled receptors (GPCR), namely S1P. Recent studies have suggested that S1P also plays a prominent role in the contraction of various types of smooth muscle. This review provides a brief overview of its role in this process and also highlights how S1P-dependent signaling serves as an important regulator of smooth muscle contraction.^{2,24}

Sphingosine 1-phosphate (S1P) is stored in platelets and released on their activation. Similar to MAP kinase, many stimuli such as growth factors, cytokines, G-protein coupled receptors coupled receptor agonist, and antigens have been shown to increase sphingosine kinase activity and S1P formation in different cell types, including smooth muscle cells. Indeed, S1P has been implicated in the regulation of several important cellular processes, such as proliferation, differentiation, apoptosis and migration in these cells.^{2,24}

Sphingosylphosphorylcholine (SPC), a sphingolipid, is a novel messenger for Rho kinase-mediated Ca^{2+} sensitization in the bovine cerebral artery but not for protein kinase C. Rho and Rho kinase are believed to play roles in smooth muscle contraction and cytoskeleton reorganization. Rho kinase, which is activated by the small guanosine triphosphatase. Rho, phosphorylates not only myosin light chain but also myosin phosphatase at its myosin binding subunit, thus inactivating myosin phosphatase.^{2,24}

Protein kinase C

Twenty-five years after the discovery of protein kinase C (PKC), the physiologic function of PKC, and especially its role in pathologic conditions, remains a subject of great interest. In the cerebral circulation, PKC plays a role in the regulation of myogenic tone by sensitization of myofilaments to calcium. Protein kinase C phosphorylates various ion channels including augmenting voltage-dependent Ca^{2+} channels and inhibiting K^{+} channels, which both lead to vessel contraction. These actions of PKC amplify vascular reactivity to different agonists and may be critical in the regulation of cerebral artery tone during vasospasm.^{8,18,24}

Evidence accumulated during at least the last decade suggests that activation of PKC in cerebral vasospasm

results in a delayed but prolonged contraction of major arteries after subarachnoid hemorrhage. Most of the experimental results in vitro or in animal models support the view that PKC is involved in cerebral vasospasm. Implication of PKC in cerebral vasospasm helps explain increased arterial narrowing at the signal transduction level and alters current perceptions that the pathophysiology is caused by a combination of multiple receptor activation, hemoglobin toxicity, and damaged neurogenic control.^{8,18,21,24,25}

Activation of protein kinase C also interacts with other signaling pathways such as myosin light chain kinase, nitric oxide, intracellular Ca^{2+} , protein tyrosine kinase, and its substrates such as mitogen-activated protein kinase. Even though identifying PKC revolutionized the understanding of cerebral vasospasm, clinical advances are hampered by the lack of clinical trials using selective PKC inhibitors.^{2,7,10,13,18}

PKC may be involved in the initial contraction but not late stages contraction (vasospasm) in animal models. Degradation of the thin filament associated protein calponin in spastic arteries in an animal model has been reported. HA1077, an inhibitor of protein kinases, including Rho kinase and myosin light chain kinase, reduced vasospasm and calponin degradation in this model.^{2,18,24}

Others signaling pathways

Other signaling pathways that may be involved in the vasospasm include those activated by or involved in the contraction of cerebral arteries related to endothelin,^{3,8} nitric oxide synthase,^{13,17,26} bilirubin,¹⁴ matrix metalloproteinases,^{3,8,14} adhesion molecules,⁸ protein C,^{8,14,25} cyclic adenosine monophosphate/phosphodiesterase,^{12,8} cyclic guanosine monophosphate,⁸ parathyroid hormone,⁸ erythropoietin and nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase.⁸

Conclusion

The pathogenesis of cerebral vasospasm involves multiple signaling pathways in proliferation, inflammation, cell death, smooth muscle phenotype changes, vascular remodeling, and contraction. Understanding vasospastic signals in cerebral arteries might offer a new avenue for selective treatment of cerebral vasospasm in the future. Additional research is required to clarify the roles of these pathways and agents in vasospasm.

References

1. Adam LP, Hathaway DR. Identification of mitogen-activated protein kinase phosphorylation sequences in mammalian h-caldesmon. *FEBS Lett.* 1993;322(1):56-60.
2. Bulter WE, Peterson JW, Zervas NT, Morgan KG. Intracellular calcium, myosin light chain phosphorylation, and contractile force in experimental cerebral vasospasm. *Neurosurgery.* 1993;38(4):781-7.
3. Cook DA, Vollrath B. Free radicals and intracellular events associated with cerebrovascular spasm. *Cardiovasc Res.* 1995;30(4):493-500.
4. Dankbaar JW, Rijdsdijk M, Van der Schaaf IC, Velthuis BK, Wermer MJ, Rinkel GJ. Relationship between vasospasm, cerebral perfusion, and delayed cerebral ischemia after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Neuroradiology.* 2009;51(12):813-9.
5. Dehdashti AR, Mermillod B, Rufenacht DA, Reverdin A, De Tribolet N. Does treatment modality of intracranial ruptured aneurysms influence the incidence of cerebral vasospasm and clinical outcome? *Cerebrovasc Dis.* 2004;17(1):53-60.
6. Di Salvo J, Steusloff A, Semenchuk L, Satoh S, Kolquist K, Pfitzer G. Tyrosine kinase inhibitors suppress agonist-induced contraction in smooth muscle. *Biochem Biophys Res Commun.* 1993;15;190(3):968-74.
7. Dorsch NW. Cerebral arterial spasm – a clinical review. *Br J Neurosurg.* 1995;9(3):403-12.
8. Dumont AS, Dumont RJ, Chow MM, Lin CL, Calisaneller T, Ley KF, et al. Cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage: putative role of inflammation. *Neurosurgery.* 2003;53(1):123-33.
9. Fassbender K, Hodapp B, Rossol S, Bertsch T, Schmeck J, Schütt S, et al. Inflammatory cytokines in subarachnoid haemorrhage: association with abnormal blood flow velocities in basal cerebral arteries. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2001;70(4):534-7.
10. Feigin VL, Rinkel GJ, Algra A, Vermeulen M, Van Gijn J. Calcium antagonists in patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage: a systematic review. *Neurology.* 1998;50(4):876-83.
11. Frontera JA, Fernandez A, Schmidt JM, Claassen J, Wartenberg KE, Badjatia N, et al. Defining vasospasm after subarachnoid hemorrhage: what is the most clinically relevant definition? *Stroke.* 2009;40(6):1963-8.
12. Hijdra A, Van Gijn J, Nagelkerke NJ, Vermeulen M, Van Crevel H. Prediction of delayed cerebral ischemia, rebleeding, and outcome after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Stroke.* 1988;19(10):1250-6.
13. Hino A, Tokuyama Y, Weir B, Takeda J, Yano H, Bell GI, et al. Changes in endothelial nitric oxide synthase mRNA during vasospasm after subarachnoid hemorrhage in monkeys. *Neurosurgery.* 1996;39(3):562-7.
14. Horowitz A, Menice CB, Laporte R, Morgan KG. Mechanisms of smooth muscle contraction. *Physiol Rev.* 1996;76(4):967-1003.
15. Keyrouz SG, Diringner MN. Clinical review: prevention and therapy of vasospasm in subarachnoid hemorrhage. *Crit Care.* 2007;11(4):220.
16. Khurana VG, Besser M. Pathophysiological basis of cerebral vasospasm following aneurysmal subarachnoid haemorrhage. *J Clin Neurosci.* 1997;4(2):122-31.
17. Khurana VG, Sohni YR, Mangrum WI, McClelland RL, O'Kane DJ, Meyer FB, et al. Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms predict susceptibility to aneurysmal subarachnoid hemorrhage and cerebral vasospasm. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2004;24(3):291-7.

18. Laher I, Zhang JH. Protein kinase C and cerebral vasospasm. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2001;21(8):887-906.
19. Lysakowski C, Walder B, Costanza MC, Tramèr MR. Transcranial Doppler versus angiography in patients with vasospasm due to a ruptured cerebral aneurysm: a systematic review. *Stroke.* 2001;32(10):2292-8.
20. Macdonald RL. Pathophysiology and molecular genetics of vasospasm. *Acta Neurochir Suppl.* 2001;77:7-11.
21. Macdonald RL, Kassell NF, Mayer S, Ruefenacht D, Schmiedek P, Weidauer S, et al. CONSCIOUS-1 Investigators. Clazosentan to overcome neurological ischemia and infarction occurring after subarachnoid hemorrhage (CONSCIOUS-1): randomized, double-blind, placebo-controlled phase 2 dose-finding trial. *Stroke.* 2008;39(11):3015-21.
22. Macdonald RL, Weir BK. A review of hemoglobin and the pathogenesis of cerebral vasospasm. *Stroke.* 1992;23(8):971-82.
23. Neil-Dwyer G, Lang DA, Doshi B, Gerber CJ, Smith PW. Delayed cerebral ischaemia: the pathological substrate. *Acta Neurochir (Wien).* 1994;131(1-2):137-45.
24. Nishizawa S, Laher I. Signaling mechanisms in cerebral vasospasm. *Trend Cardiovasc Med.* 2005;15(1):24-34.
25. Ohkuma H, Suzuki S, Kimura M, Sobata E. Role of platelet function in symptomatic cerebral vasospasm following aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Stroke.* 1992;23(7):854-9.
26. Pluta RM. Delayed cerebral vasospasm and nitric oxide: review, new hypothesis, and proposed treatment. *Pharmacol Ther.* 2005;105(1):23-56.
27. Roos YB, Levi M, Carroll TA, Beenen LF, Vermeulen M. Nimodipine increases fibrinolytic activity in patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Stroke.* 2001;32(8):1860-2.
28. Weir B, MacDonald L. Cerebral vasospasm. *Clin Neurosurg.* 1993;40:40-55.

Endereço para correspondência

Flávio Ramalho Romero
 Rua Pascoal Vita, 366, ap. 94, Vila Madalena
 05445-000 – São Paulo, SP, Brasil
 Telefones: (11) 3459-4416/(11) 9714-7720
 E-mails: ffromero@ig.com.br/romeroncr@gmail.com

9.4. Apêndice D. Dados demográficos, exame neurológico na admissão, achados pós operatórios e dados prognósticos na alta hospitalar.

Caso	Id(a), Gênero	GCS	HH	Fisher	VC (DTC)	GOS	mRS
1	53, F	14	III	1	+	5	0
2	47, M	15	I	2	-	4	1
3	60, F	11	III	3	+	4	2
4	37, M	14	III	2	+	5	0
5	39, M	13	I	2	+	5	0
6	45, F	15	I	1	-	5	1
7	51, M	9	IV	4	+	3	4
8	62, F	13	III	3	+	5	0
9	44, M	15	I	2	-	4	1
10	59, F	12	III	3	+	4	2
11	62, F	15	II	1	-	5	0
12	40, M	8	IV	3	+	4	2
13	53, F	14	III	1	-	5	0
14	35, M	15	I	3	-	5	0
15	58, F	9	III	1	+	4	2
16	55, M	15	II	1	-	4	2
17	46, F	13	III	2	+	5	0
18	45, M	15	I	1	+	5	0
19	40, M	15	I	1	+	5	0
20	57, F	12	III	1	-	5	0
21	61, M	7	IV	2	-	4	2
22	65, M	15	I	1	+	5	0
23	59, F	8	IV	3	-	3	4
24	60, F	14	III	1	+	5	0
25	45, F	13	III	1	-	5	1
26	39, M	12	III	2	+	4	2
27	42, M	6	V	4	-	3	3
28	34, F	8	IV	3	+	3	4
29	61, F	15	I	1	-	5	0
30	54, M	7	III	3	+	4	2
31	46, F	4	V	3	+	2	5
32	58, M	15	I	1	-	5	0
33	47, F	13	III	2	+	5	0
34	38, M	12	III	2	+	5	0
35	41, F	5	V	3	-	2	5
36	36, M	15	I	1	-	5	0
37	45, F	11	III	3	+	4	2
38	54, M	14	III	2	-	5	0
39	38, M	10	IV	3	-	5	1
40	44, F	9	III	3	+	5	0
41	60, M	14	III	1	-	5	0
42	43, F	9	IV	3	+	3	4
43	56, M	15	I	2	+	5	0
44	35, M	13	III	3	-	5	0
45	41, M	6	IV	1	+	4	2
46	39, F	15	I	1	+	5	0
47	48, M	8	IV	4	+	4	2
48	53, M	15	I	1	+	5	0
49	42, M	15	I	4	+	5	0
50	65, M	15	II	1	-	5	0
51	30, F	12	III	3	+	4	2
52	34, M	15	I	2	-	4	2
53	32, M	14	III	1	+	5	0
54	58, F	15	I	3	-	5	0

55	32, M	14	II	2	-	5	0
56	56, F	9	III	2	+	4	2
57	61, F	12	III	3	+	4	2
58	41, M	14	III	1	+	5	1
59	45, F	15	I	3	+	5	0
60	63, F	15	I	1	+	5	0
61	59, F	15	I	2	-	5	0
62	55, M	7	IV	4	+	4	2
63	65, M	15	I	3	+	5	0
64	60, M	8	IV	3	+	3	4
65	65, M	14	III	3	-	5	1
66	37, M	15	III	2	-	5	0
67	47, F	12	III	1	+	4	2
68	32, M	8	IV	3	-	3	4
69	44, M	6	IV	4	+	3	4
70	64, F	13	III	1	-	5	0
71	43, M	13	III	3	-	5	0
72	59, M	14	III	1	+	5	0
73	53, M	15	I	2	-	5	0
74	44, F	14	III	3	+	5	0
75	37, F	12	III	4	+	5	0
76	46, F	5	V	4	+	2	5
77	64, M	15	I	2	-	5	0
78	52, F	11	III	3	+	4	2
79	45, M	7	IV	3	+	4	2
80	62, M	9	IV	3	-	3	4
81	45, M	4	V	4	+	2	5
82	36, F	10	III	3	-	5	0
83	34, M	15	II	3	+	5	0
84	56, M	15	I	1	-	4	1
85	59, F	9	III	3	+	4	2
86	65, M	12	III	2	+	5	0
87	39, F	15	I	1	+	4	1
88	45, M	15	I	1	-	5	0
89	52, F	6	IV	4	+	3	4
90	62, M	13	III	3	-	5	0
91	47, M	15	I	1	-	5	0
92	58, F	12	III	3	+	4	2
93	61, M	15	II	1	-	5	0
94	30, M	8	IV	3	+	3	4
95	48, F	15	II	3	-	5	0
96	45, F	15	I	1	-	5	0
97	58, M	9	III	3	+	4	2
98	65, F	15	II	1	-	4	2
99	46, M	12	III	2	+	5	1
100	55, F	15	I	1	-	5	0