

**UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE
DOUTORADO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

CARLA DAMASIO MARTINS

**ESTUDO DA RESPOSTA OXIDATIVA E INFLAMATÓRIA DO ÓLEO
DE ESPECTRO COMPLETO RICO EM CANABIDIOL À PNEUMONIA
PÓS-ACIDENTE VASCULAR CEREBRAL ISQUÊMICO
EXPERIMENTAL**

CRICIÚMA

2025

CARLA DAMASIO MARTINS

**ESTUDO DA RESPOSTA OXIDATIVA E INFLAMATÓRIA DO ÓLEO
DE ESPECTRO COMPLETO RICO EM CANABIDIOL À PNEUMONIA
PÓS-ACIDENTE VASCULAR CEREBRAL ISQUÊMICO
EXPERIMENTAL**

Projeto de Tese de Doutorado apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde
para obtenção do título de Doutor em Ciências da
Saúde.

Orientador: Profa. Dra. Fabricia Petronilho

CRICIÚMA

2025

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

M386e Martins, Carla Damasio.

Estudo da resposta oxidativa e inflamatória do óleo de espectro completo rico em canabidiol à pneumonia pós-acidente vascular cerebral isquêmico experimental / Carla Damasio Martins. - 2025.

92 p. : il.

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

Orientação: Fabricia Petronilho.

1. Canabidiol - Uso terapêutico. 2. AVC isquêmico. 3. Pneumonia. 4. Inflamação. 5. Estresse oxidativo. I. Título.

CDD 23. ed. 615.7827



UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE – UNESC
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA, PÓS-GRADUAÇÃO, INOVAÇÃO E EXTENSÃO
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO STRICTO SENSU
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde (Mestrado e Doutorado)
Recomendado pela CAPES – Homologado pelo CNE – Portaria N° 609 de 14.03.2019

PARECER

No dia 16 (dezesseis) do mês de dezembro do ano de dois mil e vinte e cinco, às 13 (treze) horas e 30 (trinta) minutos, no Bloco S/Sala 227, após o cumprimento legal de conclusão das disciplinas do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde (Mestrado e Doutorado), realizaram-se a apresentação e a consequente defesa da tese intitulada: “ESTUDO DA RESPOSTA OXIDATIVA E INFLAMATÓRIA DO ÓLEO DE ESPECTRO COMPLETO RICO EM CANABIDIOL À PNEUMONIA PÓS-ACIDENTE VASCULAR CEREBRAL ISQUÊMICO EXPERIMENTAL”, da candidata Carla Damasio Martins. A Banca examinadora foi composta pelos(as) professores(as): Dra. Jaqueline da Silva Generoso (Membro Relator – UNESC), Dra. Alexandra Ioppi Zugno (Membro Interno – UNESC), Dra. Vanessa Iribarrem Avena Miranda (Membro Externo – UNESC) e Dr. Rafael Mariano de Bitencourt (Membro Externo – UNISUL). Após a apresentação, a candidata foi arguida pela Banca Examinadora, que assim expressou o resultado final da tese:

Trabalho aprovado

Trabalho não aprovado

Observações:

Criciúma, SC, 16 de dezembro de 2025.

Documento assinado digitalmente
gov.br JAQUELINE DA SILVA GENEROSO
Data: 01/04/2025 14:44:43 -0300
Verifique em <https://val.dar.br.gov.br>

Profa. Dra. JAQUELINE DA SILVA GENEROSO
Membro Relator – UNESC

Documento assinado digitalmente
gov.br ALEXANDRA IOPPI ZUGNO
Data: 04/02/2025 14:58:58 -0300
Verifique em <https://val.dar.br.gov.br>

Profa. Dra. ALEXANDRA IOPPI ZUGNO
Membro Interno – UNESC

Documento assinado digitalmente
gov.br VANESSA IRIBARREM AVENA MIRANDA
Data: 05/02/2025 13:14:22 -0300
Verifique em <https://val.dar.br.gov.br>

Profa. Dra. VANESSA IRIBARREM AVENA MIRANDA
Membro Externo – UNESC

Documento assinado digitalmente
gov.br RAFAEL MARIANO DE BITENCOURT
Data: 04/02/2025 16:51:33 -0300
Verifique em <https://val.dar.br.gov.br>

Prof. Dr. RAFAEL MARIANO DE BITENCOURT
Membro Externo – UNISUL

Documento assinado digitalmente
gov.br FABRICIA CARDOSO PETRONILHO
Data: 01/04/2025 13:33:06 -0300
Verifique em <https://val.dar.br.gov.br>

Profa. Dra. FABRICIA CARDOSO PETRONILHO
Orientador(a)

Documento assinado digitalmente
gov.br JOSIANE BUDNI
Data: 05/02/2025 13:08:43 -0300
Verifique em <https://val.dar.br.gov.br>

Profa. Dra. JOSIANE BUDNI
Coordenadora Titular do PPGCS

FOLHA INFORMATIVA

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

A quem esteve ao meu lado em cada passo desta jornada.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus, por me sustentar com força, resiliência e esperança ao longo de toda esta trajetória. Sua presença guiou meus passos e me deu serenidade para enfrentar cada desafio.

À minha família, expresso minha profunda gratidão pelo apoio incondicional em todas as etapas deste processo. Obrigada por acreditarem em mim, por me manterem confiante e por oferecerem acolhimento nos momentos mais difíceis. Sem vocês, não teria sido possível chegar até aqui.

Ao meu companheiro, Carlos, e à minha filha, Helena, deixo um agradecimento especial. Vocês foram fundamentais para que eu me mantivesse firme, motivada e capaz de seguir adiante. Carlos, obrigada pelo incentivo constante, pelo apoio, e por todos os momentos de cuidado e aconchego, que tornaram esta jornada mais leve. Helena, sua luz e alegria renovam diariamente minhas forças e dão sentido a cada conquista. A caminhada ao lado de vocês se tornou mais plena e significativa.

À minha orientadora, Fabricia, registro minha profunda admiração e gratidão. Seu suporte contínuo, seu acolhimento e sua confiança foram essenciais para o desenvolvimento deste trabalho e da minha trajetória no doutorado. Sou profundamente grata por cada orientação, cada conselho, pela paciência e pelo compromisso e contribuir para a minha formação acadêmica e científica. Sem sua dedicação, este percurso não teria sido alcançado.

Aos colegas do Laboratório de Neurologia Experimental, deixo meu agradecimento pela convivência, parceria e aprendizado mútuo. Conhecê-los e construir este caminho ao lado de vocês foi um imenso prazer.

Aos integrantes do Grupo de Pesquisa de Doenças Cerebrovasculares (DCEV), agradeço pela colaboração, debates enriquecedores e companheirismo. Tenho certeza de que as amizades construídas aqui seguirão comigo para além do ambiente acadêmico. Levarei comigo não apenas o conhecimento compartilhado, mas também as amizades e experiências que tornaram este período tão especial.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para que esta etapa fosse concluída, deixo meu sincero agradecimento. Cada gesto, palavra e presença fez diferença no meu percurso e será lembrado com gratidão.

“O começo de todas as ciências é o espanto de as coisas serem o que são”.

Aristóteles

RESUMO

O acidente vascular cerebral isquêmico (AVCi) é uma das principais causas de morbidade e mortalidade no mundo, frequentemente agravado por complicações infecciosas, como a pneumonia. Essas comorbidades intensificam a resposta inflamatória e o estresse oxidativo, contribuindo para o agravamento funcional e o aumento das sequelas neurológicas. Entre as estratégias terapêuticas alternativas, o óleo de espectro completo rico em canabidiol (FSC) tem sido descrito por suas propriedades anti-inflamatórias e antioxidantes em modelos de neuroinflamação. Assim, neste estudo avaliou-se o potencial terapêutico do FSC sobre parâmetros comportamentais, inflamatórios e oxidativos em um modelo experimental de AVCi associado à pneumonia em ratos Wistar. Os animais foram submetidos à oclusão da artéria cerebral média (MCAO) por 60 minutos, seguidos de 3 dias de reperfusão, e posteriormente à inoculação pulmonar com *Klebsiella pneumoniae*. Os grupos experimentais receberam FSC (via oral) nos tempos 3 h, 24 h, 48 h e 72 h após a MCAO. Foram avaliados escore neurológico, variação de peso e temperatura corporal, além de marcadores inflamatórios (TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-10) e oxidativos (TBARS, MPO, nitrito/nitrato, grupos sulfidrilas e catalase) no tecido cerebral (hipocampo e córtex frontal) e periférico (pulmão). Os resultados demonstraram que a pneumonia pós-AVCi exacerbou a resposta inflamatória e estresse oxidativo, evidenciada pelo aumento de MPO, nitrito/nitrato, TBARS, IL-1 β , TNF e IL-6 no hipocampo e no pulmão. O tratamento com óleo FSC atenuou déficits neurológicos, reduziu citocinas pró-inflamatórias e marcadores oxidativos, aumentou a atividade de catalase e preservou grupos sulfidrilas, com maior impacto no hipocampo e no tecido pulmonar. Contudo, o FSC não restaurou plenamente os níveis de IL-10. Esses achados indicam o potencial terapêutico do FSC como intervenção adjuvante para mitigar sequelas sistêmicas e neurológicas pós-AVCi associado à pneumonia.

Palavras-chave: AVC isquêmico, pneumonia, canabidiol, inflamação, estresse oxidativo.

ABSTRACT

Ischemic stroke (ISC) is one of the leading causes of morbidity and mortality worldwide, often worsened by infectious complications such as pneumonia. These comorbidities intensify inflammatory responses and oxidative stress, contributing to functional deterioration and increased neurological sequelae. Among alternative therapeutic strategies, full-spectrum cannabidiol-rich oil (FSC) has been described for its anti-inflammatory and antioxidant properties in neuroinflammation models. Thus, this study evaluated the therapeutic potential of FSC on behavioral, inflammatory, and oxidative parameters in an experimental model of ISC associated with pneumonia in Wistar rats. Animals were subjected to middle cerebral artery occlusion (MCAO) for 60 minutes, followed by 3 days of reperfusion, and subsequently to pulmonary inoculation with *Klebsiella pneumoniae*. Experimental groups received FSC (orally) at 3 h, 24 h, 48 h, and 72 h after MCAO. Neurological score, changes in body weight and temperature were assessed, along with inflammatory markers (TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-10) and oxidative markers (TBARS, MPO, nitrite/nitrate, sulfhydryl groups, and catalase) in brain tissue (hippocampus and frontal cortex) and peripheral tissue (lung). Results demonstrated that post-stroke pneumonia exacerbated the inflammatory response and oxidative stress, as evidenced by increased MPO, nitrite/nitrate, TBARS, IL-1 β , TNF, and IL-6 levels in the hippocampus and lung. Treatment with FSC oil attenuated neurological deficits, reduced pro-inflammatory cytokines and oxidative markers, increased catalase activity, and preserved sulfhydryl groups, with greater impact in the hippocampus and lung tissue. However, FSC did not fully restore IL-10 levels. These findings indicate the therapeutic potential of FSC as an adjuvant intervention to mitigate systemic and neurological sequelae following ischemic stroke associated with pneumonia.

Keywords: Ischemic stroke, pneumonia, cannabidiol, inflammation, oxidative stress.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Esquema representativo do modelo experimental de AVCi por MCAO.....	32
Figura 2: Ilustração dos principais vasos do pescoço do rato.....	34
Figura 3 - Desenho experimental.....	36
Figura 4. Score neurológico.....	42
Figura 5. Variação do peso corporal.....	43
Figura 6. Temperatura corporal.....	44
Figura 7. (A) Comprimento do baço (cm) e (B) área esplênica (cm ²).....	45
Figura 8. Atividade de mieloperoxidase.....	47
Figura 9. Concentração de nitrito/nitrato nos tecidos.....	49
Figura 10. Níveis de MDA.....	51
Figura 11. Níveis de grupos sulfidrilas.....	52
Figura 12. Atividade da enzima catalase.....	54
Figura 13. Níveis de IL-1 β	56
Figura 14. Níveis de TNF.....	57
Figura 15. Níveis de IL-6.....	59
Figura 16. Níveis de IL-10.....	61

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACC – Artéria Carótida Comum

ACA – Artéria Cerebral Anterior

ACE – Artéria Carótida Externa

ACI – Artéria Carótida Interna

ACM – Artéria Cerebral Média

AVC – Acidente Vascular Cerebral

AVCi – Acidente Vascular Cerebral Isquêmico

AVCh – Acidente Vascular Cerebral Hemorrágico

BHE – Barreira Hematoencefálica

CBD – Canabidiol (do inglês, *Cannabidiol*)

CAT – Catalase

CB1R – Receptor Canabinoide Tipo 1 (do inglês, *Cannabinoid Receptor Type 1*)

CB2R – Receptor Canabinoide Tipo 2 (do inglês, *Cannabinoid Receptor Type 2*)

CFMV – Conselho Federal de Medicina Veterinária

CV – Clipe Vascular

DAMPs – Padrões Moleculares Associados a Dano (do inglês, *Damage-Associated Molecular Patterns*)

ERO – Espécie Reativa de Oxigênio

ERN – Espécie Reativa de Nitrogênio

FSC – Óleo de Espectro Completo Rico em Canabidiol (*Full Spectrum Cannabis Extract*)

GPx – Glutathione Peroxidase

H&E – Hematoxilina e Eosina

HI – Hipóxia-Isquemia

HMGB1 – Proteína de Grupo de Alta Mobilidade 1 (do inglês, *High Mobility Group Box 1 Protein*)

IL – Interleucina

i.p. – Intraperitoneal

MCAO – Oclusão da Artéria Cerebral Média (do inglês, *Middle Cerebral Artery Occlusion*)

MDA – Malondialdeído

MIA – Morte Indolor e Assistida

MPO – Mieloperoxidase

NF- κ B – Fator Nuclear Kappa B (do inglês, *Nuclear Factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells*)

NN – Nitrito/Nitrato

NO – Óxido Nítrico

nAChR α 7 – Receptor Nicotínico da Acetilcolina α 7 (do inglês, *Nicotinic Acetylcholine Receptor α 7*)

PPAR – Receptor Ativado por Proliferador de Peroxissoma (do inglês, *Peroxisome Proliferator-Activated Receptor*)

ROS – Espécies Reativas de Oxigênio (do inglês, *Reactive Oxygen Species*)

SEC – Sistema Endocanabinoide

SNC – Sistema Nervoso Central

SOD – Superóxido Dismutase

TNF – Fator de Necrose Tumoral (do inglês, *Tumor Necrosis Factor*)

UTI – Unidade de Terapia Intensiva

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	14
1.1 DEFINIÇÃO E ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS DO AVCi.....	14
1.2 FISIOPATOLOGIA DO AVCi.....	15
1.3 MECANISMOS DE ESTRESSE OXIDATIVO NO AVCi.....	16
1.4 NEUROINFLAMAÇÃO E IMUNOSSUPRESSÃO APÓS AVCi.....	19
1.4.1 Infecções pós-AVCi.....	22
1.4.2 Sistema Endocanabinoide.....	24
1.4.3 Utilização de fitocanabinoides na terapia pós AVCi.....	25
2. OBJETIVOS.....	29
2.1 OBJETIVO GERAL.....	29
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	29
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	30
3.1 TIPO DE ESTUDO.....	30
3.2 MATERIAIS E EQUIPAMENTOS.....	30
3.3 ANIMAIS.....	31
3.3.1 Grupos experimentais.....	32
3.4 MODELO EXPERIMENTAL DE ACIDENTE VASCULAR CEREBRAL ISQUÊMICO.....	32
3.5 MODELO EXPERIMENTAL PNEUMONIA.....	35
3.6 TRATAMENTO.....	35
3.7 DELINEAMENTO DO ESTUDO.....	36
3.7.1 Monitoramento.....	36
3.8 ENSAIOS/TESTES/TÉCNICAS.....	36
3.8.1 Score de avaliação de déficit neurológico.....	36
3.8.2 Controle de massa corporal e temperatura corpórea.....	37
3.8.3 Tamanho do baço.....	37
3.8.4 Avaliação de parâmetros de estresse oxidativo.....	38
3.8.4.1 Atividade da Mieloperoxidase (MPO).....	38
3.8.4.2 Determinação da concentração de Nitrito/Nitrato (N/N).....	38
3.8.4.3 Avaliação de substâncias reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS).....	38

3.8.4.4 Medidas do dano oxidativo em proteínas do grupo sulfidrila.....	39
3.8.4.5 Determinação da atividade da enzima antioxidante catalase (CAT).....	39
3.8.5 Avaliação dos níveis de citocinas.....	39
3.9 PROCESSAMENTO E ANÁLISE DOS DADOS.....	40
3.10 ASPECTOS ÉTICOS DA PESQUISA.....	40
4. RESULTADOS.....	41
5. DISCUSSÃO.....	62
6. CONCLUSÃO.....	72
REFERÊNCIAS.....	73
ANEXOS.....	87

1. INTRODUÇÃO

1.1 DEFINIÇÃO E ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS DO AVCI

O acidente vascular cerebral (AVC), também denominado acidente vascular encefálico (TURNER et al., 2021) ou derrame cerebral (SAINI; GUADA; YAVAGAL, 2021a), consiste na morte abrupta de células cerebrais decorrente da interrupção do suprimento de oxigênio ao cérebro, ocasionada pela obstrução ou rompimento de uma artéria cerebral, sendo classificado em dois subtipos conforme sua etiologia: hemorrágico (AVCh) e isquêmico (AVCi) (CORREA-PAZ et al., 2021; XU et al., 2021).

Segundo a *American Heart Association* (2009), o AVC constitui a principal causa de incapacidade nos Estados Unidos (SIMS et al., 2020) e representa um importante desafio de saúde pública global. Entre os anos de 1990 e 2010, houve aumento de 26% nas mortes por AVC, passando de 4,66 para 5,87 milhões de óbitos mundialmente (KAMALAKANNAN et al., 2017), consolidando-o como a segunda principal causa de morte global (SEDOVA et al., 2021).

Estima-se que uma em cada seis pessoas sofrerá um AVC ao longo da vida, resultando em aproximadamente 13,7 milhões de novos casos anuais (SU et al., 2020a). Em 2010, os casos incidentes de AVCi e AVCh no mundo foram de 11,6 e 5,3 milhões, respectivamente, sendo que 63% dos AVCi e 80% dos AVCh ocorreram em países de baixa e média renda (ORNELLO et al., 2018). Em 2016, o número de novos casos aumentou para 13,7 milhões, e, no mesmo ano, 5,5 milhões de mortes foram atribuídas ao AVC, com o AVCi e o AVCh responsáveis por 2,7 milhões e 2,8 milhões de óbitos, respectivamente (SAINI; GUADA; YAVAGAL, 2021b). No Brasil, entre os anos de 2008 e 2018, foram registrados 28.625 óbitos decorrentes de AVC, sendo observada uma elevação nas taxas de AVCi em homens e mulheres das regiões Sul e Sudeste entre 2011 a 2018 (MORAES BERNAL et al., 2020).

A incidência de AVC está associada a fatores étnicos. Nos Estados Unidos, negros e hispânicos apresentam maior risco de AVCi quando comparados a caucasianos (MAIDA et al., 2020). A incidência em homens é de aproximadamente 62,8 por 100.000 habitantes, enquanto em mulheres é de cerca de 59 por 100.000, sugerindo maior acometimento no sexo masculino, sobretudo em indivíduos jovens (MAIDA et al., 2020). No entanto, mulheres acima de 75 anos são mais afetadas que homens da mesma faixa etária (MOZAFFARIAN et al., 2016). Em geral, o risco de AVC aumenta com a idade, sendo que cerca 75% dos casos ocorrem em pessoas acima de 64 anos (PRZYKAZA, 2021). Contudo, cerca de um terço dos casos acomete pessoas

mais jovens, sugerindo que essa patologia não restringe ao envelhecimento (MAIDA et al., 2020).

O AVCi caracteriza-se por um infarto cerebral resultante da interrupção abrupta do fluxo sanguíneo, ocasionando prejuízo déficit neurológico. Esse processo resulta da oclusão arterial por trombose ou êmbolo, levando à hipóxia neuronal irreversível e desencadeando uma cascata de eventos moleculares (SU et al., 2020a). O AVCi corresponde à maioria dos casos de AVC (CHEN, Z. et al., 2019; XIANG et al., 2020), representando entre 71% (SU et al., 2020a) a 85% (PANDYA et al., 2011a) dos diagnósticos, além de constituir um importante problema clínico e socioeconômico, com custo estimado em 34 bilhões dólares anuais nos Estados Unidos (ALQAHTANI et al., 2020). Sua etiologia envolve trombose ou embolia decorrente de aterosclerose, embolia de origem cardíaca, hipoperfusão sistêmica ou causas indeterminadas (Pandya et al., 2011a).

As sequelas do AVCi são amplas e afetam diversos domínios funcionais (SCHEPERS et al., 2007). Complicações infecciosas, como pneumonia e infecções urinárias, são comuns (SHI et al., 2018b), assim como alterações emocionais, destacando-se a depressão como o transtorno psiquiátrico mais prevalente após o AVCi, impactando negativamente a reabilitação e qualidade de vida (VILLA; FERRARI; MORETTI, 2018). Outros sintomas incluem ansiedade, irritabilidade, fadiga (KIM, 2016) e distúrbios de humor (VITTURI et al., 2021).

1.2 FISIOPATOLOGIA DO AVCi

A fisiopatologia do AVCi caracteriza-se por uma interrupção no suprimento sanguíneo, reduzindo abruptamente o fornecimento de oxigênio e nutrientes essenciais à região cerebral. Esse evento resulta na formação de um núcleo isquêmico irreversivelmente danificado, circundado por uma área potencialmente recuperável denominada penumbra (ABDULLAHI; TRIPATHI; RONALDSON, 2018; TORRES-QUEROL et al., 2021).

O AVCi pode ser causado pela oclusão de uma artéria cerebral por mecanismos locais, como trombose ou placas ateroscleróticas (MARTÍNEZ-CORIA et al., 2021), ou por mecanismos distais, como êmbolos ou coágulos formados em outras regiões vasculares que migram até o cérebro e obstruem artérias principais ou arteríolas penetrantes (CANDELARIO-JALIL; PAUL, 2021A; MARTÍNEZ - CORIA et al., 2021). Fatores de risco, como aterosclerose e fibrilação atrial, estão frequentemente associados à formação desses coágulos (CANDELARIO-JALIL; PAUL, 2021B; MAIDA et al., 2022; VIRANI et al., 2020).

A interrupção do fluxo sanguíneo cerebral leva ao surgimento de sintomas súbitos, como confusão, dificuldade na fala, dormência e fraqueza dos membros (WOLSKA et al., 2021). Em nível celular, o AVCi desencadeia alterações metabólicas, disfunção celular, estresse oxidativo, reações inflamatórias e respostas imunes, culminando na perda da integridade celular e morte neuronal (LIN, D. et al., 2019; WOLSKA et al., 2021).

A cascata isquêmica compreende um conjunto de mecanismos patológicos sobrepostos, ativados imediatamente após a oclusão vascular (MARTÍNEZ-CORIA et al., 2021). Na fase aguda, observada nas primeiras horas após o evento, ocorrem inflamação, formação de radicais livres, desequilíbrio iônico, estresse oxidativo e excitotoxicidade, levando à necrose celular e ao estresse nitrosativo (FAROOQ et al., 2020; ZENG et al., 2019). Durante a fase subaguda, que abrange os primeiros dias após o AVpC, há liberação de citocinas e quimiocinas, inflamação persistente e aumento da permeabilidade da barreira hematoencefálica (BHE). Já a fase crônica é marcada pela resolução gradual da inflamação e pelo início dos processos de reparo tecidual (FAROOQ et al., 2020).

1.3 MECANISMOS DE ESTRESSE OXIDATIVO NO AVCi

O bloqueio do fluxo sanguíneo durante o AVCi desencadeia processos fisiopatológicos que incluem inflamação, disfunção da BHE, sobrecarga de cálcio, excitotoxicidade e estresse oxidativo, contribuindo para dano neural (HE et al., 2021). O estresse oxidativo e a atividade inflamatória configuram dois eventos iniciais na cascata de lesão isquêmica cerebral, responsáveis pela ruptura de diversos circuitos neurais (CHEN, H.; HE; CHEN; QI; SHEN, 2020; RANA; SINGH, 2018).

O estresse oxidativo é caracterizado por um desequilíbrio entre a elevada produção de EROs e ERNs (JURCAU; ARDELEAN, 2022, HE et al., 2021) e a capacidade limitada dos sistemas antioxidantes endógenos (SU et al., 2020b). Esse desequilíbrio leva ao dano celular, incluindo disfunção endoteliais, resultando na ruptura da BHE, no desenvolvimento de edema local e no aumento da pressão intracraniana (PIC), comprometendo a perfusão dos tecidos cerebrais (SU et al., 2020b).

As espécies reativas provocam diversos efeitos pró-inflamatórios, como dano endotelial, recrutamento de neutrófilos, liberação de citocinas e comprometimento mitocondrial (MAYEVSKY; KUTAI-ASIS; TOLMASOV, 2020), que, por sua vez, retroalimentam o estresse oxidativo (GIUSTINA et al., 2018). As EROs constituem um elo central na lesão de isquemia-reperfusão cerebral (JURCAU; ARDELEAN, 2022), sendo esse um importante

desafio após terapia de revascularização, nas quais ocorre dano celular induzido pela reperfusão (GONG et al., 2017).

O tecido cerebral apresenta elevada sensibilidade ao estresse oxidativo a uma série de fatores, como baixos níveis de enzimas antioxidantes, como superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutathione peroxidase (GPx), e à auto oxidação de neurotransmissores, contribuindo para a sobrecarga de cálcio e para a geração adicional de EROs (COBLEY; FIORELLO; BAILEY, 2018; JURCAU; ARDELEAN, 2022). Embora a restauração do fluxo sanguíneo seja necessária para recuperar o metabolismo aeróbico, ela também estimula a produção adicional de EROs, superando a capacidade cerebral de neutralização e ampliando o dano celular (JURCAU; ARDELEAN, 2022).

No contexto do AVCi, a produção exacerbada de EROs é determinante para a lesão cerebral, reagindo com ácidos nucleicos, proteínas e membranas lipídicas, e promovendo apoptose e morte celular cerebral (SONG et al., 2021). Os *debris* celulares na área isquêmica ativam vias inflamatórias ao liberar moléculas capazes de ativar a microglia, astrócitos, células endoteliais da BHE e, posteriormente, leucócitos infiltrantes (PRZYKAZA, 2021). A morte celular é responsável pelo núcleo de infarto, região onde a hipóxia é mais intensa e leva ao colapso energético e estrutural (PANDYA et al., 2011b).

Após isquemia cerebral, a hipóxia e a produção excessiva de EROs/ERNs comprometem a fosforilação oxidativa na cadeia respiratória mitocondrial, promovendo a despolarização mitocondrial e aumento do nível de O_2^- (MANZANERO; SANTRO; ARUMUGAM, 2013). A hipóxia favorece a conversão de O_2 em EROs. Simultaneamente, o glutamato extracelular elevado ativa receptores N-metil-D-aspartato (NMDA), intensificando o influxo do cálcio, o que causa disfunção mitocondrial e ativa proteases e lipases intracelulares.

Outras enzimas oxidativas, como a xantina oxidase, também contribuem para o aumento da produção de EROs, gerando O_2^- e peróxido de hidrogênio (H_2O_2), promovendo lesão tecidual e estresse oxidativo (FURUHASHI, 2020). O estresse do retículo endoplasmático e do aparelho de Golgi, desencadeado pelos sinais oxidativos, desestabiliza a homeostase do cálcio e amplifica ainda mais o estresse oxidativo (HE et al., 2021; PRZYKAZA, 2021).

Os mecanismos neuroinflamatórios estão intimamente ligados ao estresse oxidativo, contribuindo para a lesão neuronal na fase aguda da isquemia e para o agravamento do déficit neurológico, especialmente após a lesão de isquemia/reperfusão (JURCAU; SIMION, 2021). Embora o foco principal do dano no AVCi seja o tecido cerebral, é crucial reconhecer que o estresse oxidativo e a inflamação também afetam sistemas periféricos. Regulados pelo eixo

HPA, pelo nervo vago e pelo sistema nervoso simpático, estudos mostram que o AVCi induz respostas periféricas significativas (VIANA et al., 2024).

O tecido cardíaco, por exemplo, pode apresentar maior risco de arritmias associadas ao estresse oxidativo (CHENG et al., 2017; KIBEL et al., 2020; SEN et al., 2024). O baço, importante órgão imunológico, pode sofrer alterações estruturais e aumento da apoptose celular (FU et al., 2024; ZHOU, C. et al., 2024). Além disso, o pulmão torna-se mais suscetível a infecções e às lesões pulmonares agudas (KONG et al., 2024; LI et al., 2024). Essa comunicação bidirecional entre cérebro e órgãos periféricos reforça a complexidade fisiopatológica do AVCi e a necessidade de abordagens terapêuticas que considerem os efeitos sistêmicos.

No que tange ao dano oxidativo, os radicais livres, incluindo as EROs/ERNs, desempenham papéis cruciais na lesão de isquemia e reperfusão. O cérebro é o maior produtor de radicais livres do organismo, consumindo cerca de 20 do oxigênio corporal total. O aumento da produção de EROs e ERNs pelos tecidos cerebrais leva à ativação das cascatas de sinalização celular que amplia a permeabilidade da BHE, promovem edema cerebral, hemorragia, inflamação e morte neuronal (SUN et al., 2018).

Os radicais livres são moléculas com um elétron livre desemparelhado e alta reatividade capazes de iniciar reações em cadeia que danificam proteínas, lipídeos e ácidos nucleicos. Embora estejam presentes em níveis fisiológicos durante a respiração celular, suas concentrações aumentam significativamente no AVCi. As principais EROs envolvidas na lesão isquêmica incluem o O_2^- , o radical hidroxila (OH) e H_2O_2 (KAMTCHUM-TATUENE; JICKLING, 2019; MEO et al., 2020).

Durante a reperfusão, a produção de radicais livres aumenta consideravelmente, ultrapassando a capacidade dos sistemas antioxidantes. O excesso inicial de EROs na fase inicial do AVCi deriva da cadeia respiratória mitocondrial, mas também de outras vias metabólicas. Com a queda de ATP, os neurônios acumulam cálcio, o que promove despolarização mitocondrial e geração maciça de EROs. Adicionalmente com a infiltração de células imunes e macrófagos durante a neuroinflamação, ocorre a ativação de Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo Reduzido (NADPH) intensificando ainda mais a produção de EROs (KAMTCHUM-TATUENE; JICKLING, 2019_).

O estresse oxidativo também ativa a sinalização da via pró-apoptótica, como a via do citocromo c, resultando em dano ao DNA, alterações proteicas e peroxidação lipídica durante a isquemia e reperfusão (ANDRABI; PARVEZ; TABASSUM, 2020; CHEN, W.; LI, 2020; YANG, J. L.; MUKDA; CHEN, 2018; ZHU, G. et al., 2022).

Quanto as ERNs mais relevantes, incluem-se o óxido nítrico (ON) e o peroxinitrito (ONOO⁻). O ONOO⁻, um dos principais ERNs citotóxico, é formado a partir da reação direta de NO e O₂⁻. Seus derivados podem induzir a nitração de proteínas e afetar inúmeras vias de sinalização celular, causando disfunção mitocondrial, danos ao DNA e peroxidação lipídica, contribuindo para neurotoxicidade e apoptose neuronal no cérebro isquêmico (RADI, 2018; WANG, YIJIE; HONG; YANG, 2022).

1.4 NEUROINFLAMAÇÃO E IMUNOSSUPRESSÃO APÓS AVCi

Como já descrito, no AVCi a perfusão sanguínea para o cérebro é drasticamente reduzida. No infarto cerebral, quando o fluxo sanguíneo diminui entre 10%-25% em relação ao normal, as células nervosas sofrem danos irreversíveis e, por vezes, morte celular. Nesse contexto, as células de defesa do tecido liberam fatores inflamatórios; isto é, as regiões lesadas desencadeiam cascatas inflamatórias na tentativa de remover o dano e recuperar o tecido. Entretanto, a magnitude dessa resposta depende da gravidade da lesão, do tamanho do infarto e da área afetada, de modo que frequentemente as cascatas nocivas predominam sobre os processos de reparo, perturbando o equilíbrio do microambiente celular e levando à ativação de vias deletérias (SEKERDAG; SOLAROGLU; GURSOY-OZDEMIR, 2018; ZHU, H. et al., 2022).

A neuroinflamação e o estresse oxidativo constituem processos patológicos centrais e críticos no AVCi, mediando dano neuronal, disfunção na BHE e transformação hemorrágica (CHEN, H.; HE; CHEN; QI; SHEN et al., 2020). O esgotamento energético e a hipóxia decorrente da isquemia cerebral aguda não apenas ativam o sistema imunológico, como também induzem a infiltração e o acúmulo de células imunes periféricas. A diapedese dessas células periféricas para o Sistema Nervoso Central (SNC) é controlada pela BHE e regulada por células imunes e endoteliais (ANSARI; GAVINS, 2021; AO et al., 2018).

A isquemia cerebral focal pode estimular a ativação generalizada e dinâmica de citocinas inflamatórias (TNF- α , IFN- γ , IL-6 e IL-2), quimiocinas (MCP-1, MIP-2, IP-10) e receptores de quimiocinas (CCR1, CCR2, CCR7 e CCR8) no sistema imunológico periférico. Neutrófilos, macrófagos, monócitos, células *natural killer*, células dendríticas e linfócitos participam do processo de lesão cerebral isquêmica (CHEN, H.; HE; CHEN; QI; SHEN et al., 2020; ZHU, H. et al., 2022). Contudo, quem coordena o perfil neuroinflamatório é a ativação da micróglia, que promove o recrutamento dos neutrófilos circulantes, monócitos e linfócitos do SNC, potencializando a resposta inflamatória (TSUYAMA et al., 2018). Consequentemente,

a resposta inflamatória desempenha um papel crítico na ocorrência do AVCi, agravando o dano cerebral e causando uma grave disfunção cerebral (ZHOU, Y. et al., 2022).

A micróglia, principal célula imune residente no parênquima encefálico, é a primeira a ser ativada após lesões decorrentes de AVCi. Suas principais citocinas pró-inflamatórias secretadas são IL-1 β , IL-6 e TNF. A inflamação sistêmica elevada observada no AVCi está parcialmente mediada pela IL-1 β . Na fase aguda, o aumento dessa citocina contribui para um processo inflamatório prejudicial, associado a regulação positiva de IL-6, TNF e quimiocinas nos astrócitos; ao aumento de moléculas de adesão e infiltração de leucócitos; à inibição da neurogênese; à redução do fluxo sanguíneo por ação nas células endoteliais; e à diminuição da integridade da BHE, culminando em piores desfechos. A IL-1 β também estimula a ativação e proliferação de astrócitos, levando à hiperplasia de astrócitos, uma resposta típica à lesão cerebral. Assim, é considerada uma das citocinas pró-inflamatórias mais importantes na fisiopatologia do AVCi (ZHU, H. et al., 2022).

Outra citocina de grande importância é a IL-6, cuja elevação decorre da ação da IL-1 β em decorrência da isquemia e hipóxia, promovendo a produção de proteínas de fase aguda, intensificando o perfil inflamatório e favorecendo o recrutamento de leucócitos (SU, J. H. et al., 2021). Portanto, a IL-6 é considerada um fator preditor para o prognóstico e gravidade do AVCi (JENNY et al., 2019; YAO et al., 2019).

Complementarmente, destaca-se a citocina com perfil anti-inflamatório IL-10, cujos efeitos inibitórios sobre células imunes desempenham papel essencial na atenuação dos danos causados pelo AVCi. Sua ação reduz a inflamação e limita a apoptose, de modo que níveis mais baixos de IL-10 estão associados a piores desfechos (CHI et al., 2021; KUMAR et al., 2016; SCOTT, VAN et al., 2000).

Entre as citocinas estudadas no AVCi, o TNF se destaca por seu perfil pró-inflamatório. Em pacientes acometidos, a micróglia ativada e os astrócitos liberam altos níveis dessa citocina, considerada tóxica por prejudicar a transmissão sináptica e a plasticidade envolvidas em processos de aprendizagem e memória, sendo um sintoma central após o evento isquêmico. Portanto, níveis elevados de TNF estão associados a maiores déficits neurológicos e piores resultados terapêuticos, sendo considerado um marcador de fator de risco e da taxa de sobrevivência (DUAN et al., 2022; LASEK-BAL et al., 2019).

Assim, da mesma forma que o sistema imune periférico pode responder à ativação imune central AVCi, o insulto cerebral pode modular a resposta imune periférica (COLLINS; SURETTE; BERCIK, 2012). O surgimento de infecção sistêmica após dano cerebral agudo pode refletir redução da competência imunológica mediada pelo SNC, como descrito em

indivíduos com tumores cerebrais, epilepsia ou traumatismo cranioencefálico (WOICIECHOWSKY et al., 1998; DERISI et al., 1997).

Nesse sentido, a imunossupressão periférica pós AVCi, reconhecida como um dos principais contribuintes para infecções, é caracterizada por linfopenia e comprometimento da função dos monócitos, tornando o indivíduo vulnerável a uma ampla variedade de patógenos (GIEDE-JEPPE et al., 2016a; SHI et al., 2018a; VAGHI et al., 2024). Estudos pré-clínicos e clínicos mostram que monócitos, células dendríticas e células T reguladoras aumentam a secreção de IL-10 após o AVC, bloqueando a resposta pro-inflamatória. Além disso, neuroendócrinos, como a hiperativação do sistema nervoso simpático (SNS), participam da imunossupressão após o AVCi (CATANIA et al., 2009). A ativação dos terminais nervosos adrenérgicos induz a secreção de catecolaminas pela glândula adrenal e por terminais nervosos em órgãos periféricos, que agem por meio de receptores β -adrenérgicos em células imunes, reduzindo TNF e aumentando IL-10 (WONG et al., 2011, SAMARY et al., 2016). Além disso, a elevação da dopamina e estímulo dos receptores D1 e D2 após o AVCi resulta na diminuição da expressão de Fator Nuclear kappa B (NF- κ B) e, conseqüentemente, diminuem a produção de citocinas pró-inflamatórias, com efeitos dependentes do tempo (ABRAHAM; ARCAROLI; SHENKAR, 2001; YANG, M. et al., 2003).

O eixo HPA também contribui para esse processo: citocinas pró-inflamatórias são detectadas pelo hipotálamo, induzindo secreção excessiva de glicocorticoides após o AVCi (EMSLEY et al., 2003). Esses hormônios comprometem a funcionalidade de células T, reduzindo a produção de IFN- γ e induzindo a apoptose, e de monócitos, promovendo a secreção de IL-10. Esses efeitos podem explicar, em parte, a apoptose de linfócitos e linfopenia observadas no AVCi (PRASS et al., 2003).

Outro mecanismo relevante envolve o nervo vago na modulação da inflamação cerebral e sistêmica, por meio da liberação de noradrenalina e ativação da via anti-inflamatória colinérgica (WANG, YUE et al., 2021). Esse efeito decorre do estímulo eferente do nervo vago sobre o receptor nicotínico da acetilcolina $\alpha 7$ (nAChR $\alpha 7$), ativado após o AVCi (CAI et al., 2014). Macrófagos e células epiteliais alveolares expressam $\alpha 7$ nAChR (MAOUCHE et al., 2009), e essa modulação pode alterar a resposta imune no tecido pulmonar (SANTOS et al., 2011). Além disso, tecidos hipoperfundidos tornam-se necróticas e liberam Padrões Moleculares Associados ao Dano (*Damage-Associated Molecular Patterns* - DAMPs), como o HMGB1, induzindo expansão de monócitos com perfil M2 e contribuindo para a imunossupressão na fase subaguda, predispondo os indivíduos à pneumonia (WALTER; DONAT, 2007). O bloqueio da sinalização do receptor para produtos finais de glicação

avançada (RAGE), um dos receptores de HMGB1, reverteu a imunossupressão e restaurou a ativação de linfócitos em um estudo experimental (LIESZ et al., 2015). Foi sugerido, ainda, que essa pode representar resposta adaptativa à lesão cerebral aguda, limitando a inflamação no cérebro ou reduzindo reações autoimunes contra neuroantígenos (ENGEL et al., 2015).

Assim, indivíduos com AVCi que necessitam de tratamento em unidade de terapia intensiva (UTI) devido à gravidade da doença têm um mau prognóstico e são propensos a diversas complicações funcionais e neurológicas (SEBASTIAN; STEIN; DHAMOON, 2019; URRÁ; PLANAS, 2007). Entre os desencadeantes de tais complicações, estão as infecções pós-AVCi, onde as taxas podem chegar a 33% nas isquemias cerebrais (ZHENG et al., 2017). Além de prolongar a internação hospitalar, as infecções são um fator de risco estabelecido (ROCCO et al., 2013) e responsáveis por aproximadamente 20% das mortes e elevada morbidade (GIEDE-JEPPE ET AL., 2016B), tendo em vista que o efeito imunossupressor do dano cerebral possui um papel importante nesse processo (SHI et al., 2018a; SHIM; WONG, 2018).

1.4.1 Infecções pós-AVCi

Indivíduos que sofreram AVCi apresentam maior susceptibilidade a infecções, sendo a pneumonia, infecção do trato urinário (ITU) e a sepse as doenças mais prevalentes entre pacientes internados em UTI (SHIM; WONG, 2018; ZAID et al., 2019). Nesse cenário, a interação mecanicista entre o AVCi e essas doenças torna-se de grande relevância para pesquisa científica. A pneumonia é definida como uma doença inflamatória aguda, de causa infecciosa, que acomete os espaços aéreos pulmonares, podendo ser provocada por vírus, bactérias ou fungos (SPUR; RAO, 2018). Ela pode ser classificada de acordo com o local de seu surgimento: pneumonia adquirida na comunidade e pneumonia associada à assistência à saúde, incluindo ambientes hospitalares, procedimentos médicos ou instituições de longa permanência (OLIVEIRA et al., 2021).

Como visto, a pneumonia está entre as complicações médicas mais comuns após o AVCi (ROBBA et al., 2019), com incidência de até 47,3% (ANUPAMA UPADYA, NATALYA THOREVSKA, KANAGA N SENA, CONSTANTINE MANTHOUS, 2004). Um estudo demonstrou que 10% das mortes nos primeiros dias de internação por AVCi são atribuídas à pneumonia (KATZAN et al., 2012). Neste mesmo estudo, verificou-se que a ocorrência de pneumonia após o AVCi aumenta em até três vezes a probabilidade de mortalidade.

Embora muitas infecções em ambiente hospitalar pós-AVCi ocorram principalmente nos primeiros 7 dias de internação (BRÄMER et al., 2019; MAIER et al., 2018), estudos

também apontam que infecções entre 14 a 30 dias após o evento isquêmico, estão associadas a uma maior mortalidade (FINLAYSON; KAPRAL; HALL, 2013; ULM et al., 2012). Considerando um período ainda mais extenso, um estudo multicêntrico internacional (ENOS; Investigators, 2015) analisou eventos adversos graves até 90 dias após a randomização, incluindo infecções frequentes como pneumonia e ITU, e identificou associação entre infecções pós-AVCi e maior mortalidade ou dependência funcional aos 90 dias. Assim, infecções tardias são tão prejudiciais quanto as de início precoce (LEAROYD et al., 2018).

Entre os patógenos mais frequentemente isolados na pneumonia pós-AVCi destacam-se *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*, com ênfase para *K. pneumoniae* devido à sua associação com infecções respiratórias graves, elevada morbidade e resistência antimicrobiana (JI et al., 2014; WESTENDORP et al., 2011).

Além do comprometimento do trato respiratório, evidências recentes apontam o intestino como fonte importante de infecção pós-AVCi. Estudos experimentais demonstraram que o AVCi induz disbiose intestinal, aumento da permeabilidade da barreira epitelial e translocação bacteriana, favorecendo a disseminação sistêmica de microrganismos e contribuindo para sepse e pneumonia em indivíduos com lesão cerebral isquêmica (CRAPSER; RITZEL; VERNA et al., 2016; SINGH et al., 2016; STANLEY et al., 2016). Essa interação bidirecional entre cérebro e intestino, frequentemente denominada eixo intestino-cérebro-pulmão, reforça que as complicações infecciosas após o AVCi não decorrem apenas de fatores locais, como a disfagia e a broncoaspiração, mas também de mecanismos sistêmicos mediados pela resposta imune e pela microbiota intestinal.

Quanto ao comprometimento neurológico tardio, estudos em modelos animais de doenças neurodegenerativas demonstraram que a inflamação periférica pode reativar a microglia (PERRY; HOLMES, 2014). É possível que fenômeno semelhante ocorra em pacientes com AVCi que desenvolvem infecções, especialmente quando estas surgem em fases posteriores, período no qual as respostas inflamatórias iniciais decorrentes do AVCi já estão em resolução.

Neste contexto, terapias moduladoras, como do canabidiol (CBD), que demonstrou efeito protetor inclusive sobre a permeabilidade intestinal após modelo experimental de AVCi (SOUZA STORK, DE et al., 2025), podem auxiliar na melhora não apenas de parâmetros neuroinflamatórios, mas de todo o estado clínico geral dos pacientes (CHIDAMBARAM et al., 2022; PEH et al., 2022).

1.4.2 Sistema Endocanabinoide

O sistema endocanabinoide (SEC) é um complexo sistema biológico e molecular descrito inicialmente por Allyn Howlett e W.A. Devane em 1988, após a elucidação da estrutura do Δ^9 -tetrahydrocannabinol (THC) por Raphael Mechoulam em 1964. Atua como um sistema de comunicação intercelular fundamental na regulação de diversos processos fisiológicos, incluindo memória, inflamação, nocicepção, transmissão sináptica, apetite e termorregulação. Esses efeitos ocorrem por meio da interação com sistemas neurológicos e endócrinos, envolvendo receptores, ligantes endógenos e enzimas responsáveis pela síntese e degradação dos canabinoides endógenos (ESTRADA; CONTRERAS, 2020; VICENTE-ACOSTA et al., 2022a).

Os canabinoides são classificados em três grupos: endocanabinoides, fitocanabinoides e canabinoides sintéticos (SCHURMAN et al., 2021). O SEC envolve principalmente os receptores CB1 e CB2, ativados por endocanabinoides anandamida (AEA) e 2-araquidonoilglicerol (2-AG), cujas principais enzimas reguladoras são a FAAH e a MAGL. Esses receptores também podem ser ativados por fitocanabinoides ou compostos sintéticos (COORAY; GUPTA; SUPHIOGLU, 2020a; KARIMIAN AZARI; KERRIGAN; O'CONNOR, 2020). Assim, o SEC não constitui um sistema isolado, ele interage com diversas vias de sinalização e participa de processos multifuncionais (LU; MACKIE, 2021).

O receptor CB1 (CB1R), altamente expresso em neurônios pré-sinápticos do SNC e também em células gliais, modula a liberação de neurotransmissores e medeia os efeitos do THC (LEO; ABOOD, 2021). O receptor CB2 (CB2R), inicialmente associado a células imunes, é encontrado na micróglia, astrócitos e oligodendrócitos, apresentando expressão significativa no tecido cerebral (ESTRADA; CONTRERAS, 2020). Ambos os receptores modulam mecanismos relacionados à dor, especialmente em condições crônicas como fibromialgia, no qual o uso de *Cannabis* e derivados tem demonstrado resultados promissores em modelos pré-clínicos e clínicos (BOURKE et al., 2022).

Evidências experimentais demonstram que a inibição de CB1 pode exercer efeitos neuroprotetores em modelo de oclusão da artéria cerebral média (MCAO), reduzindo a morte neuronal. Por outro lado, a ativação de CB2 apresenta propriedades anti-inflamatórias e neuroprotetores, diminuindo o volume do infarto, enquanto seu bloqueio intensifica os déficits sensorio-motores (KOLB et al., 2019a). Em condições fisiológicas, a expressão de CB1 é baixa, mas aumenta em situações patológicas, como o AVC.

No contexto do AVC, alterações na sinalização endocanabinoide estão associadas a fatores de risco como obesidade, resistência à insulina, insuficiência cardíaca e aterotrombose (SCHARF; EBBERT, 2020). Modelos experimentais mostram que agonistas de CB2R, como HU308 e AM1241, reduzem a inflamação cerebral, o tamanho do infarto e os déficits neurológicos quando administrados precocemente, mas não após o estabelecimento da lesão (SULTANA et al., 2021; YU, S.-J. et al., 2015).

O SEC também está presente no endotélio microvascular cerebral, participando da regulação da BHE. Sua ativação influencia a plasticidade sináptica, a nocicepção e a neurotransmissão (HAGAN; VARELAS; ZHENG, 2022), além de exercer efeitos neuroprotetores em doenças neurodegenerativas, como a doença de Parkinson, na qual há redução da expressão de CB1R (AMENTA et al., 2014; ZARRUK et al., 2012).

Além de seu papel neuronal, o SEC desempenha função moduladora essencial em células gliais. A ativação da micróglia após o AVC pode comprometer circuitos neuronais por meio da degradação sináptica; entretanto, receptores canabinoides modulam essas respostas, influenciando também astrócitos e oligodendrócitos, que sofrem alterações significativas após isquemia (CHEN, A. Q. et al., 2019; JIMENEZ-BLASCO et al., 2020). Dessa forma, a modulação do SEC desponta como alvo terapêutico promissor para intervenções em doenças cerebrovasculares e neurodegenerativas.

1.4.3 Utilização de fitocanabinoides na terapia pós AVCi

As mudanças recentes na regulamentação da *Cannabis* em diversos países impulsionaram um interesse renovado no seu uso medicinal. Embora conhecida há séculos, apenas nas últimas décadas seus potenciais benefícios passaram a receber maior destaque científico e clínico. Os fitocanabinoides, compostos bioativos da planta, apresentam efeitos relevantes no SNC e configuram-se como alternativas promissoras no tratamento de doenças neuropsiquiátricas (LEE et al., 2018; MOHAMED et al., 2022; PAGANO et al., 2022).

A *Cannabis sativa* contém mais de 550 compostos químicos, incluindo mais de 140 fitocanabinoides e mais de 100 terpenos aromáticos. Entre os principais componentes destacam-se o THC e o CBD, amplamente estudados em condições como dor, ansiedade, epilepsia, transtorno de estresse pós-traumático e doenças neurológicas (KOPUSTINSKIENE et al., 2022; WENGER et al., 2022).

O THC é o principal constituinte psicoativo da *C. sativa*, atuando como agonista parcial do receptor CB1. Apresenta efeitos sobre comportamento, nocicepção e apetite, além de

propriedades anti-inflamatórias, antitumorais e antieméticas. Contudo, também é responsável por efeitos psicotrópicos e potencial aditivo (CALABRESE; RUBIO-CASILLAS, 2018; POYATOS et al., 2020).

O CBD, responsável por cerca de 40% dos constituintes ativos, é não psicoativo e se destaca por propriedades anti-inflamatórias, imunomoduladoras e analgésicas, podendo atuar direta ou indiretamente sobre CB1 e CB2. Uma vantagem importante é sua lipofilicidade, que favorece a rápida penetração na BHE (DEIANA et al., 2012; ATALAY et al., 2020).

Os fitocanabinoides apresentam perfil de ação multialvo, modulando neurônios, micróglia, astrócitos, oligodendrócitos e células precursoras neurais e a BHE. Essa versatilidade permite reduzir a excitotoxicidade por meio do receptor CB1, limitar a neuroinflamação via receptor CB2 e promover suporte trófico e metabólico aos neurônios. Além disso, esses compostos atuam em vias de sinalização independentes dos receptores canabinoides, incluindo o fator nuclear eritroide 2 relacionado ao fator 2 (Nrf2), o NF- κ B e o receptor ativado por proliferadores de peroxissomos (PPAR), modulando estresse oxidativo, inflamação e suprimento sanguíneo cerebral (FERNÁNDEZ-RUIZ; MORO; MARTÍNEZ-ORGADO, 2015a).

Estudos relatam benefícios dos fitocanabinoides em condições neurodegenerativas: na doença de Alzheimer, reduzem neuroinflamação, reatividade astrocítica e déficits cognitivos; na doença de Parkinson, atenuam a morte de neurônios dopaminérgicos e melhoram déficits motores; e na esclerose múltipla, diminuem a infiltração linfocitária e espasticidade (PAES-COLLI et al., 2022). No contexto de AVCi, meta-análises apontam os canabinoides como agentes neuroprotetores capazes de reduzir o volume do infarto, aumentar o fluxo sanguíneo cerebral, atenuar a gliose e modular respostas imunológicas (ENGLAND et al., 2015; CHOI; MOU; SILVA, 2019). Fitocanabinoides como THC e CBD apresentam efeitos pós-insulto, promovendo melhora funcional, redução de edema e estabilização da BHE (FERNÁNDEZ-RUIZ; MORO; MARTÍNEZ-ORGADO, 2015b). Outros compostos, como a cannabidivarina (CBDV) e o cannabigerol (CBG), demonstraram proteção em modelos de hipóxia/reoxigenação de células endoteliais, astrócitos e pericitos, sugerindo um papel importante na preservação da BHE (VICENTE-ACOSTA et al., 2022b).

Particularmente, o CBD mostrou eficácia em modelos de isquemia cerebral, prevenindo déficits cognitivos e emocionais, reduzindo neurodegeneração hipocampal e preservando substância branca, além de aumentar níveis de BDNF (MORI et al., 2017a). Seus efeitos neuroprotetores envolvem antagonismo funcional ao receptor NMDA via sigma-1, modulação do canal TRPV2 e aumento do fluxo sanguíneo cerebral mesmo quando administrado

tardamente após o evento isquêmico (RODRÍGUEZ-MUÑOZ et al., 2018; KICMAN; TOCZEK, 2020a; LANA et al., 2022).

Portanto, ainda que nos últimos anos o interesse científico e clínico pelos derivados da *C. sativa*, como o CBD e o THC, tenha crescido substancialmente, evidências indicam que o estudo do extrato *full-spectrum* (FSC) de *C. sativa*, que contém não apenas CBD, mas também THC em baixas concentrações, além de outros canabinoides menores, terpenos e flavonoides, pode oferecer vantagens significativas em relação aos compostos isolados. Essa superioridade é explicada pelo chamado efeito *entourage*, no qual a interação sinérgica entre múltiplos constituintes da planta potencializa a eficácia terapêutica e amplia o espectro de alvos farmacológicos (RUSSO et al., 2019).

Do ponto de vista farmacológico, essa diversidade de compostos permite uma atuação multimodal sobre diferentes mecanismos envolvidos em condições complexas como o AVCi, abrangendo a redução da excitotoxicidade, a modulação da neuroinflamação, a proteção da BHE e a melhora da microcirculação cerebral. Estudos indicam que o FSC pode ser mais potente do que o CBD isolado, mantendo perfil de segurança favorável e apresentando curva dose-resposta mais estável, evitando a perda de eficácia em doses elevadas observada no uso exclusivo de CBD (PAMPLONA et al., 2018).

Adicionalmente, aspectos farmacocinéticos reforçam essa vantagem: a presença de THC e de outros compostos no FSC demonstrou aumentar a biodisponibilidade oral do CBD, melhorando sua absorção intestinal e reduzindo mecanismos de efluxo, resultando em maior exposição sistêmica e potencial terapêutico ampliado (BRUNETTI et al., 2023). Terpenos como o β -cariofileno e o mirceno, por exemplo, possuem propriedades anti-inflamatórias e ansiolíticas próprias, além de modularem a ação dos principais canabinoides, conferindo maior complexidade e robustez ao efeito final (NUUTINEN, 2018).

Nesse sentido, estudar o FSC representa uma abordagem mais próxima da realidade clínica, visto que a maior parte dos pacientes utiliza formulações de amplo espectro, e não moléculas isoladas. Estudos recentes demonstraram os efeitos do FSC em modelo de isquemia cerebral induzida por MCAO em ratos. Os resultados mostraram que o tratamento com FSC promoveu melhora significativa nos déficits neurológicos e redução do volume de infarto. Observou-se ainda diminuição da permeabilidade intestinal, da inflamação pulmonar e do estresse oxidativo, bem como modulação do eixo HPA, com redução dos níveis séricos de corticosterona. Em especial, o pulmão e o intestino mostraram-se altamente responsivo ao tratamento, sugerindo um papel central do FSC na prevenção de complicações sistêmicas pós-AVCi (STORK et al., 2025).

Sendo assim, considerando que o FSC exerce uma função neuroprotetora pós-AVCi e atenua alterações periféricas, torna-se fundamental avaliar seus efeitos em curto e longo prazo, especialmente diante da susceptibilidade a infecções, como a pneumonia, e de suas consequências, entre elas a potencialização do dano neurológico (STORK et al., 2025).

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar os efeitos do tratamento com óleo de espectro completo rico em canabidiol (FSC) sobre a resposta oxidativa, inflamatória e parâmetros sistêmicos em modelo experimental de pneumonia secundária ao AVCi.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar os efeitos do tratamento com extrato FSC sobre escore neurológico, variação de peso corporal e temperatura, em ratos submetidos a pneumonia após o AVCi;
- Avaliar os efeitos do FSC sobre o tamanho do baço de ratos submetidos a pneumonia após o AVCi;
- Analisar o impacto do FSC sobre marcadores de estresse oxidativo em estruturas cerebrais e periféricas de ratos submetidos a pneumonia após o AVCi;
- Investigar os efeitos do FSC nos níveis de citocinas pró e anti-inflamatórias em estruturas cerebrais e periféricas de ratos submetidos a pneumonia após o AVCi.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 TIPO DE ESTUDO

Estudo experimental pré-clínico com modelo animal de isquemia/reperfusão (I/R), conduzido com ratos Wistar submetidos à MCAO, seguida por indução de pneumonia bacteriana. As análises foram realizadas para investigar parâmetros neurocomportamentais, inflamatórios e oxidativos após o tratamento com FSC.

3.2 MATERIAIS E EQUIPAMENTOS

A indução de isquemia e reperfusão foi realizada na Universidade do Extremo Sul Catarinense (UNESC) em Criciúma/Santa Catarina, em parceria com o Laboratório de Doenças Cerebrovasculares. Os animais foram anestesiados com anestesia inalatória a partir do medicamento isoflurano (Cristália, Brasil) (1 L/min de O₂ e 1 L/min O₂ ambiente), e mantidos sob anestesia utilizando o fluxo de 1 – 2% de isoflurano com vaporizador de kit de anestesia (Hipnos 50 l, Previtich, Brasil). Foram utilizados os equipamentos conforme segue: aparelhos de anestesia inalatória completo (kit de anestesia (Hipnos 50 l, Previtich, Brasil), instrumentos cirúrgicos, colchões térmicos, foco cirúrgico (Prevtech, Brasil) e balança digital (SF- 400, Brasil) e balança eletrônica de precisão (Marte científica, AD3300). Para oclusão da artéria cerebral média, o monofilamento revestido de silicone de 0,23 mm (6.0) (Doccol, Redlands, CA). Suturas com fio nylon 3.0 (SHALON, Brasil). No pós-operatório NaCl 0,9% (Eurofarma, Brasil) e D500® (ZOETIS, BRASIL).

Os testes bioquímicos e análises de tecidos cerebrais e periféricos também foram realizadas em parceria com o Laboratório de Doenças Cerebrovasculares. Para o volume do infarto utilizou-se matriz para cortes de encéfalo (HM 450, Thermo Fischer, Houston, Texas, EUA) com reagentes de estabilização, corante e fixação da Sigma (Sigma, St. Louis, EUA). As amostras de tecidos cerebrais e periféricos foram removidas, isoladas em gelo seco e armazenadas a menos 80 °C para as análises bioquímicas. A quantificação das análises de dano lipídico, dano proteico, infiltrado de neutrófilos, presença de NO e atividades das enzimas antioxidantes foram mensuradas por espectrofotômetro (Hitachi 650-40, Japão) de acordo com as recomendações do fabricante. O protocolo para avaliação do estresse oxidativo inclui a utilização de equipamentos: balança (Bel, S203H, e M280, Brasil), homogeneizador (Marconi, Ma099, Brasil), centrífuga refrigerada (Novatec, NT 805, Brasil), agitador magnético com

aquecimento (Fisatom 742A), banho-maria (Deleo BMTE 12OT), espectrofotômetro (Nova, 1103), leitora de microplacas (ThermoPlete LX899G TP-READER). Todas as mensurações neuroquímicas foram normalizadas pelo conteúdo de proteínas, de acordo com o método descrito por Lowry et al, baseado na reação de Folin-Ciocalteu (SIGMA_ALDRICH, EUA). A leitura das mensurações de proteínas foi realizada em leitor de microplacas por absorvância (Thermoplate LX800G, Brasil), expressas como nmol/min/mg de proteína.

A quantificação das citocinas foi realizada pelo método de ELISA, pelo kit DuoSet® ELISA R&D System (EUA). A leitura de placas realizada pelo espectrofotômetro (Perlong DNM-9602). Os testes de ELISA foram realizados em parceria com o Laboratório de Fisiopatologia Experimental de UNESC.

3.3 ANIMAIS

Foram inclusos no estudo 80 ratos machos da linhagem Wistar com 60 dias de idade, pesando cerca de 250 a 300 g, provenientes da UNESC. Foram alojados no máximo 4 animais por caixa, e sempre monitorando condições de temperatura (entre 20 – 24 °C), umidade (55%), luminosidade (12 horas de luz e 12 horas de escuro), exaustão, ventilação e o barulho. Foi administrado nutrição adequada, não contaminada e de procedência controlada, diariamente, em quantidade *ad libitum* e qualidade apropriada para garantir sua saúde e bem-estar, e a água potável a vontade, também ficou acessível. Após a indução de I/R todos os animais receberam ração úmida.

O tamanho amostral deste projeto foi determinado com base em dados da literatura e estudos prévios realizados em nosso laboratório. Para a determinação do número de animais por grupo (n = 10), foi considerada a utilização do menor número possível de animais, a eficiência dos modelos experimentais e a estatística apropriada para esta avaliação, conforme cálculos amostrais realizados em estudos anteriores (BONFANTE et al., 2020; CRAPSER et al., 2016; JOAQUIM et al., 2021).

Para coleta de amostras biológicas, após os experimentos todos os animais foram submetidos à Morte Indolor e Assistida (MIA), sob orientação do responsável técnico pelo biotério, obedecendo as disposições da Resolução número nº. 1000 do Conselho Federal de Medicina Veterinária (CFMV), de 20/06/2002.

3.3.1 Grupos experimentais

Os 80 animais foram divididos nos seguintes grupos: (1) Sham + sal + veh, (2) Sham + sal + FSC, (3) Sham + PN + veh, (4) Sham + PN + FSC, (5) MCAO + sal + veh, (6) MCAO + sal + FSC, (7) MCAO + PN + veh, (8) MCAO + PN + FSC. Para cada grupo foi utilizado um n=10, conforme estudos anteriores (CRAPSER; RITZEL; VERMA et al., 2016).

3.4 MODELO EXPERIMENTAL DE ACIDENTE VASCULAR CEREBRAL ISQUÊMICO

O AVCi foi induzido utilizando a técnica de oclusão da artéria cerebral média (MCAO, do inglês *Middle Cerebral Artery Obstruction*) (LIU, F.; MCCULLOUGH, 2011; MCCULLOUGH et al., 2003). Nesse modelo, os animais foram submetidos a anestesia inalatória com o fármaco isoflurano (Cristália, Brasil) (1 L/min de O₂ e 1 L/min O₂ ambiente), e mantidos sob anestesia utilizando um fluxo com variação de 1 – 2 % de isoflurano com vaporizador calibrado de kit de anestesia inalatória (Altech, Brasil) (Figura 1).

Os animais foram colocados em decúbito dorsal e uma seringa de 10ml foi colocada sob o pescoço para melhor acesso às artérias carótidas. Para preparação do campo operatório, foi realizada a tricotomia da região cervical ventral e antissepsia com solução a base de clorexidina 4% a álcool 70%. Na região a ser incisada, foi administrado por via subcutânea 0,1 ml de cloridrato de lidocaína a 2% sem vasoconstritor. Após, foi realizada uma incisão longitudinal de pele na linha média ventral (~ 1 cm) para expor as estruturas cervicais. A fáscia superficial foi dissecada e a glândula submandibular direita rebatida lateralmente com cuidado. No interior do triângulo formado pelos músculos esternomastoide, esternohioideo e digástrico, realizou-se uma dissecação romba para expor a bifurcação da artéria carótida comum direita. Aplicou-se um afastador para ampliação do campo cirúrgico. Com auxílio de lupa cirúrgica 3.5x binocular, o nervo vago e as pequenas fibras nervosas ao redor da artéria foram cuidadosamente anestesiados com *swab* embebido com 0,1 – 0,2 ml de lidocaína a 2 % sem vasoconstritor para analgesia adicional e prevenção da síndrome do sofrimento respiratório agudo.

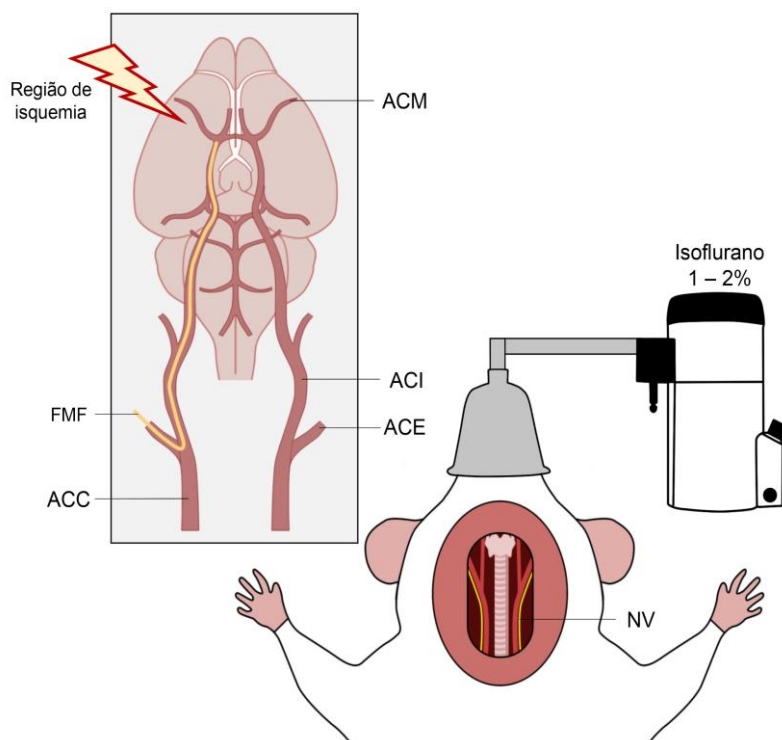


Figura 1: Esquema representativo do modelo experimental de AVCi por MCAO: Um monofilamento inserido intraluminal promove obstrução arterial e isquemia cerebral regional. ACC: artéria carótida comum; ACE: artéria carótida externa; ACI: artéria carótida interna; FMF: fio monofilamentar; ACM: artéria cerebral média; NV: nervo vago. Fonte: Adaptado de Lemmerman et al. (2022) (LEMMERMAN et al., 2022).

O nervo vago foi separado da artéria carótida comum (ACC) e da artéria carótida interna (ACI). As artérias ACC, ACI, artéria carótida externa (ACE) e seus ramos foram separados da fáscia, tecido adiposo e pequenos vasos adjacentes. Um clipe vascular (CV1) foi colocado na ACC a 0,5 cm da bifurcação. Artérias adjacentes de menor calibre, como artéria tireóidea superior (ATS) e artéria occipital (AO) foram cauterizadas com cauterizador portátil (Cautermax®) para evitar sangramento após secção da ACE. Dois fios de sutura de seda 5-0 foram colocados em torno da ACE. Na porção distal da ACE, uma ligadura apertada ocluirá o retorno de sangue para a região de acesso e uma ligadura mais frouxa foi colocada 0,2 – 0,3 mm distal da bifurcação da ACC. Um segundo clipe vascular (CV2) foi colocado temporariamente na ACI para impedir o retorno de sangue após acesso da ACE. Com o emprego de uma microtesoura, foi realizada uma incisão entre as duas suturas de seda e um monofilamento 4-0 com ponta de silicone (Doccol Corporation, especificações: diâmetro 0,19 mm; comprimento 30 mm; diâmetro com revestimento $0,37 \pm 0,02$ mm; comprimento do revestimento 3 – 4 mm) foi inserido no lúmen da ACE e guiado em direção a ACI (LIU, S. et al., 2009). Após, a ACE foi seccionada completamente anterior a ligadura distal e a ligadura de seda proximal é apertada para evitar o sangramento de retorno. A secção da ACE facilita o

direcionamento do monofilamento sentido à ACI. O CV2 foi removido, permitindo a passagem do filamento, que avançara 18 – 20 mm no lúmen da ACI em direção à artéria cerebral média (ACM), até que uma leve resistência seja percebida (GUBSKIY et al., 2018; MORRIS et al., 2016). O CV1 foi removido da ACC e nesse momento inicia-se a MCAO, que persiste por 60 minutos (Figura 2). A dermorráfia foi realizada com fio nylon 3-0 (Shalom, Brasil). Os animais considerados Sham foram submetidos ao mesmo procedimento, porém não tiveram o fluxo sanguíneo da artéria carótida interna ocluído. Após os 60min, sob anestesia inalatória, a MCAO foi revertida para permitir a reperfusão cerebral. A temperatura corpórea dos animais foi monitorada e mantida em aproximadamente 37°C durante os procedimentos (LIU, F.; MCCULLOUGH, 2011; MCCULLOUGH et al., 2003; GUBSKIY et al., 2018).

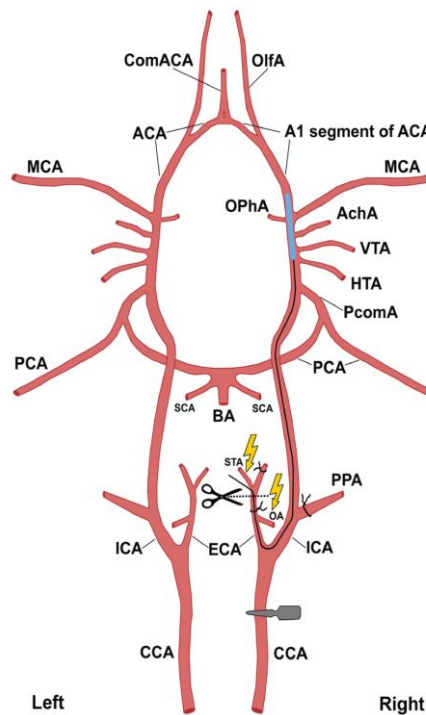


Figura 2: Ilustração dos principais vasos do pescoço do rato: O esquema demonstra os principais vasos arteriais do pescoço com o trajeto percorrido pelo monofilamento revestido com silicone no modelo de AVCi por MCAO, bem com os locais de ligadura e oclusão temporária com clipe vascular. CCA: artéria carótida comum; ECA: artéria carótida externa; ICA: artéria carótida interna; PPA: artéria pterigopalatina; BA: artéria basilar; SCA: artéria cerebelar superior; PCA: artéria cerebral posterior; PcomA: artéria comunicativa posterior; HTA: artéria hipotalâmica; VTA: artéria talâmica ventral; AchA: artéria coroideia anterior; OPhA: artéria oftálmica; MCA: artéria cerebral média; ACA: artéria cerebral anterior; OlfA: artéria olfatória; ComACA: artéria cerebral comum anterior. Fonte: Gubskiy et al. (2018) (GUBSKIY et al., 2018).

3.5 MODELO EXPERIMENTAL PNEUMONIA

Com 72 horas após a indução de MCAO, foi induzido a infecção pulmonar através da bactéria *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 13883), proveniente da Fundação André Tosello. A metodologia foi realizada conforme estudos prévios (SORDI; MENEZES-DE-LIMA; DELLA-JUSTINA et al., 2013; SORDI; MENEZES-DE-LIMA; HOREWICZ et al., 2013). Os ratos foram anestesiados com injeção intraperitoneal (i.p.) de cetamina e xilazina (80 mg/kg e 10 mg/kg, respectivamente) e colocados em posição supina. Foi realizado uma assepsia e tricotomia na região do pescoço, seguido de uma incisão vertical de 15 mm na camada tecidual externa do pescoço. Após a visualização da traqueia foi adicionado 0,2 ml de solução salina estéril (inoculado simuladamente) ou suspensão bacteriana (pneumonia) e foram injetados na traqueia com agulha estéril de calibre 0,45x13 mm. Após a injeção, a pele foi suturada e os animais foram mantidos em gaiolas aquecidas para a recuperação. A taxa de sobrevivência foi analisada por 24 h. Com base em estudos prévios a dose de 4×10^8 UFC foi aplicada podendo induzir a 50% de morte. Os animais receberam 30 ml/kg de salina aquecida estéril por via subcutânea. Até a recuperação anestésica, os animais foram mantidos em gaiolas aquecidas e posteriormente alojados em sala com controle de temperatura (entre 20-24 °C), umidade (55%), luminosidade (12 horas de luz e 12 horas de escuro), ventilação, barulho e livre acesso a água e alimentos.

3.6 TRATAMENTO

O FSC da HealthyCann, EUA, possui 1500 mg de CBD (padronizado em 50 mg/ml de CBD), dissolvido em triglicerídeos de cadeia média (óleo de Coco) (BR, 2022). O FSC foi administrado por via oral na dose de 15 mg/kg em 3 h, 24 h, 48 h e 72 h após a MCAO, onde os animais foram separados nos grupos experimentais aleatoriamente designados para receber o tratamento. As doses de FSC e a via de administração foram baseadas em estudos anteriores (SOUZA STORK, DE et al., 2025). No 3º dia os animais foram submetidos eutanásia seguido de decapitação em guilhotina, e posteriormente foi retirada as amostras de hipocampo, córtex frontal, e dos órgãos periféricos (baço, pulmão) para análises bioquímicas.

3.7 DELINEAMENTO DO ESTUDO

3.7.1 Monitoramento

Conforme demonstrado na Figura 3, a administração do FSC foi realizada nos tempos 3 h, 24 h, 48 h e 72 h após o MCAO respectivamente. Conforme anteriormente descrito, os animais foram submetidos à MCAO por 60 min e após 3 dias de reperfusão (FEIGIN; NORRVING; MENSAH, 2017), foram submetidos ao modelo de pneumonia previamente descrito no item 3.5. Após 24 horas foram submetidos a MIA seguido de decapitação em guilhotina e foram retiradas as estruturas cerebrais e periféricas para a avaliação bioquímica de estresse oxidativo e citocinas.

Em paralelo, em 3 h, 24 h, 48 h e 72 h após a recuperação da anestesia, todos animais foram acompanhados para aferição do peso corpóreo (CRAPSER; RITZEL; VERMA et al., 2016), de temperatura (PEREIRA DE SOUZA GOLDIM et al., 2020) e para avaliação dos critérios de exame neurológico, utilizando um sistema de classificação de escalas numéricas, denominado escore neurológico (BEDERSON et al., 1986; CHEN, J. et al., 2001a) (ANEXO A).

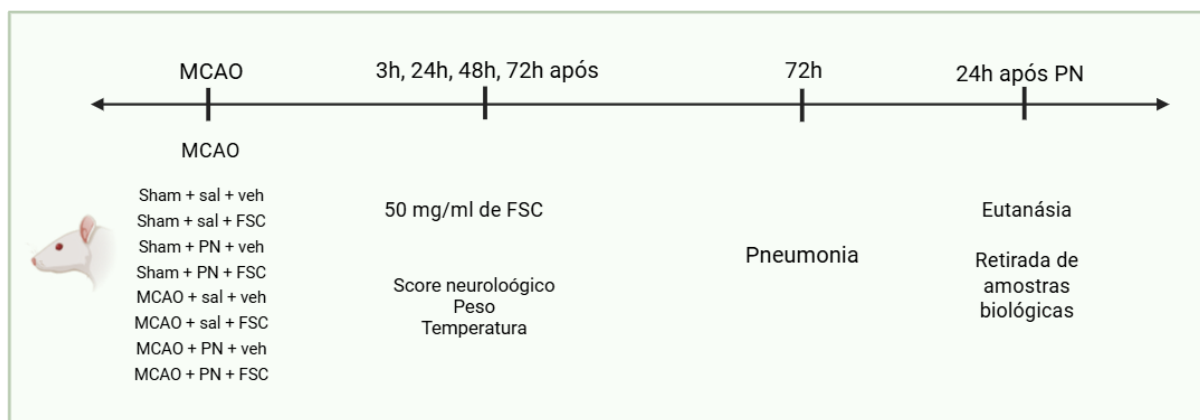


Figura 3 - Desenho experimental: Representação esquemática da linha do tempo do experimento, onde ocorreu a administração do FSC em diferentes tempos pós-MCAO (3h, 24h, 48h, 72h). Fonte: Elaborado pelo autor.

3.8 ENSAIOS/TESTES/TÉCNICAS

3.8.1 Score de avaliação de déficit neurológico

A avaliação do exame neurológico foi realizada utilizando um sistema de classificação de escalas numéricas, denominado escore neurológico (BEDERSON et al., 1986; CHEN, J. et al., 2001a) (ANEXO A).

A avaliação neurocomportamental permite a análise do dano neurológico clínico ou déficit neurológico após a indução do AVCi. Após 1 hora do término da indução do AVCi, já em condições fisiológicas, um observador cego, seguindo os critérios de pontuações conforme descrito por Chen et al. (2001) (CHEN, J. et al., 2001b), iniciou-se minuciosa avaliação técnica individual do exame clínico, pontuando na escala conforme sua avaliação. O exame foi realizado após a indução do AVCi, 24 horas após a reperfusão e momento antes da MIA. O exame consistiu em verificar a presença de déficits neurológicos, com testes motores, testes sensoriais, testes de equilíbrio e reflexos ou movimentos anormais, como crises epiléticas, mioclonias e/ou miodistonias. Pontuações foram atribuídas para classificar alterações presenciadas pelo observador, podendo alcançar pontuação máxima de 18 pontos para o indivíduo que apresentasse alteração em todos os parâmetros avaliados.

3.8.2 Controle de massa corporal e temperatura corpórea

A pesagem para controle da massa corporal dos animais foi realizada no primeiro dia de experimento, momento em que os animais foram submetidos ao modelo experimental de AVCi. Para a mensuração da massa corporal, foi empregada uma balança de pesagem plataforma DP150 (Ramuzá ABS®). Os dados referentes à mensuração da temperatura corpórea dos animais foram obtidos nos mesmos momentos em que esses animais foram pesados. Para a mensuração da temperatura, foi utilizado um termômetro laser infravermelho digital (HL41 Wlxy Brand®), que fornecerá os dados em graus Celsius. (CRAPSER; RITZEL; VERMA et al., 2016), (PEREIRA DE SOUZA GOLDIM et al., 2020)

3.8.3 Tamanho do baço

Após a dissecação do baço, o órgão foi avaliado e fotografado utilizando um paquímetro para garantir a precisão das medições. A análise detalhada da largura, área e peso do baço foi realizada com o auxílio do software Photoshop. Primeiramente, as imagens foram ajustadas e calibradas para garantir medidas precisas. A área do baço foi determinada em cm², enquanto a largura será medida em milímetros. O peso do baço foi registrado com uma balança de precisão. A partir desses dados, foram realizados cálculos para determinar a relação entre o tamanho do baço e o peso corporal do animal. Essa análise envolveu a comparação das medidas obtidas com o peso total do animal, proporcionando uma visão detalhada das mudanças no baço em relação ao peso corporal geral (ORNELLO et al., 2018).

3.8.4 Avaliação de parâmetros de estresse oxidativo

Para as análises de estresse oxidativo as estruturas cerebrais e periféricas (hipocampo, córtex frontal, pulmão), foram removidas, isoladas em gelo e armazenadas a -80 °C. Todas as mensurações foram normalizadas pelo conteúdo de proteínas, de acordo com o método descrito por Lowry et al (Lowry; Randall, 1951), baseado na reação de Folin-Ciocalteu (Sigma Aldrich, EUA). A leitura das mensurações de proteínas foi expressa como nmol/min/mg de proteína.

3.8.4.1 Atividade da Mieloperoxidase (MPO)

O indicativo de infiltrado de neutrófilos foi avaliado por meio da atividade da MPO (AMANZADA; AHMED, 2011). Os tecidos obtidos foram homogeneizados (50 mg/mL) em 0,5% de brometo de hexadeciltrimetilamônio e centrifugado a 15.000 g durante 40 min. A suspensão foi sonicada três vezes durante 30 segundos. Uma parte do sobrenadante foi misturado com solução de tetrametilbenzidina 1,6 mM e 1 mM de Peróxido de Hidrogênio (H₂O). A atividade foi medida como a variação de absorbância a 650 nm a 37 °C (YOUNG et al., 1989). Os resultados foram expressos em mU/mg de proteína.

3.8.4.2 Determinação da concentração de Nitrito/Nitrato (N/N)

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

3.8.4.3 Avaliação de substâncias reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS)

Como índice dos efeitos do estresse oxidativo sobre os lipídeos, foi utilizada a formação de TBARS durante uma reação ácida de aquecimento. As amostras foram misturadas com 1 mL de ácido tricloroacético a 10% (Êxodo Científica, Brasil) e 1 mL de ácido tiobarbitúrico 0,67% (Sigma Aldrich, EUA), e, em seguida, aquecidas em banho de água fervente a 100 °C durante 30 minutos. A quantidade de TBARS foi determinada pela absorbância a 535 nm,

utilizando 1,1,3,3-tetrametoxipropano como padrão externo. Os resultados foram expressos como equivalentes de malondialdeído (MDA)/mg de proteína (H H DRAPER, 1990).

3.8.4.4 Medidas do dano oxidativo em proteínas do grupo sulfidrila

A avaliação do dano oxidativo em proteínas foi determinado pela medida dos grupamentos sulfidrila, utilizando o ditionitrobenzóico (DTNB) (AKSENOV; MARKESBERY, 2001a). As amostras obtidas foram precipitadas e as proteínas dissolvidas em ácido ditionitrobenzóico, após 30 min de incubação à temperatura ambiente os grupamentos sulfidrila foram medidos pela absorbância em 412 nm. Os resultados foram expressos em nmol/tbn/mg/proteína.

3.8.4.5 Determinação da atividade da enzima antioxidante catalase (CAT)

A atividade enzimática da CAT foi determinada pela diminuição no consumo de peróxido de hidrogênio. As amostras teciduais foram homogeneizadas em 1 mL de tampão catalase [PBS+NaCl (pH 7,0), contendo 8,0086 g de NaCl (136,9 mM), 0,1496 g de KH₂PO₄ (1,1 mM) e 0,0383 g de Na₂HPO₄ (0,27 mM)] e centrifugadas por 10 min em 3000 rpm, em temperatura ambiente. O reagente branco foi preparado a partir da mistura de 100 µL deste sobrenadante da amostra com 1 mL de tampão catalase e foi utilizado para zerar o espectrofotômetro. O reagente da amostra foi preparado a partir da mistura de 100 µL de sobrenadante da amostra com 1 mL de tampão catalase contendo H₂O₂ (25 mL de tampão catalase e 400 µL de H₂O₂, protegido da luz). A leitura da amostra foi realizada em espectrofotômetro de lâmpada de deutério, em cubetas de quartzo, a 240 nm. Foram realizadas mensurações referentes ao decaimento de absorbância nos tempos 0, 30 e 60 segundos. O processo foi repetido para cada amostra. A atividade da CAT foi expressa em U de CAT/mg de proteína (AEBI, 1984).

3.8.5 Avaliação dos níveis de citocinas

Para as análises de citocinas o as estruturas cerebrais e periféricas foram removidas, isoladas e armazenadas a -80 °C até as análises. A quantificação de citocinas (TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-10) foram mensuradas por kits ELISA DuoSet para ratos (Sigma Aldrich, EUA), de acordo com as recomendações do fabricante e os resultados foram expressos em pg/mg de

proteína, utilizando leitor de microplacas (Thermoplate LX800G, Brasil) (MANGLANI et al., 2020).

3.9 PROCESSAMENTO E ANÁLISE DOS DADOS

Todas as análises foram conduzidas utilizando o programa GraphPad Prism versão 9.0. Os dados foram inicialmente armazenados e organizados no Microsoft Excel para posterior análise. A normalidade dos dados foi verificada pelo teste de Shapiro-Wilk e a homogeneidade pelo teste de Levene. Dados normais com homogeneidade de variância confirmada foram analisados por testes paramétricos; já os dados que não atenderem a essas condições foram avaliadas por testes não paramétricos.

Para as análises bioquímicas de estresse oxidativo e citocinas, os dados foram apresentados como média \pm DP. Para essas análises, foi utilizado o teste ANOVA (análise de variância) seguido do teste post hoc de Tukey para comparações múltiplas. A significância estatística foi considerada para valores de $p < 0,05$.

3.10 ASPECTOS ÉTICOS DA PESQUISA

O projeto de pesquisa foi aprovado pela Comissão de Ética com o Uso de Animais (CEUA) da UNESC, com o parecer de aprovação nº. 13/2024 (ANEXO B). Os experimentos foram efetuados a partir do momento da aprovação da CEUA e foram realizados de acordo com os aspectos éticos da Diretriz Brasileira para o cuidado e a utilização de animais para fins científicos e didáticos-DBCS, do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA).

Todos os procedimentos foram baseados nas normativas de bem-estar animal e com base nos princípios para o estabelecimento de pontos finais humanitários e para eutanásia animal (DEMERS et al., 2006). Para garantir isso, os procedimentos foram realizados por pesquisadores com experiência, os quais foram responsáveis por monitorar e estarem sempre atentos na manutenção do bem-estar animal e, portanto, capazes de tomar decisões de forma rápida para sanar o desconforto ou sofrimento do animal com o apoio do médico veterinário responsável quando foi necessário.

4. RESULTADOS

4.1 Avaliação do escore neurológico

A avaliação do escore neurológico foi realizada diariamente durante cinco dias após as intervenções, apresentado na Figura 4. No gráfico de evolução temporal comparando-se os grupos em cada um dos dias, observa-se que os grupos submetidos ao MCAO, com ou sem pneumonia, apresentaram escores numericamente superiores aos grupos Sham, refletindo o déficit neurológico esperado após a lesão isquêmica. No entanto, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos em nenhum dos dias avaliados, indicando que, apesar das tendências visuais, a variabilidade intra-grupo impediu a detecção de significância no acompanhamento diário. Ainda assim, nota-se que os animais com pneumonia pós-AVCi exibiram consistentemente os maiores valores médios, enquanto os grupos tratados com FSC mostraram tendência de redução do escore ao longo dos dias (Figura 4A).

Na figura 4B, também não foram detectadas diferenças significativas entre os grupos experimentais, reforçando que o tratamento com FSC ou a presença de pneumonia não modificou de forma estatisticamente robusta o escore médio entre grupos. Entretanto, um achado importante emerge nessa análise: apenas o grupo, MCAO + PN + FSC, apresentou uma diminuição significativa entre o decorrer dos dias de avaliação, indicando que, nessa condição específica, houve uma flutuação temporal marcada do escore neurológico.

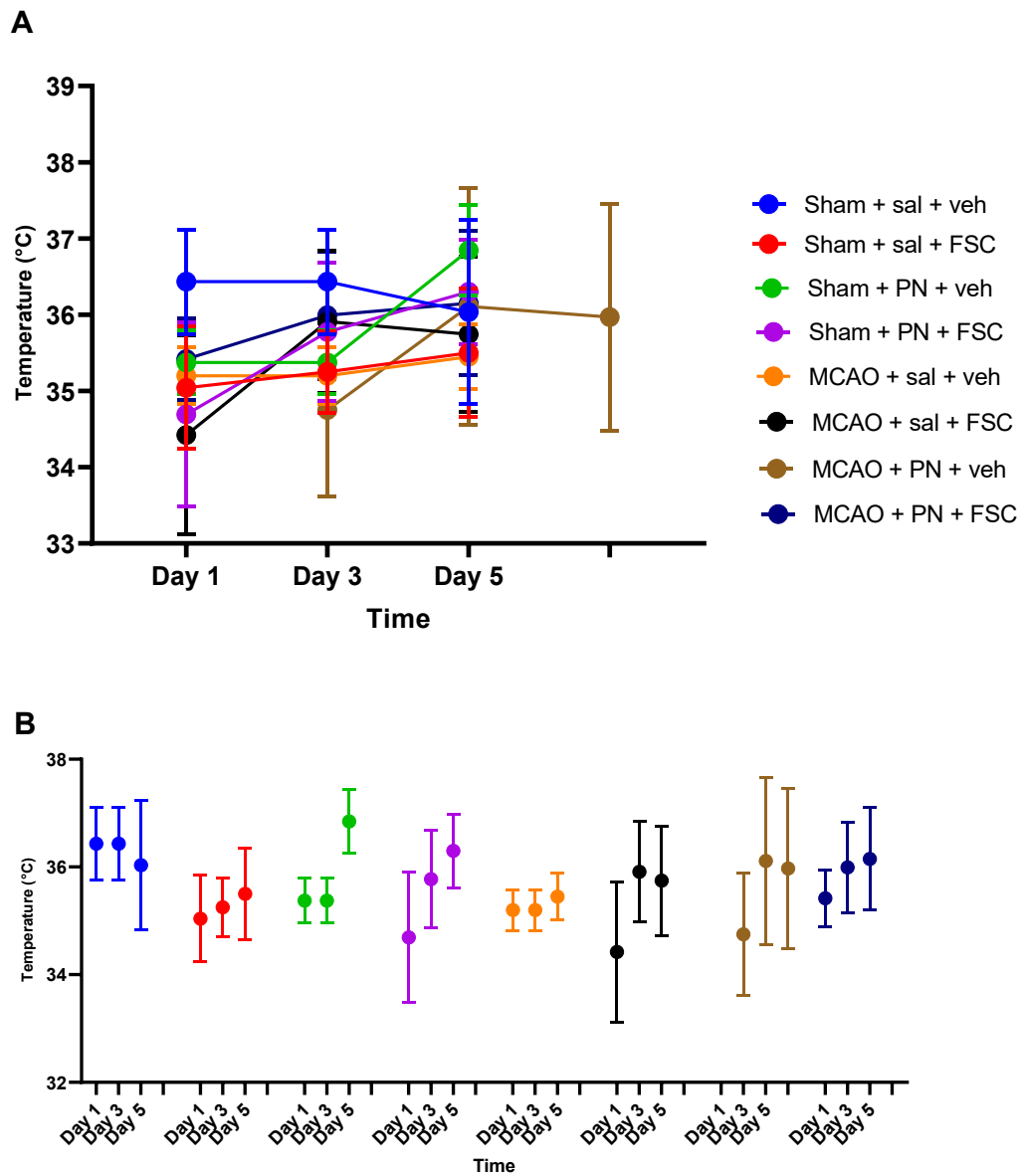


Figura 6. Temperatura corporal (A) ao longo de três dias e (B) comparações pontuais entre os grupos experimentais: Sham, Sham + PN, MCAO + veh, MCAO + PN + veh, MCAO + sham + FSC, MCAO + PN + FSC. Os dados são expressos como média \pm DP.

4.3 Avaliação do tamanho do baço

O comprimento do baço (cm) não apresentou diferenças estatisticamente significativas entre os grupos experimentais (Figura 7A). Por outro lado, a análise da área esplênica (cm²) (Figura 9B) revelou uma diminuição significativa dos grupos MCAO + PN + FSC (**p<0,01), MCAO + PN + veh (*p<0,05) e MCAO + sal + FSC (**p<0,01) quando comparados ao grupo Sham + PN + FSC.

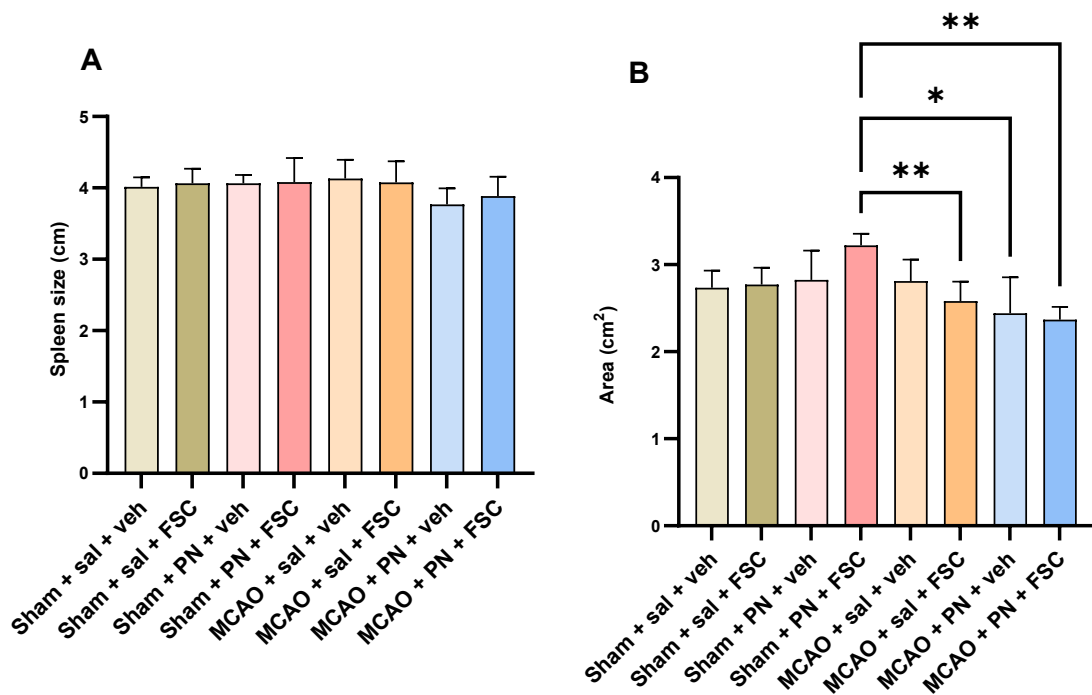
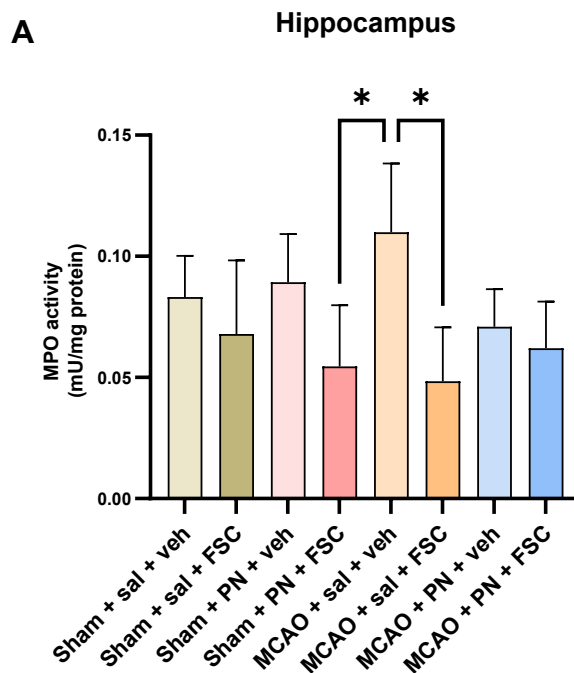


Figura 7. (A) Comprimento do baço (cm) e (B) área esplênica (cm²) nos diferentes grupos experimentais. Os dados são expressos como média ± DP. *p<0,05, **p<0,01.

4.4 Avaliação do estresse oxidativo

A atividade de MPO foi avaliada no hipocampo (A), córtex frontal (B) e pulmão (C) (Figura 8). No hipocampo, houve um aumento significativo no grupo MCAO+sal+veh comparado ao grupo sal+PN+FSC (* $p < 0,05$) e uma diminuição significativa no grupo MCAO + sal + FSC (* $p < 0,05$) quando comparado ao grupo MCAO + sal + veh (Figura 8A). No córtex frontal (Figura 8B), a atividade de MPO foi significativamente maior no grupo MCAO+sal+veh em comparação a sham+sal+veh e sham+PN+FSC (* $p > 0,05$). Comparado ainda com o grupo MCAO+sal+veh houve uma diminuição na atividade de MPO nos grupos MCAO + sal + FSC e MCAO + PN + FSC (* $p > 0,05$) e (** $p < 0,001$). No pulmão (Figura 8C), houve aumento significativo de infiltrado de neutrófilos nos grupos MCAO+sal+FSC comparado a sham+PN+FSC (* $p < 0,05$), no grupo MCAO + PN + veh em comparação ao grupo MCAO + sal + veh (* $p < 0,05$) e no grupo MCAO+PN+FSC comparado a sham+sal+FSC (* $p < 0,05$).



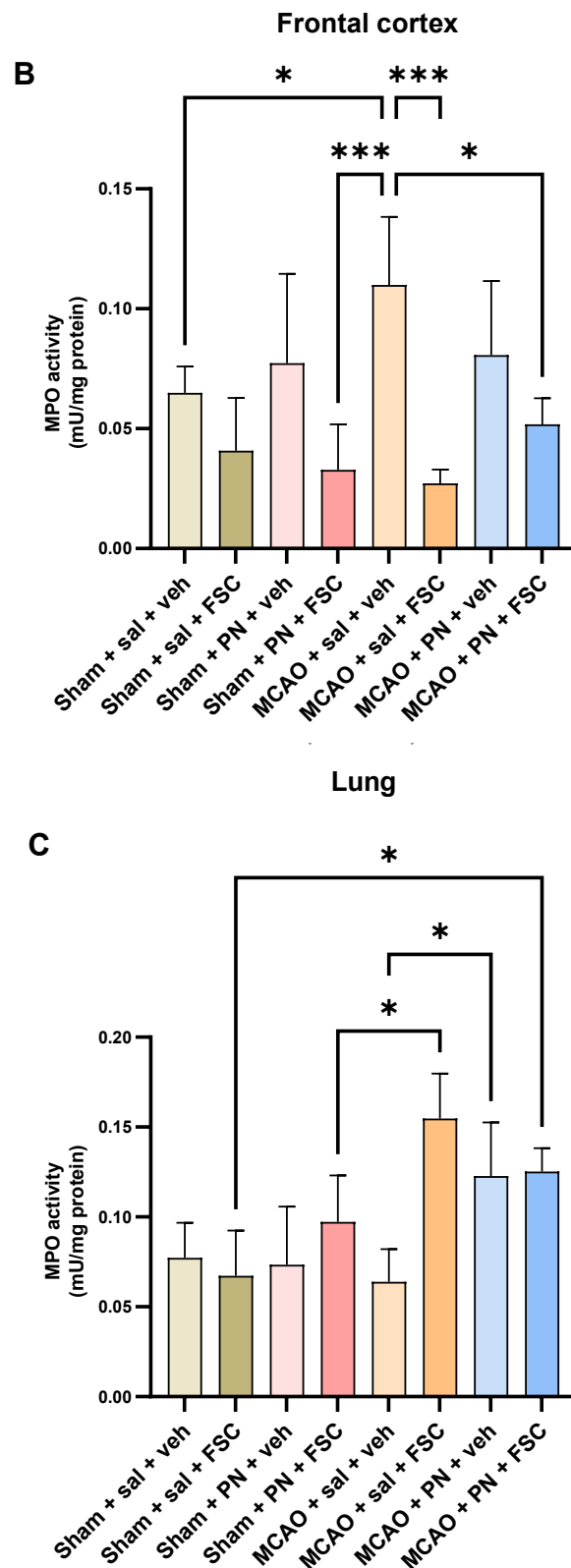
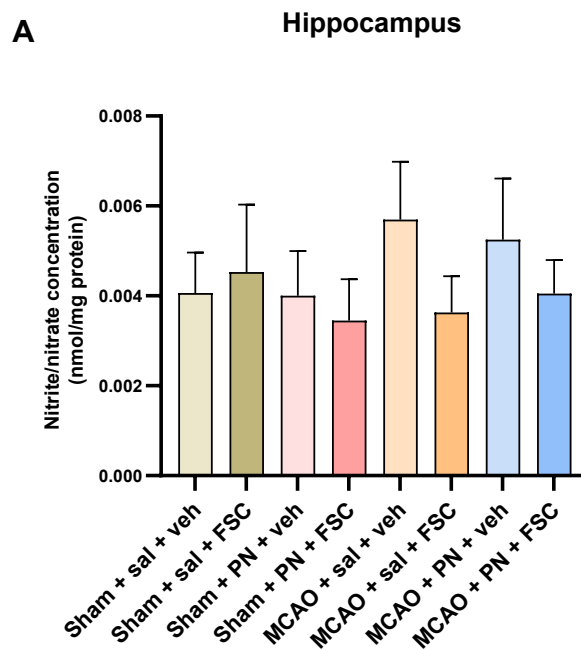


Figura 8. Atividade de mieloperoxidase (MPO) no (A) hipocampo, (B) córtex frontal, (C) pulmão. Os dados são expressos como média \pm DP. * $p < 0,05$, *** $p < 0,001$.

As concentrações de nitrito/nitrato foram avaliadas no hipocampo, córtex frontal e pulmão e apresentados na Figura 9. No hipocampo, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos (Figura 9A). No córtex frontal, o grupo sham+PN+FSC aumentou comparado a sham+sal+FSC (**p<0,01). O grupo MCAO + sal + veh apresentou níveis significativamente mais elevados de nitrito/nitrato em comparação ao grupo sham+sal+veh (****p<0,0001). Em relação ao grupo MCAO+sal+FSC apresentou uma diminuição comparado a sham+PN+FSC (*p<0,05) e MCAO+sal+veh (****p<0,0001). Para o grupo MCAO+PN+veh, houve uma diminuição comparado ao grupo MCAO+sal+veh (*p<0,05) (Figura 9B). No pulmão, a concentração de nitrito/nitrato foi significativamente maior no grupo MCAO + PN + veh em comparação aos grupos Sham+sal+veh (**p<0,01) e Sham + PN + veh (**p<0,01) (Figura 9C).



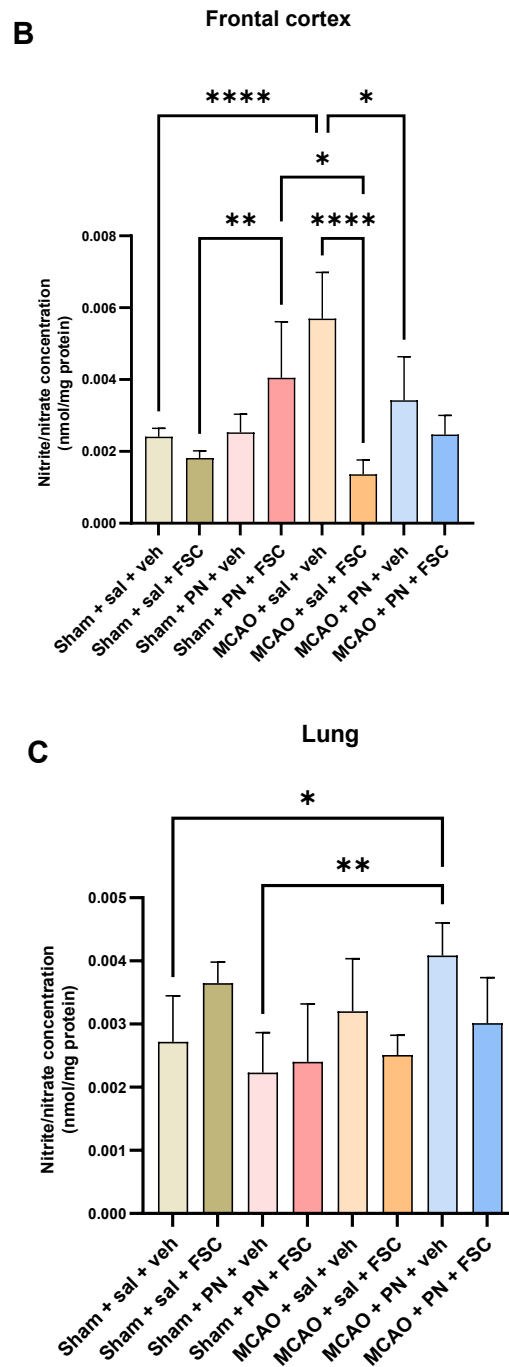
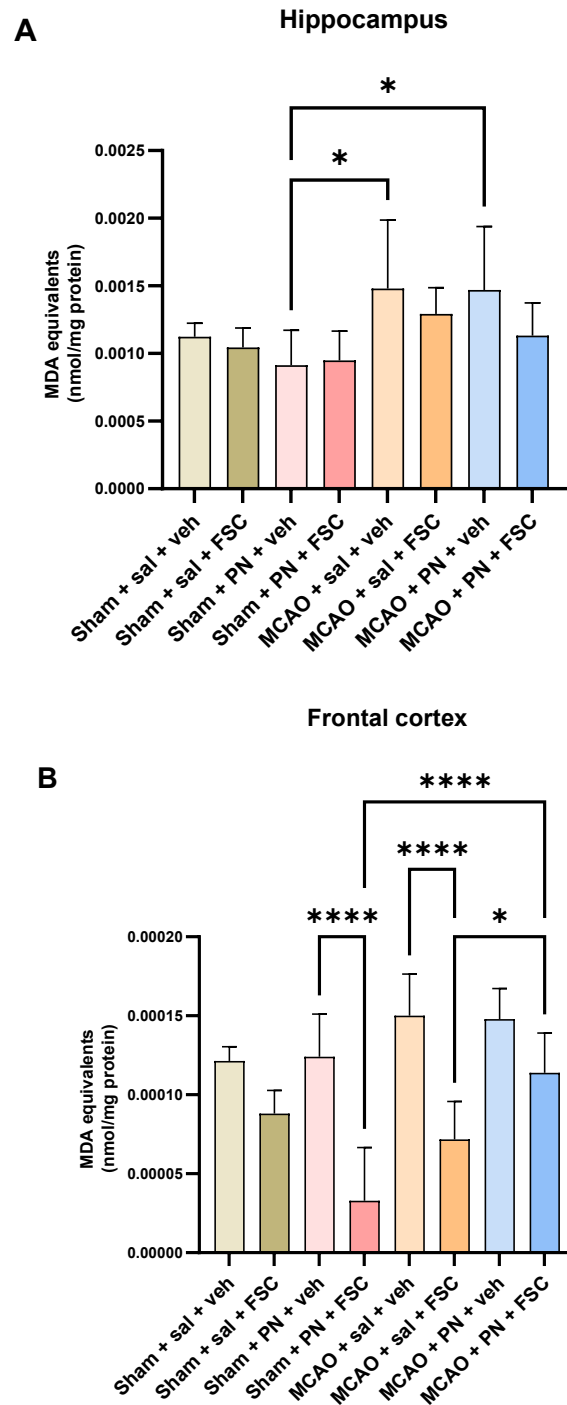


Figura 9. Concentração de nitrito/nitrato nos tecidos: (A) hipocampo, (B) córtex frontal, (C) pulmão. Os dados são expressos como média \pm DP. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, **** $p < 0,0001$.

A peroxidação lipídica, avaliada pela concentração de equivalentes de MDA, foi mensurada no hipocampo, córtex frontal e pulmão. No hipocampo, os níveis de MDA foram significativamente maiores nos grupos MCAO + sal + veh e MCAO + PN + veh comparado a sham + PN + veh (* $p < 0,05$) (Figura 10A). No córtex frontal, o grupo sham+PN+FSC diminuiu em relação ao sham+PN+veh (**** $p < 0,0001$). Houve diminuição significativa no grupo

MCAO + sal + FSC quando comparado ao grupo MCAO + sal + veh (**** $p < 0,0001$). MCAO + PN + FSC apresentou aumento significativo quando comparado ao grupo MCAO + sal + FSC (* $p < 0,05$) e Sham + PN + FSC (**** $p < 0,0001$) (Figura 10B). Em relação ao tecido pulmonar, houve uma diminuição no grupo sham+PN+FSC comparado a sham+sal+veh (** $p < 0,001$) (Figura 10C).



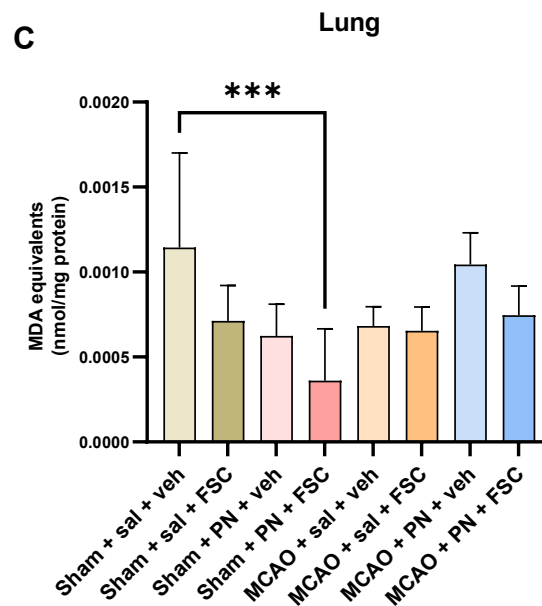
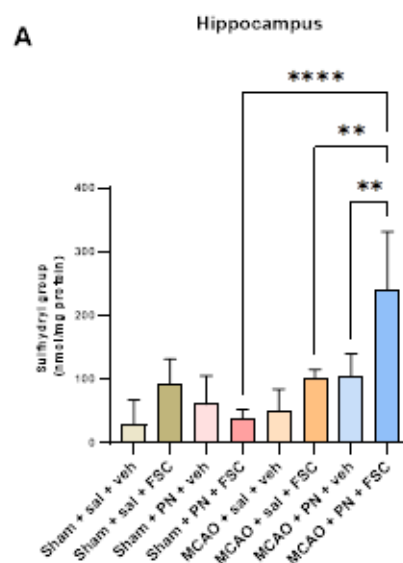


Figura 10. Níveis de MDA (nmol/mg de proteína) nos tecidos: (A) hipocampo, (B) córtex frontal e (C) pulmão. Os dados são expressos como média \pm DP. * $p < 0,05$, *** $p < 0,001$, **** $p < 0,0001$.

Os níveis de grupos sulfidrila foram avaliados no hipocampo, córtex frontal e pulmão. No hipocampo (Figura 11A), houve aumento significativo no grupo MCAO + PN + FSC quando comparado ao grupo MCAO + PN + veh (** $p < 0,01$), MCAO + sal + FSC (** $p < 0,01$) e Sham + PN + FSC (**** $p < 0,0001$). No córtex frontal, observou-se aumento significativo nos níveis de sulfidrila no grupo Sham + PN + FSC em comparação aos grupos Sham + PN + veh (* $p < 0,05$) (Figura 11B). No pulmão, não houve diferenças significativas entre os grupos (Figura 11C).



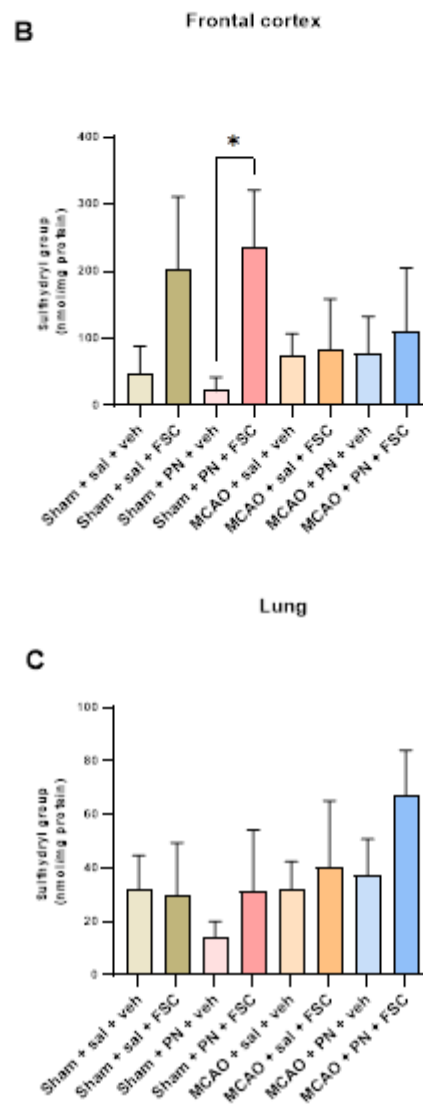
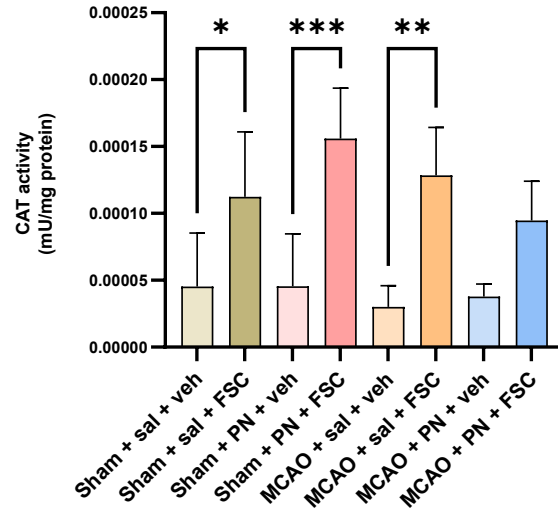
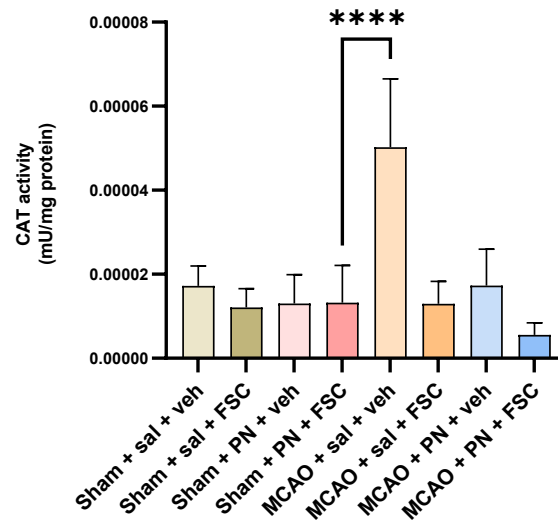


Figura 11. Níveis de grupos sulfidrilas (nmol/mg de proteína) nos tecidos: (A) hipocampo, (B) córtex frontal e (C) pulmão. Os dados são expressos como média \pm DP. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, **** $p < 0,0001$.

Em relação a atividade da enzima antioxidante CAT, no hipocampo, o grupo sham + sal + FSC demonstrou aumento significativo quando comparado ao grupo sham + sal + veh (* $p < 0,05$) assim como um aumento no grupo sham+PN+FSC comparado a sham+PN+veh (** $p < 0,001$) e MCAO+sal+FSC comparado a MCAO+sal+veh (** $p < 0,01$) (Figura 12A). No córtex frontal houve um aumento significativo no grupo MCAO+sal+veh comparado a sham+PN+FSC (**** $p < 0,0001$) (Figura 12B). No pulmão, não foram encontradas diferenças significativas na atividade de CAT entre os grupos experimentais (Figura 12C).

A**Hippocampus****B****Frontal cortex**

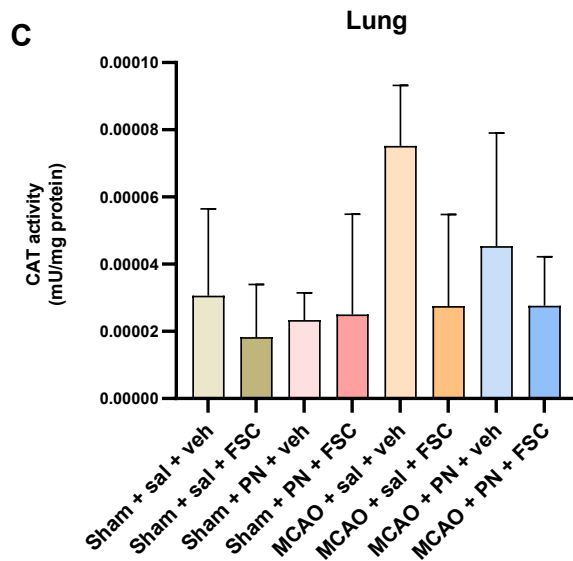
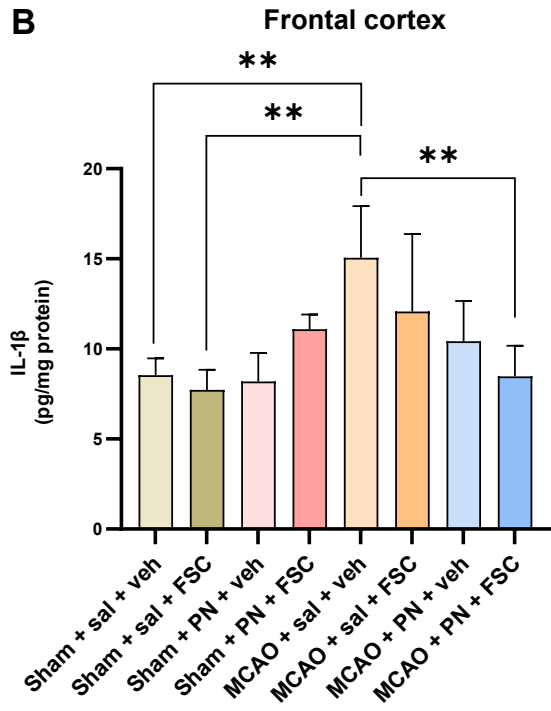
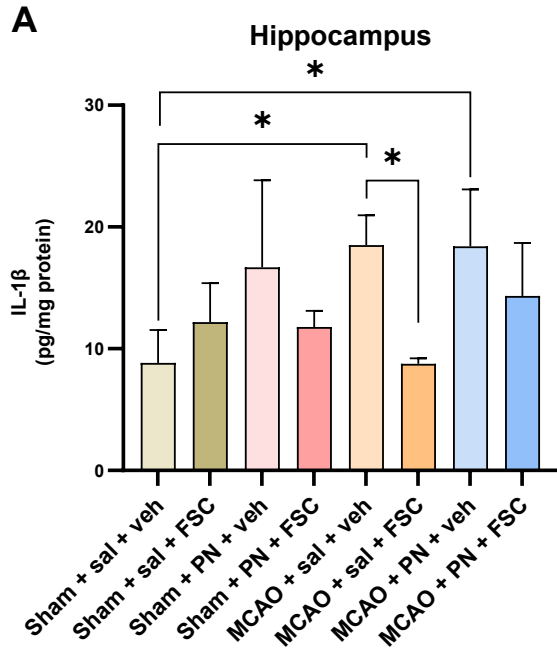


Figura 12. Atividade da enzima catalase (CAT, mU/mg de proteína) nos tecidos: (A) hipocampo, (B) córtex frontal, e (C) pulmão. Os dados são expressos como média \pm DP. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ **** $p < 0,0001$.

Os níveis de IL-1 β foram mensurados no hipocampo, córtex frontal e pulmão. No hipocampo, houve aumento significativo no grupo MCAO + PN + veh quando comparado ao grupo sham + sal + veh (* $p < 0,05$). Houve aumento significativo do grupo MCAO + sal + veh comparado ao grupo sham + sal + veh (* $p < 0,05$). Houve diminuição significativa do grupo MCAO + sal + FSC quando comparado ao MCAO + sal + veh (* $p < 0,05$) e um aumento em MCAO+PN+FSC comparado a sham + sal + veh (* $p < 0,05$) (Figura 13A). No córtex frontal, houve aumento significativo do grupo MCAO + sal + veh quando comparado aos grupos Sham + sal + veh e Sham + sal + FSC (** $p < 0,01$). Ainda, houve diminuição significativa do grupo MCAO + PN + FSC comparado ao grupo MCAO + sal + veh (** $p < 0,01$) (Figura 13B). No pulmão, não houve diferenças significativas entre os grupos (Figura 13C).



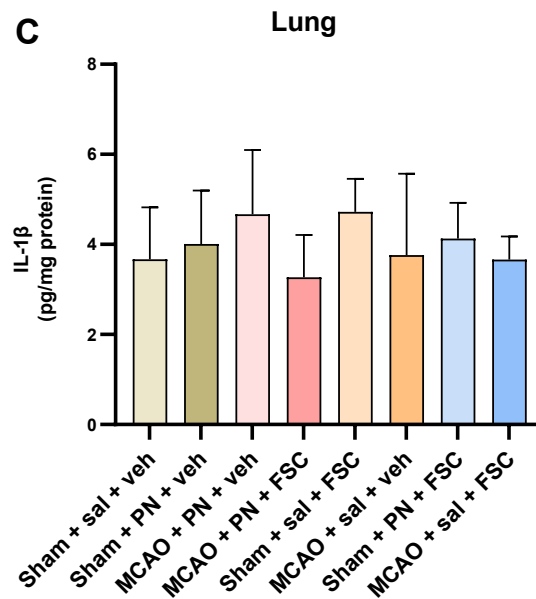
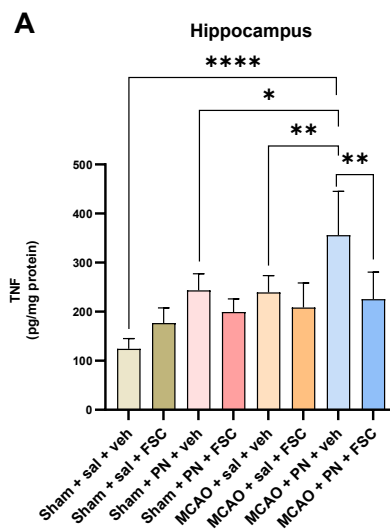


Figura 13. Níveis de IL-1 β (pg/mg de proteína) nos tecidos: (A) hipocampo, (B) córtex frontal e (C) pulmão. Os dados são expressos como média \pm DP.

Os níveis de TNF foram avaliados no hipocampo, córtex frontal e pulmão. No hipocampo, houve aumento significativo no grupo MCAO + PN + veh quando comparado aos grupos sham + sal + veh (**** $p < 0,0001$), sham + sal + FSC (* $p < 0,05$) e MCAO + sal + veh (** $p < 0,01$). Houve também, diminuição significativa no grupo MCAO + PN + FSC quando comparado ao grupo MCAO + PN + veh (** $p < 0,01$) (Figura 14A).

No córtex frontal (Figura 14B) e no pulmão (Figura 14C), não houve diferenças significativas entre os grupos.



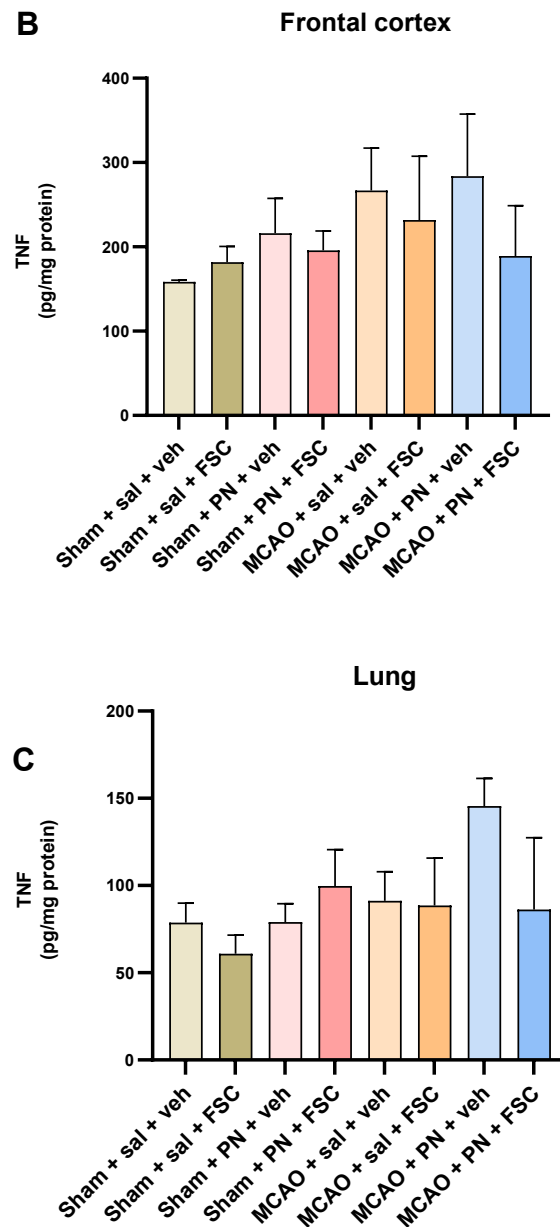
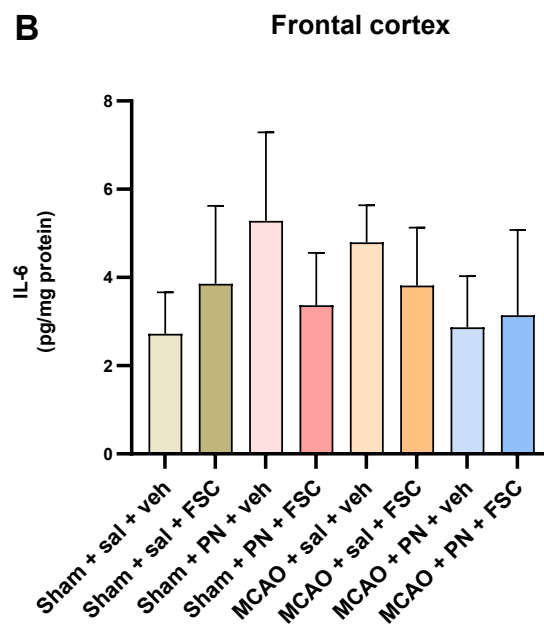
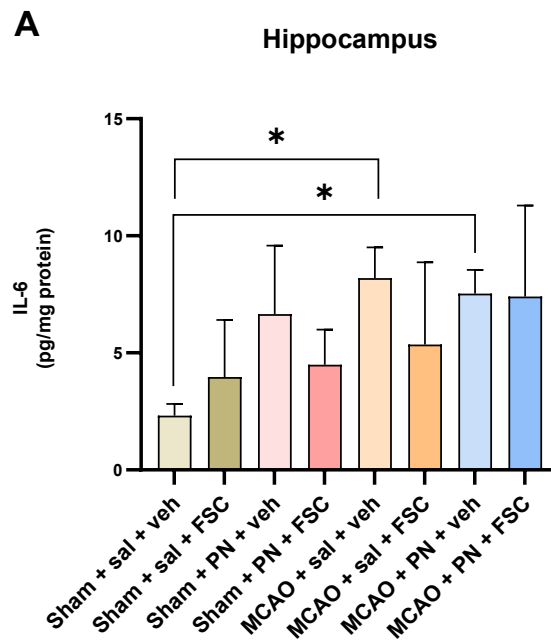


Figura 14. Níveis de TNF (pg/mg de proteína) nos tecidos: (A) hipocampo, (B) córtex frontal e (C) pulmão. Os dados são expressos como média \pm DP. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$.

Os níveis de IL-6 foram mensurados no hipocampo, córtex frontal e pulmão. No hipocampo, os animais do grupo MCAO+sal+veh apresentaram níveis elevados comparados a sham + sal + veh (* $p < 0,05$) além disso, MCAO + PN + veh apresentaram níveis de IL-6 significativamente maiores em comparação ao grupo Sham + sal + veh (* $p < 0,05$) (Figura 15A). No córtex frontal não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos (Figura 15B). No pulmão, houve aumento significativo no grupo sham + PN + veh

comparado ao grupo sham + sal + veh (* $p < 0,05$) e diminuição significativa no grupo sham + PN + FSC comparado ao sham + PN + veh (* $p < 0,05$) (Figura 15C).



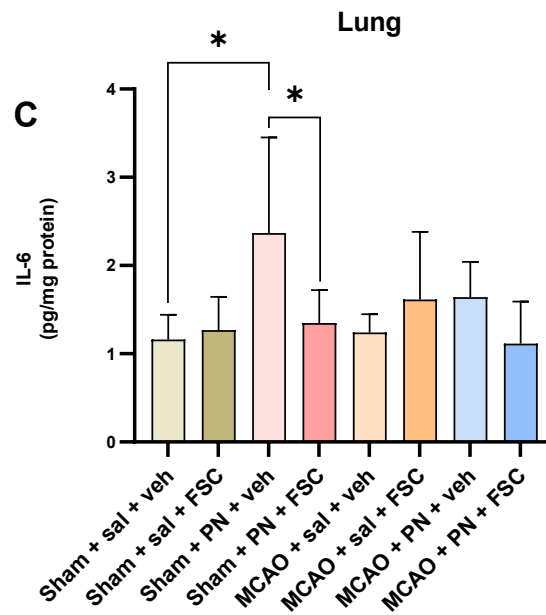
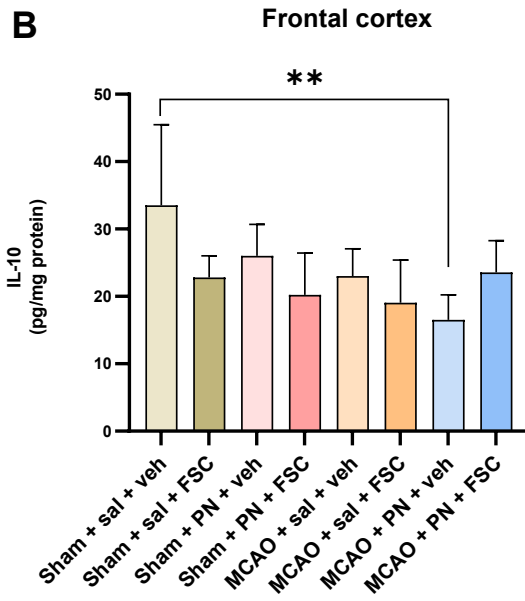
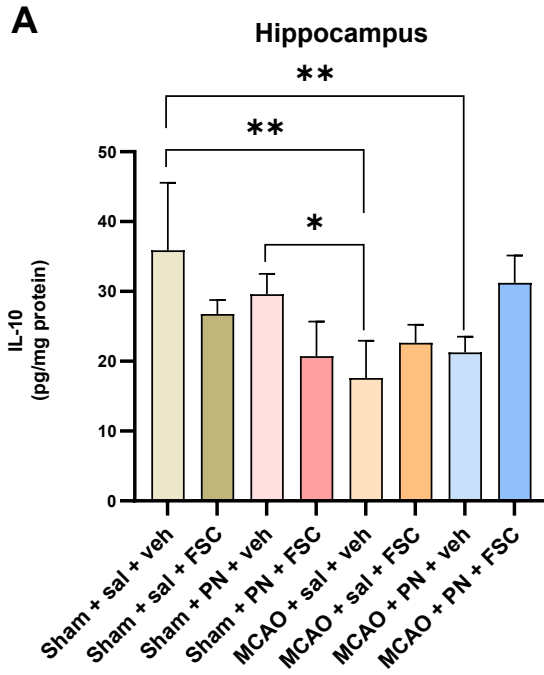


Figura 15. Níveis de IL-6 (pg/mg de proteína) nos tecidos: (A) hipocampo, (B) córtex frontal e (C) pulmão. Os dados são expressos como média \pm DP. * $p < 0,05$.

Os níveis de IL-10 foram mensurados no hipocampo, córtex frontal e pulmão. No hipocampo, os grupos MCAO + sal + veh (** $p < 0,01$) e MCAO + PN + veh (** $p < 0,01$) apresentaram níveis menores que sham + sal + veh. Além disso, o grupo MCAO + sal + veh apresentou níveis significativamente menores de IL-10 quando comparado ao grupo sham + PN + veh (* $p < 0,05$) (Figura 16A).

No córtex frontal, houve diminuição significativa no grupo MCAO + PN + veh quando comparado ao grupo sham + sal + veh (** $p < 0,01$) (Figura 16B). No pulmão, houve aumento significativo no grupo MCAO + sal + FSC comparado ao grupo sham + sal + FSC (* $p < 0,05$) (Figura 16C).



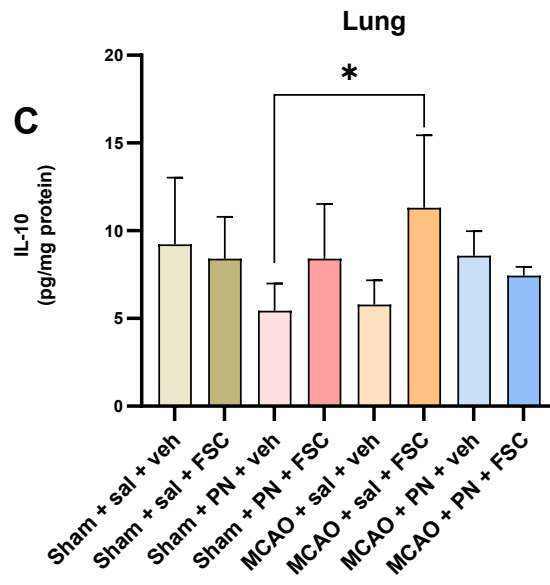


Figura 16. Níveis de IL-10 (pg/mg de proteína) nos tecidos: (A) hipocampo, (B) córtex frontal e (C) pulmão. Os dados são expressos como média \pm DP. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$.

5. DISCUSSÃO

Os achados deste estudo demonstram de forma consistente que a associação entre o AVCi e a pneumonia bacteriana gera uma potencialização substancial do dano sistêmico e neurológico, evidenciada pela tendência a maior comprometimento funcional, pelo aumento do estresse oxidativo e pela intensificação da resposta inflamatória tanto no cérebro quanto no pulmão. A condição de dupla injúria (AVCi + pneumonia) intensificou marcadores clássicos de dano, como elevação de MPO, nitrito/nitrato e MDA, além de um perfil pró-inflamatório exacerbado com aumento de IL-1 β , TNF- α e IL-6, confirmando que a infecção respiratória atua como um segundo gatilho capaz de amplificar a cascata inflamatória iniciada pela isquemia cerebral.

Nesse contexto, o tratamento com FSC atenuou marcadores oxidativos e modulou a resposta inflamatória em todos os grupos tratados. A melhora observada sugere que o FSC exerce ação sistêmica e central, mitigando tanto o impacto da isquemia isolada quanto a exacerbação induzida pela pneumonia, o que reforça seu potencial como estratégia adjuvante para prevenir complicações e limitar a progressão do dano pós-AVCi.

Nos escores neurológicos, observou-se que os animais submetidos ao AVCi, com ou sem pneumonia, apresentaram tendência ao comprometimento funcional ao longo dos dias de avaliação, refletindo o impacto da injúria isquêmica e da condição infecciosa no desempenho neurocomportamental. Importante destacar que o tratamento com FSC promoveu melhora significativa nos dias 3 e 5, indicando um efeito benéfico do extrato ao longo do processo de recuperação funcional. Esses resultados acompanham evidências experimentais que demonstram efeitos positivos de canabinoides sobre desfechos neurológicos pós-isquemia: Meyer et al. (2022) descrevem que o CBD reduz o déficit neurológico em modelo de AVCi, enquanto estudos recentes mostraram que o FSC melhora o score neurológico e modula alterações sistêmicas pós-AVCi (SOUZA STORK, DE et al., 2025).

A pneumonia após AVCi agravou a perda de peso, que foi mitigada pelo tratamento com FSC. Tal achado corrobora com efeitos deletérios descritos de pneumonia sobre estado geral e apetite após AVC, enquanto estudos clínicos preliminares sugerem que CBD pode aumentar o apetite e promover ganho de peso em situações de caquexia ou anorexia associada ao processo inflamatório (HAMMOND et al., 2021; MEYER et al., 2022; SOUZA STORK, DE et al., 2025). Além disso, um estudo confirmou que FSC atenua perda de massa corporal pós-AVCi experimental, sugerindo melhora no estado metabólico e imunológico (SOUZA STORK, DE et al., 2025).

Apesar das alterações fisiológicas esperadas, não foram observadas diferenças estatísticas nos valores de temperatura entre os grupos, sugerindo que nem o AVCi nem a pneumonia alteraram significativamente esse parâmetro sob as condições experimentais adotadas. Esse achado reforça que o modelo experimental e a administração do FSC não provocaram reações sistêmicas críticas relacionadas à regulação da temperatura, o que corrobora a segurança e a estabilidade fisiológica do tratamento.

Não houve diferença no comprimento do baço (cm) entre os grupos experimentais. A ausência de diferenças no comprimento do baço entre os grupos indica que as alterações esplênicas ocorreram principalmente no espessamento tecidual, refletido pelo aumento da área. A área esplênica foi significativamente maior no grupo Sham + PN + FSC em comparação aos grupos submetidos ao AVCi, indicando que a pneumonia representa um forte estímulo de hiperplasia linfóide periférica. Esse padrão é compatível com a resposta bifásica descrita na literatura, em que o baço contrai-se nas primeiras 24–48 horas pós-AVCi e posteriormente reexpande devido à mobilização e redistribuição de esplenócitos (SEIFERT et al., 2012; SIMATS; LIESZ, 2022; VAHIDY et al., 2016). Em modelos de inflamação pulmonar, a reexpansão esplênica pode ser ainda mais acentuada por hiperplasia linfóide e produção aumentada de citocinas, refletindo uma ativação sistêmica robusta (WEI et al., 2022; YU, H. et al., 2021).

No presente estudo, embora o grupo MCAO + PN + FSC tenha apresentado área esplênica menor que o grupo Sham + PN + FSC, essa diferença não se manteve quando comparada ao grupo MCAO + PN não tratado, demonstrando que o FSC não exerceu efeito homogêneo sobre a resposta esplênica no contexto da interação AVCi + pneumonia. Essa ausência de modulação consistente sugere que a hiperplasia esplênica induzida pela infecção pulmonar é um processo estrutural mais amplo, caracterizado por proliferação linfóide e retenção celular, potencialmente menos responsivo aos efeitos anti-inflamatórios do extrato full-spectrum (ATALAY et al., 2020; RUSSO, 2019). Além disso, vias imunológicas associadas a infecções bacterianas como ativação de Receptores do tipo Toll (*Toll-like Receptors* – TLRs) podem não ser completamente suprimidas pelo FSC, o que explicaria a manutenção da expansão esplênica em parte dos grupos experimentais (PERRY & HOLMES, 2014; YU, H. et al., 2021).

O estresse oxidativo é um componente central do dano secundário pós-AVCi, caracterizado por excesso de EROs e ERNs, que levam à peroxidação lipídica, dano proteico e disfunção mitocondrial (MATHIAS; MACHADO; STORK; MARTINS et al., 2024; MATHIAS; MACHADO; STORK; SANTOS, DOS et al., 2024; SIMON MACHADO et al.,

2023, 2024). Além disso, infecções concomitantes, como pneumonia, podem intensificar a produção de EROs sistêmica, ampliando o dano tecidual (SOUZA STORK, DE et al., 2025).

A atividade aumentada de MPO observada no córtex frontal dos animais MCAO + PN + veh indica uma resposta inflamatória exacerbada, caracterizada por maior infiltração de neutrófilos e amplificação da cascata oxidativa. A MPO, além de ser um marcador de ativação neutrofílica, contribui diretamente para o dano tecidual ao gerar EROs e cloração de proteínas, processos que aumentam a disfunção da BHE e pioram o prognóstico após AVCi (DICKERHOF et al., 2020; LIU et al., 2025). O tratamento com FSC resultou em redução significativa da atividade de MPO nessas regiões, sugerindo um efeito anti-inflamatório e antioxidante. Compostos como o canabidiol têm sido descritos por reduzir a atividade de MPO e o estresse oxidativo associado, por meio da modulação da função de neutrófilos, diminuição do estresse respiratório e supressão da formação de armadilhas extracelulares de neutrófilos (NETs) (GÓMEZ et al., 2021; MUJAHID et al., 2025a). O uso de inibidores específicos de MPO como o KYC em modelos de AVC animal reduziu infiltração de neutrófilos, expressão de biomarcadores de oxidativos (Cl-Tyr, nitrotirosina), apoptose, e infarto, resultando em melhor função neurológica (LIN et al., 2024; G. YU et al., 2016). Essas evidências reforçam a ideia de que redução da MPO, seja por inibidores diretos ou compostos anti-inflamatórios como o FSC, contribui para limitar o dano oxidativo e inflamatório após AVC, especialmente em contextos de infecção.

Em relação ao pulmão, a MPO é um marcador central do infiltrado neutrofílico pulmonar e está diretamente associada ao agravamento da inflamação alveolar, aumento da permeabilidade capilar e dano ao epitélio respiratório durante pneumonias graves. Em modelos de AVCi, sabe-se que a imunossupressão pós-isquêmica pode favorecer infecções pulmonares, mas, paradoxalmente, na presença de pneumonia estabelecida ocorre uma resposta inflamatória pulmonar exacerbada, com acúmulo de neutrófilos hiperativados e formação de grandes quantidades de EROs mediadas por MPO (DIRNAGL et al., 2007a; FAURA et al., 2021a). No presente estudo, o tratamento com FSC reduziu significativamente a atividade de MPO no pulmão dos animais, sugerindo que o extrato exerce efeito modulador não apenas sobre a neuroinflamação, mas também sobre a inflamação sistêmica e local no tecido pulmonar. Essa redução pode estar relacionada à capacidade dos fitocanabinoides de atenuar a ativação de neutrófilos e diminuir a produção de mediadores pró-oxidantes via inibição de CB2, modulação de NF- κ B e redução da liberação de NETs, como previamente demonstrado em modelos de inflamação pulmonar e sepse (KAPLAN; RADIC, 2012; WANG, YUPING et al., 2017).

As concentrações elevadas de nitrito/nitrato observadas córtex frontal dos animais submetidos a MCAO + PN sem tratamento, indicam uma acentuada produção de óxido nítrico (NO) e de espécies reativas derivadas, como o peroxinitrito. Essa resposta está associada à ativação do óxido nítrico sintase induzível (iNOS) em condições inflamatórias, que contribui para a disfunção endotelial, amplificação do estresse oxidativo e agravamento da neuroinflamação (WANG et al., 2022). O tratamento com FSC promoveu uma redução significativa nesses níveis, sugerindo que seus componentes bioativos, especialmente o canabidiol, atuam como moduladores negativos da via do NO, possivelmente por meio da inibição da iNOS e do bloqueio da formação de peroxinitrito. Essa modulação contribui para a preservação da integridade vascular e para a redução do dano oxidativo e inflamatório tecidual (KICMAN; TOCZEK, 2020; MUKHOPADHYAY et al., 2011).

No tecido pulmonar, o padrão observado para nitrito/nitrato indica que a combinação entre AVCi e pneumonia também desencadeia uma resposta nitrosativa exacerbada, embora com características distintas daquelas registradas no córtex frontal. O aumento dos níveis de nitrito/nitrato nos animais MCAO + PN reflete a ativação pulmonar da via do óxido nítrico, que é um mecanismo clássico de resposta a infecções bacterianas respiratórias e está associado à indução marcante de iNOS em células imunes e no epitélio alveolar (GHOSH; JOSEPH; ANIL, 2022; RICCIARDOLO et al., 2004). Em modelos de pneumonia, a produção intensa de NO e de peroxinitrito contribui para o aumento da permeabilidade vascular, dano epitelial, recrutamento neutrofílico e comprometimento da função pulmonar. Além disso, quando a pneumonia ocorre em um organismo previamente submetido ao AVCi, o estado de imunodesregulação pós-isquêmica favorece tanto a hiporreatividade inicial quanto picos subsequentes de hiperprodução de NO, ampliando a instabilidade pulmonar e a vulnerabilidade ao dano oxidativo (DIRNAGL et al., 2007b; FAURA et al., 2021b)

Diferentemente do que foi observado no córtex frontal, o tratamento com FSC não reduziu de forma significativa os níveis pulmonares de nitrito/nitrato nos animais MCAO + PN. Essa ausência de modulação sugere que a via nitrosativa pulmonar induzida pela pneumonia bacteriana apresenta um caráter mais robusto e resistente à ação do extrato, uma vez que a indução de iNOS no pulmão em infecções agudas é intensamente dependente de estímulos mediados por TLR4, NF- κ B e citocinas como IL-1 β , TNF- α e IFN- γ (BOGDAN, 2015; KLEINERT; SCHWARZ; FÖRSTERMANN, 2003). Em contrapartida, a ação do canabidiol e de outros compostos do FSC sobre iNOS e NO parece ser mais efetiva em condições de inflamação estéril ou moderada, não necessariamente conseguindo suprimir a produção maciça de NO desencadeada por um agente infeccioso altamente pró-inflamatório, como o

Staphylococcus aureus utilizado no modelo de pneumonia (KAPLAN; RADIC, 2012; WANG, YUPING et al., 2017).

No que se refere ao dano oxidativo, a peroxidação lipídica é um marcador importante de lesão celular, resultante da ação combinada de EROs e ERNs, frequentemente associadas tanto à inflamação sistêmica quanto à neuroinflamação (MATHIAS; MACHADO; STORK; SANTOS DOS et al., 2024; NETTO et al., 2018). Nesse contexto, os níveis de MDA revelaram um padrão regionalmente distinto. No hipocampo, o AVCi promoveu um aumento mais pronunciado de peroxidação lipídica em comparação à pneumonia, indicando um maior comprometimento oxidativo decorrente da lesão isquêmica. No córtex frontal, o padrão de peroxidação lipídica observado revela um comportamento distinto daquele do hipocampo, indicando que essa região apresenta maior resistência à intensificação do dano oxidativo quando submetida a múltiplos desafios inflamatórios. A ausência de aumento adicional nos níveis de MDA quando o AVCi foi associado à pneumonia sugere que o córtex frontal possui mecanismos endógenos de compensação mais eficientes, capazes de limitar a formação excessiva de EROs e ERNs mesmo diante de uma condição de dupla injúria. Estudos prévios mostram que áreas corticais apresentam maior capacidade antioxidante basal, maior expressão de enzimas protetoras e menor vulnerabilidade a flutuações abruptas de cálcio e excitotoxicidade, características que reduzem a propensão ao dano oxidativo ampliado (CRIVELLO et al., 2007).

Adicionalmente, o efeito protetor observado com o FSC tanto nos animais submetidos ao AVCi quanto naqueles expostos à pneumonia isoladamente reforça a responsividade do córtex frontal à modulação antioxidante. Outra possibilidade é que o córtex frontal, por apresentar maior perfusão colateral e menor vulnerabilidade metabólica em comparação ao hipocampo, responda de maneira mais eficiente à intervenção farmacológica. Regiões corticais possuem maior densidade de vasos colaterais e maior capacidade de redistribuir fluxo sanguíneo após a isquemia, reduzindo a hipóxia tecidual e, conseqüentemente, a produção de EROs. Nesse cenário, o FSC pode potencializar mecanismos antioxidantes já presentes nessa região, tornando mais evidente sua ação protetora frente aos insultos isolados de AVCi ou pneumonia.

Considerando esses achados relacionados à peroxidação lipídica e ao comportamento regional do dano oxidativo, torna-se igualmente relevante avaliar marcadores que reflitam o estado antioxidante do tecido, especialmente aqueles relacionados à integridade de proteínas e ao sistema redox intracelular. Assim, observou-se aumento significativo nos níveis de grupos sulfidrila no hipocampo dos animais tratados com FSC com as duas injúrias associadas assim

como no córtex frontal quando submetido a pneumonia, indicando preservação ou regeneração dos grupos tiol livres. Grupos sulfidrila ($-SH$), como os presentes na glutathiona reduzida (GSH) e em proteínas cisteínicas, são componentes cruciais do sistema de defesa antioxidante celular e atuam como sensores de estresse redox (AKSENOV; MARKESBERY, 2001b; JONES, 2006; WU; JAN, 2010). O esgotamento dessas reservas indica estresse oxidativo acelerado, típico de lesões isquêmicas associadas a infecção (como pneumonia) que promove oxidação de resíduos tiol. Outro estudo demonstrou que o extrato de *C. sativa* aumentou a atividade de CAT, e preservou as reservas de GSH em cérebro de camundongos submetidos a estresse oxidativo induzido por alumínio (KUBILIENE et al., 2021). Revisões atuais apontam que CBD e outros cannabinoídes ativam a via Nrf2/ARE, promovendo expressão de proteínas antioxidantes e estabilização de grupos tiol, além de reduzir marcadores de oxidação (como 4-HNE e carbonilação) (HUANG, C. et al., 2025; JASTRZĄB et al., 2021; JÎTCĂ et al., 2023).

A CAT é uma enzima essencial na defesa antioxidante, encarregada de decompor o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) em água e oxigênio, evitando a formação de radicais hidroxila altamente tóxicos. Seu aumento representa uma resposta adaptativa ao estresse oxidativo e sinaliza ampliação da defesa enzimática endógena (MATHIAS; MACHADO; CARDOSO et al., 2024). O aumento da atividade de CAT observado no hipocampo dos grupos tratados com FSC sugere que o óleo de espectro completo ativa mecanismos antioxidantes endógenos em resposta ao estresse oxidativo pós-AVCi ou pneumonia. Isso reflete a capacidade do FSC de estimular a decomposição de H_2O_2 , reduzindo o acúmulo de radicais reativos que danificam estruturas celulares. Esses dados estão em consonância com os achados que demonstraram que a administração intracerebral de CBD em modelo de AVCi aumenta significativamente a CAT e SOD, concomitante à redução do volume infarto e da peroxidação lipídica (KHAKSAR et al., 2022; RAÏCH et al., 2024; YAN et al., 2023). Além disso, uma meta-análise recente conduzida por Alraddadi et al. (2025) confirmou que o uso de cannabinoídes é associado ao aumento consistente da atividade de CAT e redução de lesão cerebral em diferentes modelos experimentais de AVC (ALRADDADI et al., 2025). O padrão observado aumento localizado de CAT no hipocampo, sem alterações significativas nos demais tecidos sugere que a ação do FSC pode ser específica tecidual ou dependente da intensidade de estresse redox. Essa seletividade pode refletir diferenças na biodisponibilidade, no microambiente inflamatório ou na expressão de receptores de cannabinoídes entre os tecidos.

A ampliação da atividade antioxidante enzimática observada no hipocampo com o FSC sugere que o extrato não apenas modula o estresse oxidativo diretamente, mas também interfere na dinâmica inflamatória subsequente, uma vez que processos oxidativos e inflamatórios são

interdependentes no contexto do AVCi. A ativação de sistemas antioxidantes, como a CAT, está intimamente relacionada à regulação de vias inflamatórias, sobretudo porque o acúmulo de H₂O₂ e radicais hidroxila atua como sinalizador para a ativação de NF-κB e outras vias pró-inflamatórias (FORRESTER et al., 2018; MORGAN; LIU, 2011). Dessa forma, ao reduzir a disponibilidade de H₂O₂ e limitar a formação de EROs altamente reativas, o FSC pode atenuar a ativação de microglia e macrófagos, diminuindo a liberação de citocinas como IL-1β.

A IL-1β é uma citocina pró-inflamatória central na resposta ao AVCi, sendo expressa precocemente por microglia, macrófagos e células endoteliais, e contribuindo para a exacerbação da inflamação, disfunção da BHE e comprometimento neurológico associado (SOBOWALE et al., 2016). É importante ressaltar que os modelos experimentais demonstram que a IL-1β aumenta precocemente após a isquemia e contribui para a amplificação da inflamação neurovascular, enquanto intervenções que bloqueiam sua ação (como o antagonista IL-1Ra) atenuam significativamente o volume do infarto e melhoram os desfechos (BOUTIN et al., 2001; MCCANN et al., 2016; SOBOWALE et al., 2016), indo de acordo com os resultados, que demonstraram um aumento de IL-1β nos animais submetidos ao AVCi no hipocampo e córtex frontal com uma diminuição principalmente no hipocampo em animais tratados com FSC. O hipocampo, por apresentar maior vulnerabilidade metabólica e maior densidade de microglia reativa após a isquemia, tende a exibir uma resposta inflamatória mais robusta, o que também significa maior responsividade a intervenções que atuam sobre vias de sinalização, como NF-κB, PPAR-γ e receptores canabinoides modulados por componentes do FSC (ATALAY; JAROCKA-KARPOWICZ; SKRZYDLEWSKA, 2019; MUJAHID et al., 2025b). Assim, a redução de IL-1β no hipocampo indica que o extrato foi capaz de atenuar a neuroinflamação na região mais sensível ao dano isquêmico, enquanto no córtex o efeito pode ter sido menos evidente devido a uma menor ativação basal da cascata inflamatória ou a um perfil microglial menos reativo.

Isso vem de encontro com os resultados de TNF no hipocampo, onde somente o grupo com as duas injúrias associadas apresentou aumento com a redução dos níveis de TNF no grupo com tratamento FSC modulando positivamente a resposta inflamatória sistêmica desencadeada pela pneumonia associada ao AVCi. Essa ação anti-inflamatória pode proteger contra complicações respiratórias e contribuir para menor estresse oxidativo. O TNF é uma citocina pró-inflamatória central no início da cascata inflamatória pós-AVCi, produzida por microglia, macrófagos e neutrófilos, contribuindo para a disfunção da BHE, edema cerebral e progressão do infarto (CLAUSEN et al., 2020; JAYARAJ et al., 2019).

Intervenções que bloqueiam o TNF ou seus receptores (como XPro1595 ou antagonistas de TNFR) têm reduzido volume do infarto e melhorado desfechos neurológicos em modelos experimentais (FERNÁNDEZ-LÓPEZ et al., 2012; YLI-KARJANMAA et al., 2019a). Recentemente, demonstraram que o antagonista seletivo do receptor de TNF (R-7050) ofereceu neuroproteção significativa em modelo de AVC permanente em ratos, reduzindo edema, volume de infarto, estresse oxidativo e hiperexpressão de IL-6 (Lin, S.-Y. et al., 2021). Além disso, revisões recentes enfatizam que a inibição seletiva do TNF solúvel (solTNF) reduz resistência vascular, degradação da BHE e lesão neuronal, sugerindo que o FSC pode atuar por mecanismos similares (bloqueio de solTNF/NF- κ B) (THOUGAARD et al., 2025; YLI-KARJANMAA et al., 2019b).

Em relação a IL-6, é uma citocina multifuncional com papel proeminente na resposta inflamatória pós-AVCi, produzida por microglia, macrófagos, células endoteliais e leucócitos infiltrais. Ela está implicada tanto na amplificação da inflamação quanto em processos neuroprotetores, como angiogênese e reparo celular (HUANG, X. et al., 2024; SRIVASTAVA et al., 2014). No hipocampo, foi observado aumento significativo dos níveis de IL-6 nos animais do grupo de MCAO associado a PN ou não quando comparado aos grupos Sham + sham + veh. Visto que a sinalização celular de IL-6 depende do estímulo conjunto de IL-1 β e TNF (CONFALONE; D'ALESSIO; FURIA, 2010) os resultados anteriores no hipocampo direcionam para o que foi observado nos níveis de IL-6.

No pulmão, o padrão observado foi distinto daquele do tecido cerebral, com aumento significativo de IL-6 apenas nos animais submetidos à pneumonia, independentemente da ocorrência prévia de AVCi. Esse comportamento é compatível com o papel central da IL-6 como mediadora chave da resposta inflamatória pulmonar aguda, especialmente em infecções bacterianas, nas quais sua produção é rapidamente induzida por macrófagos alveolares, células epiteliais e neutrófilos ativados em resposta à sinalização via TLRs e citocinas como IL-1 β e TNF. Em modelos de pneumonia, o aumento de IL-6 está diretamente associado à amplificação da inflamação local, recrutamento celular e aumento da permeabilidade alveolar, contribuindo para a gravidade da lesão pulmonar. No presente estudo, o fato de esse aumento ter sido revertido pelo tratamento com FSC sugere que o extrato exerce efeito modulador sobre a resposta inflamatória respiratória, reduzindo a hipersinalização pró-inflamatória típica da pneumonia. Esse efeito é coerente com evidências que demonstram que compostos presentes no extrato full-spectrum, como canabidiol e terpenos bioativos, atenuam a ativação de vias como NF- κ B e JAK/STAT3, reduzindo a produção de IL-6 em modelos de inflamação sistêmica e pulmonar (MUTHUMALAGE; RAHMAN, 2019; VUOLO et al., 2019).

Considerando esse cenário inflamatório marcado pela elevação de citocinas pró-inflamatórias, torna-se essencial avaliar também os componentes reguladores da resposta imunológica que atuam na contenção dessa ativação exacerbada. Nesse contexto, a IL-10 desempenha papel central como principal citocina anti-inflamatória do eixo neuroimune, sendo responsável por limitar a produção de mediadores pró-inflamatórios, modular a ativação microglial e reduzir o dano tecidual secundário após a isquemia. Assim, a análise dos níveis de IL-10 permite compreender se ocorreu um contrabalanço compensatório à inflamação observada, revelando como o cérebro e os tecidos periféricos tentam restabelecer a homeostase frente aos insultos de AVCi e pneumonia, bem como a possível interferência do tratamento com FSC nesse equilíbrio. Produzida por células como microglia, macrófagos e Tregs, a IL-10 regula negativamente a produção de citocinas pró-inflamatórias e protege o tecido cerebral e vascular de lesões secundárias (GARCIA et al., 2017; PIEPKE et al., 2021). Estudos com camundongos deficientes em IL-10 mostraram que apresentam volume significativamente maior de infarto, atrofia cerebral mais extensa e pior recuperação neurológica, especialmente entre os dias 3 e 7 após o AVC (PIEPKE et al., 2021).

A redução significativa de IL-10 observada nas estruturas cerebrais nos animais submetidos MCAO + PN destaca uma deficiência na resposta anti-inflamatória local em pneumonia após AVCi. Esse déficit pode agravar a evolução da neuroinflamação e contribuir para maior lesão tecidual. Esse achado é coerente com dados de modelos animais: camundongos deficientes em IL-10 manifestam maior volume de infarto, atrofia e pior recuperação neurológica (PIEPKE et al., 2021). A ação de IL-10 para conter citocinas como IL-17A e TNF- α — via regulação de Tregs e microglia — reduz a neuroinflamação e preserva a BHE (PIEPKE et al., 2021; SOUZA STORK, DE et al., 2025). Em humanos, níveis muito elevados de IL-10 precocemente podem levar à imunossupressão e aumentar risco de infecções pós-AVCi, algo que reforça a importância de regulação temporal e regional dos níveis de IL-10 (LAMBERTSEN; FINSEN; CLAUSEN, 2019). No entanto o tratamento com FSC não restaurou os níveis de IL-10. A ausência de restauração dos níveis de IL-10 após o tratamento com FSC pode estar relacionada ao fato de que a modulação exercida pelo extrato atua predominantemente na contenção de vias pró-inflamatórias e oxidativas, e não necessariamente na indução direta de citocinas anti-inflamatórias. Estudos mostram que compostos presentes no extrato full-spectrum, como canabinoides e terpenos, reduzem a produção de mediadores como IL-1 β , TNF- α e IL-6 principalmente por mecanismos de inibição de NF- κ B, diminuição da ativação microglial e redução do estresse oxidativo, mas não promovem de forma robusta a indução de IL-10, especialmente em condições inflamatórias graves ou combinadas, como

AVCi associado à pneumonia (ATALAY; JAROCKA-KARPOWICZ; SKRZYDLEWSKA, 2019b).

Em síntese, os achados deste estudo demonstram que a interação entre AVC isquêmico e pneumonia bacteriana desencadeia uma resposta inflamatória e oxidativa intensificada, ampliando o dano sistêmico e cerebral. Embora o FSC tenha atenuado múltiplos desfechos patológicos — especialmente no hipocampo e no tecido pulmonar — sua ação não foi capaz de restaurar plenamente mecanismos anti-inflamatórios como os mediados por IL-10, reforçando que a injúria combinada representa um desafio biológico complexo e de difícil modulação. Dessa forma, o estudo evidencia tanto o potencial terapêutico do FSC na contenção do dano secundário quanto a necessidade de intervenções combinadas e de maior especificidade imunometabólica para o manejo da condição pós-AVCi.

Este estudo apresenta limitações inerentes ao modelo experimental pré-clínico, uma vez que foi conduzido em ratos Wistar jovens e saudáveis, o que não reproduz integralmente o perfil clínico típico de pacientes com AVCi, frequentemente idosos e portadores de comorbidades. Além disso, o período de avaliação concentrou-se na fase aguda e subaguda, não permitindo inferências sobre desfechos crônicos e recuperação funcional a longo prazo. Outra limitação refere-se à complexidade da interação entre AVCi e pneumonia bacteriana. Embora tenham sido avaliados importantes marcadores inflamatórios e oxidativos, outros eixos regulatórios relevantes como vias celulares específicas, análise molecular aprofundada, dentre outras análises, não foram exploradas. Da mesma forma, a ausência de restauração dos níveis de IL-10 sugere que o FSC pode não modular plenamente mecanismos anti-inflamatórios regulatórios, indicando que intervenções combinadas possam ser necessárias.

Por outro lado, o estudo apresenta importantes potencialidades. Trata-se de um modelo experimental inovador que integra lesão cerebral isquêmica e infecção pulmonar bacteriana, aproximando-se de uma condição clínica frequentemente observada em pacientes com AVCi. A avaliação concomitante de parâmetros centrais e periféricos fortalece a compreensão da interação cérebro-sistema imune e amplia a relevância translacional dos achados. Além disso, a investigação do FSC representa um avanço conceitual ao considerar a complexidade farmacológica dos derivados da *Cannabis*, aproximando-se da prática clínica real. Os resultados reforçam o potencial do FSC como estratégia adjuvante capaz de modular múltiplos alvos da resposta neuroimune, especialmente em tecidos altamente vulneráveis como o hipocampo e o pulmão, sustentando futuras investigações.

6. CONCLUSÃO

Em conjunto, os achados deste estudo demonstram que o AVCi associado à pneumonia desencadeia uma resposta inflamatória e oxidativa mais complexa e desregulada, particularmente evidente no hipocampo e nos tecidos periféricos, refletindo a interação entre a lesão cerebral e a inflamação sistêmica. A elevação de MPO, nitrito/nitrato, IL-1 β e IL-6, associada à redução de IL-10, indica um ambiente neuroimune desbalanceado que favorece a progressão do dano secundário pós-isquemia. Embora o FSC tenha modulado vários desses componentes reduzindo estresse oxidativo, atenuando citocinas pró-inflamatórias e normalizando marcadores importantes no pulmão, seus efeitos foram regionais e incompletos, com maior impacto no hipocampo e em parâmetros oxidativos, mas observou-se limitações em restaurar plenamente mecanismos reguladores, como IL-10. Esses resultados reforçam que, apesar do potencial anti-inflamatório e antioxidante do FSC, a dupla injúria AVCi + pneumonia cria um cenário de alta complexidade biológica no qual respostas compensatórias podem ser insuficientes para reequilibrar completamente o eixo cérebro–sistema imune periférico. Assim, o estudo evidencia tanto a gravidade da interação entre isquemia e infecção quanto a necessidade de intervenções terapêuticas capazes de atuar simultaneamente em múltiplos alvos da resposta neuroimune.

Como perspectiva, os achados contribuem para o avanço do conhecimento sobre o papel da coinfeção em complicações pós-AVC e sustentam a investigação contínua de compostos derivados da *Cannabis* como possíveis estratégias adjuvantes. Estudos futuros, com modelos clínicos e mecanismos celulares mais aprofundados, são recomendados para validar a aplicabilidade translacional dos resultados aqui apresentados.

REFERÊNCIAS

- ABDULLAHI, W.; TRIPATHI, D.; RONALDSON, P. T. Blood-brain barrier dysfunction in ischemic stroke: targeting tight junctions and transporters for vascular protection. **American Journal of Physiology-Cell Physiology**, [s.l.], v. 315, n° 3, p. C343–C356, 2018. ISSN: 0363-6143, DOI: 10.1152/ajpcell.00095.2018.
- ABRAHAM, E.; ARCAROLI, J.; SHENKAR, R. Activation of Extracellular Signal-Regulated Kinases, NF- κ B, and Cyclic Adenosine 5'-Monophosphate Response Element-Binding Protein in Lung Neutrophils Occurs by Differing Mechanisms After Hemorrhage or Endotoxemia. **The Journal of Immunology**, [s.l.], v. 166, n° 1, p. 522–530, 2001. ISSN: 0022-1767, DOI: 10.4049/jimmunol.166.1.522.
- AEBI, H. Catalase in vitro. **Methods in Enzymology**, [s.l.], v. 105, p. 121–126, 1984. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(84\)05016-3](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(84)05016-3).
- AKSENOV, M. Y.; MARKESBERY, W. R. Changes in thiol content and expression of glutathione redox system genes in the hippocampus and cerebellum in Alzheimer's disease. **Neuroscience Letters**, [s.l.], v. 302, n° 2–3, p. 141–145, 2001. ISSN: 03043940, DOI: 10.1016/S0304-3940(01)01636-6.
- ALQAHTANI, B. A. et al. Incidence of stroke among Saudi population: a systematic review and meta-analysis. **Neurological Sciences**, [s.l.], v. 41, n° 11, p. 3099–3104, 2020. ISSN: 1590-1874, DOI: 10.1007/s10072-020-04520-4.
- ALRADDADI, E. A. et al. The Effects of Cannabinoids on Ischemic Stroke-Associated Neuroinflammation: A Systematic Review. **Journal of Neuroimmune Pharmacology**, 2012. <https://doi.org/10.1007/s11481-025-10171-z>
- AMANZADA, A.; AHMED, I. Myeloperoxidase and elastase are only expressed by neutrophils in normal and in inflamed liver. **Histochem Cell Biol**, [s.l.], v. 135, n° 3, p. 305–315, 2011. ISBN: 0041801107871, DOI: 10.1007/s00418-011-0787-1.
- ANDRABI, S. S.; PARVEZ, S.; TABASSUM, H. Ischemic stroke and mitochondria: mechanisms and targets. **Protoplasma**, [s.l.], v. 257, n° 2, p. 335–343, 2020. ISSN: 16156102, DOI: 10.1007/s00709-019-01439-2.
- ANSARI, J.; GAVINS, F. N. E. Neutrophils and platelets: Immune soldiers fighting together in stroke pathophysiology. **Biomedicines**, [s.l.], v. 9, n° 12, 2021. ISSN: 22279059, DOI: 10.3390/biomedicines9121945.
- ANUPAMA UPADYA, NATALYA THOREVSKA, KANAGA N SENA, CONSTANTINE MANTHOUS, Y. A.-A. Predictors and Consequences of Pneumonia in Critically Ill Patients With Stroke. **J Crit Care**, [s.l.], v. 19, n° 1, p. 16–22, 2004. DOI: 10.1016/j.jcrc.2004.02.004.
- AO, L. et al. Immune Cells After Ischemic Stroke Onset: Roles, Migration, and Target Intervention. **Journal of Molecular Neuroscience**, [s.l.], v. 66, n° 3, p. 342–355, 2018. ISSN: 1559-1166, DOI: 10.1007/s12031-018-1173-4.

ATALAY E, S., GĘGOTEK, A., & SKRZYDLEWSKA, E. The molecular activity of cannabidiol in the regulation of Nrf2 system interacting with NF-κB pathway under oxidative stress. **Redox Biology**, 57, 102489, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2022.102489>.

ATALAY, S., JAROCKA-KARPOWICZ, I., & SKRZYDLEWSKA, E. (). Antioxidative and Anti-Inflammatory Properties of Cannabidiol. **Antioxidants**, 9(1), 21, 2019. <https://doi.org/10.3390/antiox9010021>.

BEDERSON, J. B. et al. Rat middle cerebral artery occlusion: Evaluation of the model and development of a neurologic examination. **Stroke**, [s.l.], v. 17, n° 3, p. 472–476, 1986. ISSN: 15244628, DOI: 10.1161/01.STR.17.3.472.

BONFANTE, S. et al. Stanniocalcin-1 ameliorates cerebral ischemia by decrease oxidative stress and blood brain barrier permeability. **Microvascular Research**, [s.l.], v. 128, p. 103956, 2020. ISSN: 0026-2862, DOI: 10.1016/J.MVR.2019.103956.

BOUTIN, H. et al. Role of IL-1α and IL-1β in Ischemic Brain Damage. **The Journal of Neuroscience**, 21(15), 5528–5534, 2001. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.21-15-05528.2001>.

BR, C. B. D. HealthyCann. HealthyCann. 2022. Disponível em: <<https://healthycannbr.com/>>.

BRÄMER, D. et al. Very Low Frequency Heart Rate Variability Predicts the Development of Post-Stroke Infections. **Transl Stroke Res**, [s.l.], v. 10, n° 6, p. 607–619, 2019. DOI: 10.1007/s12975-018-0684-1.

CAI, P. Y. et al. Vagus nerve stimulation in ischemic stroke: old wine in a new bottle. **Front Neurol**, [s.l.], v. 5, n° June, p. 1–8, 2014. DOI: 10.3389/fneur.2014.00107.

CAMPOS, A. C. et al. Cannabidiol increases survival and promotes rescue of cognitive function in a murine model of cerebral malaria. **Neuroscience**, 289, 166–180, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2014.12.051>

CANDELARIO-JALIL, E.; PAUL, S. Impact of aging and comorbidities on ischemic stroke outcomes in preclinical animal models: A translational perspective. **Experimental Neurology**, [s.l.], v. 335, p. 113494, 2021a. ISSN: 00144886, DOI: 10.1016/j.expneurol.2020.113494.

_____. Impact of aging and comorbidities on ischemic stroke outcomes in preclinical animal models: A translational perspective. **Experimental Neurology**, [s.l.], v. 335, p. 113494, 2021b. ISSN: 00144886, DOI: 10.1016/j.expneurol.2020.113494.

CATANIA, A. et al. Detrimental consequences of brain injury on peripheral cells. **Brain, Behavior, and Immunity**, [s.l.], v. 23, n° 7, p. 877–884, 2009. ISSN: 08891591, DOI: 10.1016/j.bbi.2009.04.006.

CHEN, H.; HE, Y.; CHEN, S.; QI, S.; SHEN, J. et al. Therapeutic targets of oxidative / nitrosative stress and neuroinflammation in ischemic stroke : Applications for natural product

efficacy with omics and systemic biology. **Pharmacological Research**, [s.l.], v. 158, n° May, p. 104877, 2020. ISSN: 1043-6618, DOI: 10.1016/j.phrs.2020.104877.

_____. Therapeutic targets of oxidative/nitrosative stress and neuroinflammation in ischemic stroke: Applications for natural product efficacy with omics and systemic biology. **Pharmacological Research**, [s.l.], v. 158, p. 104877, 2020. ISSN: 10436618, DOI: 10.1016/j.phrs.2020.104877.

CHEN, J. et al. Therapeutic benefit of intravenous administration of bone marrow stromal cells after cerebral ischemia in rats. **Stroke**, [s.l.], v. 32, n° 4, p. 1005–1011, 2001a. ISSN: 00392499, DOI: 10.1161/01.STR.32.4.1005.

_____. Therapeutic Benefit of Intravenous Administration of Bone Marrow Stromal Cells After Cerebral Ischemia in Rats. **Stroke**, [s.l.], v. 32, n° 4, p. 1005–1011, 2001b. ISSN: 0039-2499, DOI: 10.1161/01.STR.32.4.1005.

CHEN, W.; LI, D. Reactive Oxygen Species (ROS)-Responsive Nanomedicine for Solving Ischemia-Reperfusion Injury. **Frontiers in Chemistry**, [s.l.], v. 8, n° August, p. 1–7, 2020. ISSN: 22962646, DOI: 10.3389/fchem.2020.00732.

CHEN, Z. et al. Brain-Derived Microparticles (BDMPs) Contribute to Neuroinflammation and Lactadherin Reduces BDMP Induced Neuroinflammation and Improves Outcome After Stroke. **Frontiers in Immunology**, [s.l.], v. 10, 2019. ISSN: 1664-3224, DOI: 10.3389/fimmu.2019.02747.

CHENG, Y.-C. et al. Polyphenols and Oxidative Stress in Atherosclerosis-Related Ischemic Heart Disease and Stroke. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, [s.l.], v. 2017, n° 1, 2017. ISSN: 1942-0900, DOI: 10.1155/2017/8526438.

CHI, C. H. et al. Interleukin-10 level is associated with post-stroke depression in acute ischaemic stroke patients. **Journal of Affective Disorders**, [s.l.], v. 293, n° May, p. 254–260, 2021. ISSN: 15732517, DOI: 10.1016/j.jad.2021.06.037.

CHIDAMBARAM, S. B. et al. The Influence of Gut Dysbiosis in the Pathogenesis and Management of Ischemic Stroke. **Cells**, [s.l.], v. 11, n° 7, 2022. ISSN: 20734409, DOI: 10.3390/cells11071239.

CHRISTIAN, W. et al. Sympathetic activation triggers systemic interleukin-10 release in immunodepression induced by brain injury. **Nature Medicine**, [s.l.], v. 4, p. 808–813, 1998.

CLAUSEN, B. H. et al. Characterization of the TNF and IL-1 systems in human brain and blood after ischemic stroke. **Acta Neuropathologica Communications**, 8(1), 81, 2020. <https://doi.org/10.1186/s40478-020-00957-y>

COBLEY, J. N.; FIORELLO, M. L.; BAILEY, D. M. 13 reasons why the brain is susceptible to oxidative stress. **Redox Biology**, [s.l.], v. 15, p. 490–503, 2018. ISSN: 22132317, DOI: 10.1016/j.redox.2018.01.008.

COLLINS, S. M.; SURETTE, M.; BERCIK, P. The interplay between the intestinal microbiota and the brain. **Nature Reviews Microbiology**, [s.l.], v. 10, n° 11, p. 735–742, 2012. ISSN: 17401526, DOI: 10.1038/nrmicro2876.

CORREA-PAZ, C. et al. New Approaches in Nanomedicine for Ischemic Stroke. **Pharmaceutics**, [s.l.], v. 13, n° 5, p. 757, 2021. ISSN: 1999-4923, DOI: 10.3390/pharmaceutics13050757.

CRAPSER, J.; RITZEL, R.; VERNA, R. et al. Ischemic stroke induces gut permeability and enhances bacterial translocation leading to sepsis in aged mice. **Aging**, [s.l.], v. 8, n° 5, p. 1049–1063, 2016. ISSN: 1945-4589, DOI: 10.18632/aging.100952.

CRAPSER, J.; RITZEL, R.; VERMA, R. et al. Ischemic stroke induces gut permeability and enhances bacterial translocation leading to sepsis in aged mice. **Aging**, [s.l.], v. 8, n° 5, p. 1–15, 2016. DOI: 10.18632/aging.100952.

DERISI JOSEPH, PENLAND LOLITA, B. P. O. et al. Monocyte deactivation in septic patients: restoration by IFN-gamma treatment. **Nature Medicine**, [s.l.], v. 3, n° 6, p. 678–681, 1997. ISBN: 1078-8956 (Print)r1078-8956 (Linking), ISSN: 1078-8956, DOI: 10.1038/nm0798-822.

DICKERHOF, N. et al. Myeloperoxidase inhibition decreases morbidity and oxidative stress in mice with cystic fibrosis-like lung inflammation. **Free Radical Biology and Medicine**, 152, 91–99, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2020.03.001>.

DUAN, R. et al. TNF- α (G-308A) Polymorphism, Circulating Levels of TNF- α and IGF-1: Risk Factors for Ischemic Stroke—An Updated Meta-Analysis. **Frontiers in Aging Neuroscience**, [s.l.], v. 14, n° March, p. 1–13, 2022. ISSN: 16634365, DOI: 10.3389/fnagi.2022.831910.

EMSLEY, H. C. A. et al. An early and sustained peripheral inflammatory response in acute ischaemic stroke: Relationships with infection and atherosclerosis. **Journal of Neuroimmunology**, [s.l.], v. 139, n° 1–2, p. 93–101, 2003. ISSN: 01655728, DOI: 10.1016/S0165-5728(03)00134-6.

ENGEL, O. et al. Blocking Stroke-Induced Immunodeficiency Increases CNS Antigen-Specific Autoreactivity But Does Not Worsen. **The Journal of Neuroscience**, [s.l.], v. 35, n° 20, p. 7777–7794, 2015. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.1532-14.2015.

ENOS, T.; INVESTIGATORS, T. Efficacy of nitric oxide , with or without continuing antihypertensive treatment , for management of high blood pressure in acute stroke (ENOS): a partial-factorial randomised controlled trial. **The Lancet**, [s.l.], v. 385, n° 9968, p. 617–628, 2015. ISSN: 0140-6736, DOI: 10.1016/S0140-6736(14)61121-1.

FAROOQ, J. et al. Stem Cells as Drug-like Biologics for Mitochondrial Repair in Stroke. **Pharmaceutics**, [s.l.], v. 12, n° 7, p. 615, 2020. ISSN: 1999-4923, DOI: 10.3390/pharmaceutics12070615.

FEIGIN, V. L.; NORRVING, B.; MENSAH, G. A. Global Burden of Stroke. **Circulation Research**, [s.l.], v. 120, n° 3, p. 439–448, 2017. ISSN: 15244571, DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.116.308413.

FERNÁNDEZ-LÓPEZ, D. et al. Reduced infarct size and accumulation of microglia in rats treated with WIN 55,212-2 after neonatal stroke. **Neuroscience**, 207, 307–315, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2012.01.008>

FINLAYSON, O.; KAPRAL, M.; HALL, R. Risk factors , inpatient care , and outcomes of pneumonia after ischemic stroke. **Neurology**, [s.l.], v. 77, n° 14, p. 1338–1345, 2013. DOI: 10.1212/WNL.0b013e31823152b1.

FU, R. et al. Buyang huanwu decoction alleviates stroke-induced immunosuppression in MCAO mice by reducing splenic T cell apoptosis triggered by AIM2 inflammasome. **Journal of Ethnopharmacology**, [s.l.], v. 333, p. 118474, 2024. ISSN: 03788741, DOI: 10.1016/j.jep.2024.118474.

FURUHASHI, M. New insights into purine metabolism in metabolic diseases: role of xanthine oxidoreductase activity. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, [s.l.], v. 319, n° 5, p. E827–E834, 2020. ISSN: 0193-1849, DOI: 10.1152/ajpendo.00378.2020.

GARCIA, J. M. et al. Role of Interleukin-10 in Acute Brain Injuries. **Frontiers in Neurology**, 8, 2017. <https://doi.org/10.3389/fneur.2017.00244>.

GIEDE-JEPPE, A. et al. Lymphocytopenia Is an Independent Predictor of Unfavorable Functional Outcome in Spontaneous Intracerebral Hemorrhage. **Stroke**, [s.l.], v. 47, n° 5, p. 1239–1246, 2016a. ISSN: 15244628, DOI: 10.1161/STROKEAHA.116.013003.

_____. Lymphocytopenia Is an Independent Predictor of Unfavorable Functional Outcome in Spontaneous Intracerebral Hemorrhage. **Stroke**, [s.l.], v. 47, n° 5, p. 1239–1246, 2016b. ISSN: 15244628, DOI: 10.1161/STROKEAHA.116.013003.

GILLES DEMERS, GILLY GRIFFIN, GUY DE VROEY, JOSEPH R HAYWOOD, JOANNE ZURLO, M. B. Harmonization of Animal Care and Use Guidance. **Science**, [s.l.], v. 312, n° 5774, p. 700–701, 2006. DOI: 10.1126/science.1124036.

GIUSTINA, A. Della et al. Dimethyl Fumarate Modulates Oxidative Stress and Inflammation in Organs After Sepsis in Rats. **Inflammation**, [s.l.], v. 41, n° 1, p. 315–327, 2018. ISSN: 0360-3997, DOI: 10.1007/s10753-017-0689-z.

GÓMEZ, C. T. et al. Cannabidiol (CBD) Alters the Functionality of Neutrophils (PMN). Implications in the Refractory Epilepsy Treatment. **Pharmaceuticals**, 14(3), 220, 2021. <https://doi.org/10.3390/ph14030220>.

GONG, L. et al. RTN1-C mediates cerebral ischemia/reperfusion injury via ER stress and mitochondria-associated apoptosis pathways. **Cell Death & Disease**, [s.l.], v. 8, n° 10, p. e3080–e3080, 2017. ISSN: 2041-4889, DOI: 10.1038/cddis.2017.465.

GREEN, L. C. et al. Analysis of Nitrate , Nitrite , and [¹⁵N] Nitrate in Biological Fluids. **Analytical Biochemistry**, [s.l.], v. 126, n° 1, p. 131–138, 1982. DOI: [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(82\)90118-X](https://doi.org/10.1016/0003-2697(82)90118-X).

GUBSKIY, I. L. et al. MRI Guiding of the Middle Cerebral Artery Occlusion in Rats Aimed to Improve Stroke Modeling. **Translational Stroke Research**, [s.l.], v. 9, n° 4, p. 417–425, 2018. ISSN: 1868-4483, DOI: [10.1007/s12975-017-0590-y](https://doi.org/10.1007/s12975-017-0590-y).

HAMMOND, S. et al. The Effect of Cannabis-Based Medicine in the Treatment of Cachexia: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Cannabis and Cannabinoid Research**, 6(6), 474–487, 2021. <https://doi.org/10.1089/can.2021.0048>.

H H DRAPER, M. H. Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. **Methods Enzymol**, [s.l.], v. 186, p. 421–431, 1990. DOI: [10.1016/0076-6879\(90\)86135-i](https://doi.org/10.1016/0076-6879(90)86135-i).

HE, J. et al. Oxidative Stress, Inflammation, and Autophagy: Potential Targets of Mesenchymal Stem Cells-Based Therapies in Ischemic Stroke. **Frontiers in Neuroscience**, [s.l.], v. 15, 2021. ISSN: 1662-453X, DOI: [10.3389/fnins.2021.641157](https://doi.org/10.3389/fnins.2021.641157).

HONÓRIO JÚNIOR, J. E. R. et al. Anxiolytic and antidepressant effects of cannabidiol: a systematic review. **Journal of Health & Biological Sciences**, [s.l.], v. 9, n° 1, p. 1, 2021. ISSN: 2317-3084, DOI: [10.12662/2317-3076jhbs.v9i1.3366.p1-7.2021](https://doi.org/10.12662/2317-3076jhbs.v9i1.3366.p1-7.2021).

HUANG, X., ZHANG, M., WANG, J., & HU, F. Association between interleukin-6 levels and stroke: a systematic review and meta-analysis. **Journal of International Medical Research**, 52(9), 2024. <https://doi.org/10.1177/03000605241274626>.

HUANG, C. et al. The protective role of cannabidiol in stress-induced liver injury: modulating oxidative stress and mitochondrial damage. **Frontiers in Pharmacology**, 16, 2025. <https://doi.org/10.3389/fphar.2025.1567210>.

JAROCKA-KARPOWICZ, I. et al. Cannabidiol Effects on Phospholipid Metabolism in Keratinocytes from Patients with Psoriasis Vulgaris. **Biomolecules**, 10(3), 367, 2020. <https://doi.org/10.3390/biom10030367>.

JASTRZĄB, A. et al. Antioxidant and Anti-inflammatory Effect of Cannabidiol Contributes to the Decreased Lipid Peroxidation of Keratinocytes of Rat Skin Exposed to UV Radiation. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, 2021a. <https://doi.org/10.1155/2021/6647222>.

JASTRZĄB, A. et al. Antioxidant and Anti-inflammatory Effect of Cannabidiol Contributes to the Decreased Lipid Peroxidation of Keratinocytes of Rat Skin Exposed to UV Radiation. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, 2021b. <https://doi.org/10.1155/2021/6647222>.

JAYARAJ, R. L. et al. Neuroinflammation: friend and foe for ischemic stroke. *Journal of Neuroinflammation*, 16(1), 142, 2019. <https://doi.org/10.1186/s12974-019-1516-2>.

JENNY, N. S. et al. Inflammatory cytokines and ischemic stroke risk: The REGARDS cohort. **Neurology**, [s.l.], v. 92, n° 20, p. E2375–E2384, 2019. ISBN: 0000000000, ISSN: 1526632X, DOI: [10.1212/WNL.00000000000007416](https://doi.org/10.1212/WNL.00000000000007416).

Ji, R. et al. Risk Score to Predict Hospital-Acquired Pneumonia After Spontaneous Intracerebral Hemorrhage. **Stroke**, [s.l.], v. 45, n° 9, p. 2620–2628, 2014. ISSN: 0039-2499, DOI: 10.1161/STROKEAHA.114.005023.

JÎTCĂ, G. et al. Cannabidiol: Bridge between Antioxidant Effect, Cellular Protection, and Cognitive and Physical Performance. **Antioxidants**, 12(2), 485, 2023. <https://doi.org/10.3390/antiox12020485>.

JOAQUIM, L. S. et al. NLRP3 inflammasome activation increases brain oxidative stress after transient global cerebral ischemia in rats. **International Journal of Neuroscience**. [s.l.]: Taylor & Francis, 2021. v. 20, 1–14 p. ISBN: 4836213363, ISSN: 15635279, DOI: 10.1080/00207454.2021.1922402.

JONES, D. P. Redefining Oxidative Stress. **Antioxidants & Redox Signaling**, 8(9–10), 1865–1879, 2006. <https://doi.org/10.1089/ars.2006.8.1865>.

JURCAU, A.; ARDELEAN, A. I. Oxidative Stress in Ischemia/Reperfusion Injuries following Acute Ischemic Stroke. **Biomedicines**, [s.l.], v. 10, n° 3, p. 574, 2022. ISSN: 2227-9059, DOI: 10.3390/biomedicines10030574.

JURCAU, A.; SIMION, A. Neuroinflammation in Cerebral Ischemia and Ischemia/Reperfusion Injuries: From Pathophysiology to Therapeutic Strategies. **International Journal of Molecular Sciences**, [s.l.], v. 23, n° 1, p. 14, 2021. ISSN: 1422-0067, DOI: 10.3390/ijms23010014.

KAMALAKANNAN, S. et al. Incidence and prevalence of stroke in India: A systematic review. **Indian Journal of Medical Research**, [s.l.], v. 146, n° 2, p. 175, 2017. ISSN: 0971-5916, DOI: 10.4103/ijmr.IJMR_516_15.

KAMTCHUM-TATUENE, J.; JICKLING, G. C. Blood Biomarkers for Stroke Diagnosis and Management. **NeuroMolecular Medicine**, [s.l.], v. 21, n° 4, p. 344–368, 2019. ISSN: 15591174, DOI: 10.1007/s12017-019-08530-0.

KATZAN, I. L. et al. The effect of pneumonia on mortality among patients hospitalized for. **Neurology**, [s.l.], v. 60, n° 4, p. 620–625, 2012. DOI: 10.1212/01.WNL.0000046586.38284.60.

KHAKSAR, S., BIGDELI, M., SAMIEE, A., & SHIRAZI-ZAND, Z. Antioxidant and anti-apoptotic effects of cannabidiol in model of ischemic stroke in rats. **Brain Research Bulletin**, 180, 118–130, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2022.01.001>.

KIBEL, A. et al. Oxidative Stress in Ischemic Heart Disease. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, [s.l.], v. 2020, p. 1–30, 2020. ISSN: 1942-0994, DOI: 10.1155/2020/6627144.

KICMAN, A., & TOCZEK, M. The Effects of Cannabidiol, a Non-Intoxicating Compound of Cannabis, on the Cardiovascular System in Health and Disease. **International Journal of Molecular Sciences**, 21(18), 6740, 2020. <https://doi.org/10.3390/ijms21186740>.

KIM, J. S. Post-stroke Mood and Emotional Disturbances: Pharmacological Therapy Based on Mechanisms. **Journal of Stroke**, [s.l.], v. 18, n° 3, p. 244–255, 2016. ISSN: 2287-6391, DOI: 10.5853/jos.2016.01144.

KOLB B. et al. The endocannabinoid system and stroke: A focused review. **Brain Circ.** 2019 Jan-Mar;5(1):1-7. doi: 10.4103/bc.bc_29_18. Epub 2019 Mar 27. PMID: 31001593; PMCID: PMC6458776.

KONG, J. et al. Oxidative stress in the brain–lung crosstalk: cellular and molecular perspectives. **Frontiers in Aging Neuroscience**, [s.l.], v. 16, 2024. ISSN: 1663-4365, DOI: 10.3389/fnagi.2024.1389454.

KUBILIENE, A. et al. The Effects of Cannabis sativa L. Extract on Oxidative Stress Markers In Vivo. **Life**, 11(7), 647, 2021. <https://doi.org/10.3390/life11070647>.

KUMAR, P. et al. Role of Interleukin-10 (-1082A/G) gene polymorphism with the risk of ischemic stroke: a meta-analysis. **Neurological Research**, [s.l.], v. 38, n° 9, p. 823–830, 2016. ISSN: 17431328, DOI: 10.1080/01616412.2016.1202395.

KUMMER, K. K., ZEIDLER, M., KALPACHIDOU, T., & KRESS, M. Role of IL-6 in the regulation of neuronal development, survival and function. **Cytokine**, 144, 155582, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2021.155582>.

LASEK-BAL, A. et al. The importance of selected markers of inflammation and blood-brain barrier damage for short-term ischemic stroke prognosis. **Journal of Physiology and Pharmacology**, [s.l.], v. 70, n° 2, p. 209–217, 2019. ISSN: 18991505, DOI: 10.26402/jpp.2019.2.04.

LAMBERTSEN, K. L., FINSEN, B., & CLAUSEN, B. H. Post-stroke inflammation—target or tool for therapy? **Acta Neuropathologica**, 137(5), 693–714, 2019. <https://doi.org/10.1007/s00401-018-1930-z>.

LEAROYD, A. E. et al. Infections Up to 76 Days After Stroke Increase Disability and Death. **Transl Stroke Res**, [s.l.], v. 8, n° 6, p. 541–548, 2018. ISBN: 1297501705, DOI: 10.1007/s12975-017-0553-3.Infections.

LEMMERMAN, L. et al. Transient Middle Cerebral Artery Occlusion with an Intraluminal Suture Enables Reproducible Induction of Ischemic Stroke in Mice. **BIO-PROTOCOL**, [s.l.], v. 12, n° 3, 2022. ISSN: 2331-8325, DOI: 10.21769/BioProtoc.4305.

LI, D. et al. Risk factors for stroke-related pneumonia in patients with ischaemic stroke: A systematic evaluation and meta-analysis. **Clinical Neurology and Neurosurgery**, [s.l.], v. 246, p. 108593, 2024. ISSN: 03038467, DOI: 10.1016/j.clineuro.2024.108593.

LIESZ, A. et al. Neurobiology of Disease DAMP Signaling is a Key Pathway Inducing Immune Modulation after Brain Injury. **The Journal of Neuroscience**, [s.l.], v. 35, n° 2, p. 583–598, 2015. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.2439-14.2015.

LIN, D. et al. The Role of Oxidative Stress in Common Risk Factors and Mechanisms of Cardio-Cerebrovascular Ischemia and Depression. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, [s.l.], v. 2019, p. 1–13, 2019. ISSN: 1942-0900, DOI: 10.1155/2019/2491927.

LIN, S.-Y. et al. TNF- α Receptor Inhibitor Alleviates Metabolic and Inflammatory Changes in a Rat Model of Ischemic Stroke. **Antioxidants**, 10(6), 851, 2021. <https://doi.org/10.3390/antiox10060851>.

LIN, W., CHEN, H., CHEN, X., & GUO, C. The Roles of Neutrophil-Derived Myeloperoxidase (MPO) in Diseases: The New Progress. **Antioxidants**, 13(1), 132, 2024. <https://doi.org/10.3390/antiox13010132>.

LIU, F.; MCCULLOUGH, L. D. Middle Cerebral Artery Occlusion Model in Rodents: Methods and Potential Pitfalls. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**, [s.l.], v. 2011, p. 1–9, 2011. ISSN: 1110-7243, DOI: 10.1155/2011/464701.

LIU, S. et al. Rodent Stroke Model Guidelines for Preclinical Stroke Trials (1St Edition). **Journal of Experimental Stroke and Translational Medicine**, [s.l.], v. 2, n° 2, p. 2–27, 2009. ISSN: 1939-067X, DOI: 10.6030/1939-067x-2.2.2.

LIU, W. et al. The role of myeloperoxidase in the pathogenesis of stroke. **Brain Research**, 1861, 149705, 2025. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2025.149705>.

LOWRY, H.; RANDALL, R. J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. **Journal of Biological Chemistry**, [s.l.], v. 193, n° 1, p. 265–275, 1951. ISSN: 0021-9258, DOI: 10.1016/S0021-9258(19)52451-6.

MAIDA, C. D. et al. Neuroinflammatory Mechanisms in Ischemic Stroke: Focus on Cardioembolic Stroke, Background, and Therapeutic Approaches. **International Journal of Molecular Sciences**, [s.l.], v. 21, n° 18, p. 6454, 2020. ISSN: 1422-0067, DOI: 10.3390/ijms21186454.

_____. Diabetes and Ischemic Stroke: An Old and New Relationship an Overview of the Close Interaction between These Diseases. **International Journal of Molecular Sciences**, [s.l.], v. 23, n° 4, p. 2397, 2022. ISSN: 1422-0067, DOI: 10.3390/ijms23042397.

MAIER, I. L. et al. Influence of beta-blocker therapy on the risk of infections and death in patients at high risk for stroke induced immunodepression. **PLoS One**, [s.l.], v. 13, n° 4, p. 1–11, 2018. ISBN: 1111111111, DOI: 10.1371/journal.pone.0196174.

MANZANERO, S.; SANTRO, T.; ARUMUGAM, T. V. Neuronal oxidative stress in acute ischemic stroke: Sources and contribution to cell injury. **Neurochemistry International**, [s.l.], v. 62, n° 5, p. 712–718, 2013. ISSN: 01970186, DOI: 10.1016/j.neuint.2012.11.009.

MAOUCHE, K. et al. $\alpha 7$ Nicotinic Acetylcholine Receptor Regulates Airway Epithelium Differentiation by Controlling Basal Cell Proliferation. **The American Journal of Pathology**, [s.l.], v. 175, n° 5, p. 1868–1882, 2009. DOI: 10.2353/ajpath.2009.090212.

MARTÍNEZ-CORIA, H. et al. Physiopathology of ischemic stroke and its modulation using memantine: evidence from preclinical stroke. **Neural Regeneration Research**, [s.l.], v. 16, n° 3, p. 433, 2021. ISSN: 1673-5374, DOI: 10.4103/1673-5374.293129.

MATHIAS, K. et al. Blood-brain barrier permeability in the ischemic stroke: An update. **Microvascular Research**, 151, 104621, 2024. <https://doi.org/10.1016/j.mvr.2023.104621>.

MATHIAS, K. et al. Short-chain fatty acid on blood-brain barrier and glial function in ischemic stroke. **Life Sciences**, 354, 122979, 2024. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2024.122979>.

MATHIAS, K. et al. The Blood-Cerebrospinal Fluid Barrier Dysfunction in Brain Disorders and Stroke: Why, How, What For? **NeuroMolecular Medicine**, 26(1), 38, 2024. <https://doi.org/10.1007/s12017-024-08806-0>.

MAYEVSKY, A.; KUTAI-ASIS, H.; TOLMASOV, M. Mitochondrial function and brain Metabolic Score (BMS) in ischemic Stroke: Evaluation of “neuroprotectants” safety and efficacy. **Mitochondrion**, [s.l.], v. 50, p. 170–194, 2020. ISSN: 15677249, DOI: 10.1016/j.mito.2019.11.005.

MCCANN, S. K. et al. Systematic Review and Meta-Analysis of the Efficacy of Interleukin-1 Receptor Antagonist in Animal Models of Stroke: an Update. **Translational Stroke Research**, 7(5), 395–406, 2016. <https://doi.org/10.1007/s12975-016-0489-z>.

MCCULLOUGH, L. D. et al. Aromatase Cytochrome P450 and Extragonadal Estrogen Play a Role in Ischemic Neuroprotection. **The Journal of Neuroscience**, [s.l.], v. 23, n° 25, p. 8701–8705, 2003. ISSN: 0270-6474, DOI: 10.1523/JNEUROSCI.23-25-08701.2003.

MEO, S. Di et al. Evolution of the Knowledge of Free Radicals and Other Oxidants. **Oxid Med Cell Longev**, [s.l.], v. 23, p. 9829176, 2020. DOI: 10.1155/2020/9829176.

MEYER, E. et al. Cannabidiol Exerts a Neuroprotective and Glia-Balancing Effect in the Subacute Phase of Stroke. **International Journal of Molecular Sciences**, 23(21), 12886, 2022. <https://doi.org/10.3390/ijms232112886>.

MONICA, M. et al. Method to Quantify Cytokines and Chemokines in Mouse Brain Tissue Using Bio-Plex Multiplex Immunoassays. **Methods**, [s.l.], v. 1, n° 158, p. 22–26, 2020. DOI: 10.1016/j.ymeth.2019.02.007.Method.

MORAES BERNAL, H. DE et al. Incidence of hospitalization and mortality due to stroke in young adults, residents of developed regions in Brazil, 2008-2018. **PLOS ONE**, [s.l.], v. 15, n° 11, p. e0242248, 2020. ISSN: 1932-6203, DOI: 10.1371/journal.pone.0242248.

MORI, M. A. et al. Differential contribution of CB1, CB2, 5-HT1A, and PPAR- γ receptors to cannabidiol effects on ischemia-induced emotional and cognitive impairments. **European Journal of Neuroscience**, [s.l.], v. 53, n° 6, p. 1738–1751, 2021. ISSN: 14609568, DOI: 10.1111/ejn.15134.

MORRIS, G. P. et al. A Comparative Study of Variables Influencing Ischemic Injury in the Longa and Koizumi Methods of Intraluminal Filament Middle Cerebral Artery Occlusion in

- Mice. **PLOS ONE**, [s.l.], v. 11, n° 2, p. e0148503, 2016. ISSN: 1932-6203, DOI: 10.1371/journal.pone.0148503.
- MOZAFFARIAN, D. et al. Heart Disease and Stroke Statistics—2016 Update. **Circulation**, [s.l.], v. 133, n° 4, 2016. ISSN: 0009-7322, DOI: 10.1161/CIR.0000000000000350.
- MUJAHID, K. et al. Cannabidiol as an immune modulator: A comprehensive review. **Saudi Pharmaceutical Journal**, 33(3), 11, 2025. <https://doi.org/10.1007/s44446-025-00005-7>.
- MUKHOPADHYAY, P. et al. Cannabidiol protects against hepatic ischemia/reperfusion injury by attenuating inflammatory signaling and response, oxidative/nitrative stress, and cell death. **Free Radical Biology and Medicine**, 50(10), 1368–1381, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2011.02.021>.
- NETTO, M. B. et al. Oxidative stress and mitochondrial dysfunction contributes to postoperative cognitive dysfunction in elderly rats. **Brain, Behavior, and Immunity**, 73, 661–669, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2018.07.016>.
- NOUS, A. et al. Post-stroke infections associated with spleen volume reduction: A pilot study. **PLOS ONE**, 15(5), e0232497, 2020. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0232497>.
- OLIVEIRA, G. S. et al. Pneumococcal Vaccines : Past Findings , Present Work , and Future Strategies. **Vaccines**, [s.l.], v. 9, n° 11, p. 1–16, 2021. DOI: 10.3390/vaccines9111338.
- ORNELLO, R. et al. Distribution and Temporal Trends From 1993 to 2015 of Ischemic Stroke Subtypes. **Stroke**, [s.l.], v. 49, n° 4, p. 814–819, 2018. ISSN: 0039-2499, DOI: 10.1161/STROKEAHA.117.020031.
- PEREIRA DE SOUZA GOLDIM, M. et al. Sickness Behavior Score Is Associated with Neuroinflammation and Late Behavioral Changes in Polymicrobial Sepsis Animal Model. **Inflammation**, [s.l.], v. 43, n° 3, p. 1019–1034, 2020. ISSN: 15732576, DOI: 10.1007/s10753-020-01187-z.
- PERRY, V. H.; HOLMES, C. Microglial priming in neurodegenerative disease. **Nature Publishing Group**, [s.l.], v. 10, n° 4, p. 217–224, 2014. ISSN: 1759-4758, DOI: 10.1038/nrneurol.2014.38.
- PIEPKE, M. et al. Interleukin-10 improves stroke outcome by controlling the detrimental Interleukin-17A response. **Journal of Neuroinflammation**, 18(1), 265, 2021. <https://doi.org/10.1186/s12974-021-02316-7>.
- PRASS, K. et al. Stroke-induced Immunodeficiency Promotes Spontaneous Bacterial Infections and Is Mediated by Sympathetic Activation Reversal by Poststroke T Helper Cell Type 1 – like Immunostimulation **The Journal of Experimental Medicine. J Exp Med**, [s.l.], v. 198, n° 5, p. 725–736, 2003. DOI: 10.1084/jem.20021098.
- PRZYKAZA, Ł. Understanding the Connection Between Common Stroke Comorbidities, Their Associated Inflammation, and the Course of the Cerebral Ischemia/Reperfusion Cascade. **Frontiers in Immunology**, [s.l.], v. 12, 2021. ISSN: 1664-3224, DOI: 10.3389/fimmu.2021.782569.

RADI, R. Oxygen radicals, nitric oxide, and peroxynitrite: Redox pathways in molecular medicine. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, [s.l.], v. 115, n° 23, p. 5839–5848, 2018. ISSN: 10916490, DOI: 10.1073/pnas.1804932115.

RAÏCH, I. et al. Potential of CBD Acting on Cannabinoid Receptors CB1 and CB2 in Ischemic Stroke. **International Journal of Molecular Sciences**, 25(12), 6708, 2024. <https://doi.org/10.3390/ijms25126708>.

RANA, A. K.; SINGH, D. Targeting glycogen synthase kinase-3 for oxidative stress and neuroinflammation: Opportunities, challenges and future directions for cerebral stroke management. **Neuropharmacology**, [s.l.], v. 139, p. 124–136, 2018. ISSN: 00283908, DOI: 10.1016/j.neuropharm.2018.07.006.

ROBBA, C. et al. Mechanical ventilation in patients with acute ischaemic stroke : from pathophysiology to clinical practice. **Crit Care**, [s.l.], v. 23, n° 1, p. 1–14, 2019. DOI: 10.1186/s13054-019-2662-8.

ROCCO, A. et al. Poststroke infections are an independent risk factor for poor functional outcome after three-months in thrombolysed stroke patients. **International Journal of Stroke**, [s.l.], v. 8, n° 8, p. 639–644, 2013. ISSN: 17474930, DOI: 10.1111/j.1747-4949.2012.00822.x.

S. PANDYA, R. et al. Central Nervous System Agents for Ischemic Stroke: Neuroprotection Mechanisms. **Central Nervous System Agents in Medicinal Chemistry**, [s.l.], v. 11, n° 2, p. 81–97, 2011a. ISSN: 18715249, DOI: 10.2174/187152411796011321.

_____. Central Nervous System Agents for Ischemic Stroke: Neuroprotection Mechanisms. **Central Nervous System Agents in Medicinal Chemistry**, [s.l.], v. 11, n° 2, p. 81–97, 2011b. ISSN: 18715249, DOI: 10.2174/187152411796011321.

SAINI, V.; GUADA, L.; YAVAGAL, D. R. Global Epidemiology of Stroke and Access to Acute Ischemic Stroke Interventions. **Neurology**, [s.l.], v. 97, n° 20 Supplement 2, p. S6–S16, 2021a. ISSN: 0028-3878, DOI: 10.1212/WNL.0000000000012781.

_____. Global Epidemiology of Stroke and Access to Acute Ischemic Stroke Interventions. **Neurology**, [s.l.], v. 97, n° 20 Supplement 2, p. S6–S16, 2021b. ISSN: 0028-3878, DOI: 10.1212/WNL.0000000000012781.

SAMARY, C. S. et al. Immunomodulation after ischemic stroke: potential mechanisms and implications for therapy. **Critical Care**, [s.l.], v. 18, n° 21, p. 1–9, 2016. ISSN: 1364-8535, DOI: 10.1186/s13054-016-1573-1.

SANTOS, C. C. et al. Neuroimmune Regulation of Ventilator-induced Lung Injury. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, [s.l.], v. 183, p. 471–482, 2011. DOI: 10.1164/rccm.201002-0314OC.

SANTOS-PEREIRA, M., GUIMARÃES, F. S., DEL-BEL, E., RAISMAN-VOZARI, R., & Michel, P. P. Cannabidiol prevents LPS-induced microglial inflammation by inhibiting

ROS/NF- κ B-dependent signaling and glucose consumption. **Glia**, 68(3), 561–573, 2020. <https://doi.org/10.1002/glia.23738>.

SCHELLER, J., CHALARIS, A., SCHMIDT-ARRAS, D., & ROSE-JOHN, S. The pro- and anti-inflammatory properties of the cytokine interleukin-6. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research**, 1813(5), 878–888, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2011.01.034>.

SCHEPERS, V. P. M. et al. Comparing contents of functional outcome measures in stroke rehabilitation using the International Classification of Functioning, Disability and Health. **Disability and Rehabilitation**, [s.l.], v. 29, n° 3, p. 221–230, 2007. ISSN: 0963-8288, DOI: 10.1080/09638280600756257.

SCOTT, M. R. VAN et al. IL-10 reduces Th2 cytokine production and eosinophilia but augments airway reactivity in allergic mice. **American Journal of Physiology - Lung Cellular and Molecular Physiology**, [s.l.], v. 278, n° 4 22-4, p. 667–674, 2000. ISSN: 10400605, DOI: 10.1152/ajplung.2000.278.4.1667.

SEBASTIAN, S.; STEIN, L. K.; DHAMOON, M. S. Infection as a Stroke Trigger: Associations between Different Organ System Infection Admissions and Stroke Subtypes. **Stroke**, [s.l.], v. 50, n° 8, p. 2216–2218, 2019. ISSN: 15244628, DOI: 10.1161/STROKEAHA.119.025872.

SEDOVA, P. et al. Incidence of Stroke and Ischemic Stroke Subtypes: A Community-Based Study in Brno, Czech Republic. **Cerebrovascular Diseases**, [s.l.], v. 50, n° 1, p. 54–61, 2021. ISSN: 1015-9770, DOI: 10.1159/000512180.

SEIFERT, H. A. et al. A Transient Decrease in Spleen Size Following Stroke Corresponds to Splenocyte Release into Systemic Circulation. **Journal of Neuroimmune Pharmacology**, 7(4), 1017–1024, 2012. <https://doi.org/10.1007/s11481-012-9406-8>.

SEIFERT, H. A., & OFFNER, H. The splenic response to stroke: from rodents to stroke subjects. **Journal of Neuroinflammation**, 15(1), 195, 2018. <https://doi.org/10.1186/s12974-018-1239-9>.

SEKERDAG, E.; SOLAROGLU, I.; GURSOY-OZDEMIR, Y. Cell Death Mechanisms in Stroke and Novel Molecular and Cellular Treatment Options. **Current Neuropharmacology**, [s.l.], v. 16, n° 9, p. 1396–1415, 2018. ISSN: 1570159X, DOI: 10.2174/1570159x16666180302115544.

SEN, P. et al. Oxidative stress initiates hemodynamic change in CKD-induced heart disease. **Basic Research in Cardiology**, [s.l.], 2024. ISSN: 1435-1803, DOI: 10.1007/s00395-024-01085-7.

SHI, K. et al. Stroke-induced immunosuppression and poststroke infection. **Stroke and Vascular Neurology**, [s.l.], v. 3, n° 1, p. 34–41, 2018a. ISSN: 2059-8688, DOI: 10.1136/svn-2017-000123.

_____. Stroke-induced immunosuppression and poststroke infection. **Stroke and Vascular Neurology**, [s.l.], v. 3, n° 1, p. 34–41, 2018b. ISSN: 20598696, DOI: 10.1136/svn-2017-000123.

SHIM, R.; WONG, C. H. Y. Complex interplay of multiple biological systems that contribute to post-stroke infections. **Brain, Behavior, and Immunity**, [s.l.], v. 70, p. 10–20, 2018. ISSN: 10902139, DOI: 10.1016/j.bbi.2018.03.019.

SIMS, S.-K. K.-C. et al. Comparative Enhancement of Motor Function and BDNF Expression Following Different Brain Stimulation Approaches in an Animal Model of Ischemic Stroke. **Neurorehabilitation and Neural Repair**, [s.l.], v. 34, n° 10, p. 925–935, 2020. ISSN: 1545-9683, DOI: 10.1177/1545968320952798.

SIMATS, A., & LIESZ, A. Systemic inflammation after stroke: implications for post-stroke comorbidities. **EMBO Molecular Medicine**, 14(9), 2022. <https://doi.org/10.15252/emmm.202216269>.

SIMON MACHADO, R. et al. Hyperoxia and brain: the link between necessity and injury from a molecular perspective. **Neurotoxicity Research**, 42(2), 25, 2024. <https://doi.org/10.1007/s12640-024-00702-6>.

SIMON MACHADO, R. et al. From diabetic hyperglycemia to cerebrovascular Damage: A narrative review. **Brain Research**, 1821, 148611, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2023.148611>.

SINGH, V. et al. Microbiota Dysbiosis Controls the Neuroinflammatory Response after Stroke. **Journal of Neuroscience**, [s.l.], v. 36, n° 28, p. 7428–7440, 2016. ISSN: 0270-6474, DOI: 10.1523/JNEUROSCI.1114-16.2016.

SOBOWALE, O. A. et al. Interleukin-1 in Stroke. **Stroke**, 47(8), 2160–2167, 2016. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.115.010001>.

SONG, G. et al. The Role of Nanomaterials in Stroke Treatment: Targeting Oxidative Stress. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, [s.l.], v. 2021, p. 1–15, 2021. ISSN: 1942-0994, DOI: 10.1155/2021/8857486.

SORDI, R.; MENEZES-DE-LIMA, O.; HOREWICZ, V. et al. Dual role of lipoxin A4 in pneumosepsis pathogenesis. **International Immunopharmacology**, [s.l.], v. 17, n° 2, p. 283–292, 2013. ISSN: 15675769, DOI: 10.1016/j.intimp.2013.06.010.

SORDI, R.; MENEZES-DE-LIMA, O.; DELLA-JUSTINA, A. M. et al. Pneumonia-induced sepsis in mice: temporal study of inflammatory and cardiovascular parameters. **International Journal of Experimental Pathology**, [s.l.], v. 94, n° 2, p. 144–155, 2013. ISSN: 09599673, DOI: 10.1111/iep.12016.

SOUZA STORK, S. DE et al. Full-spectrum *Cannabis sativa* extract enhances gut-peripheral organ integrity after experimental ischemic stroke. **Inflammopharmacology**, [s.l.], v. 33, n° 6, p. 3279–3305, 2025. ISSN: 0925-4692, DOI: 10.1007/s10787-025-01775-1.

SPUR, B.; RAO, A. Lung inflammation originating in the gut. **Science**, [s.l.], v. 359, n° 637, p. 36–38, 2018.

SRIVASTAVA, M. V. P. et al. Role of Interleukin-6 Correlated to *C. pneumoniae* Infection as a Biomarker for Prediction of Stroke Severity in Young Patients with Acute Ischemic Stroke. **Asian Journal of Neuroscience**, 1–6, 2014. <https://doi.org/10.1155/2014/649106>.

STANLEY, D. et al. Translocation and dissemination of commensal bacteria in post-stroke infection. **Nature Medicine**, [s.l.], v. 22, n° 11, p. 1277–1284, 2016. ISSN: 1078-8956, DOI: 10.1038/nm.4194.

SU, J. H. et al. Interleukin-6: A Novel Target for Cardio-Cerebrovascular Diseases. **Frontiers in Pharmacology**, [s.l.], v. 12, n° August, p. 1–13, 2021. ISSN: 16639812, DOI: 10.3389/fphar.2021.745061.

SU, X.-T. et al. Mechanisms of Acupuncture in the Regulation of Oxidative Stress in Treating Ischemic Stroke. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, [s.l.], v. 2020, p. 1–15, 2020a. ISSN: 1942-0994, DOI: 10.1155/2020/7875396.

_____. Mechanisms of Acupuncture in the Regulation of Oxidative Stress in Treating Ischemic Stroke. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, [s.l.], v. 2020, p. 1–15, 2020b. ISSN: 1942-0994, DOI: 10.1155/2020/7875396.

SUN, M. et al. Free Radical Damage in Ischemia-Reperfusion Injury: An Obstacle in Acute Ischemic Stroke after Revascularization Therapy. **Oxid Med Cell Longev**, [s.l.], v. 2018, 2018. DOI: 10.1155/2018/3804979.

THOUGAARD, E. et al. Systemic inhibition of soluble TNF significantly changes glial cell populations leading to improved myelin integrity and better functional outcome after experimental stroke. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, 189, 118334, 2025. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2025.118334>.

TORRES-QUEROL, C. et al. Preclinical evidence of remote ischemic conditioning in ischemic stroke, a metanalysis update. **Scientific Reports**, [s.l.], v. 11, n° 1, p. 23706, 2021. ISSN: 2045-2322, DOI: 10.1038/s41598-021-03003-6.

TSUYAMA, J. et al. Pivotal role of innate myeloid cells in cerebral post-ischemic sterile inflammation. **Seminars in Immunopathology**, [s.l.], v. 40, n° 6, p. 523–538, 2018. ISSN: 1863-2300, DOI: 10.1007/s00281-018-0707-8.

TURNER, G. M. et al. Stroke risk following traumatic brain injury: Systematic review and meta-analysis. **International Journal of Stroke**, [s.l.], v. 16, n° 4, p. 370–384, 2021. ISSN: 1747-4930, DOI: 10.1177/17474930211004277.

ULM, L. et al. Journal of the Neurological Sciences Impact of infections on long-term outcome after severe middle cerebral artery infarction. **Journal of the Neurological Sciences**, [s.l.], v. 319, n° 1–2, p. 15–17, 2012. ISSN: 0022-510X, DOI: 10.1016/j.jns.2012.05.042.

URRA, X.; PLANAS, A. M. Infection After Acute Ischemic Stroke A Manifestation of Brain-Induced Immunodepression Infection After Acute Stroke : **Magnitude of. Stroke**, [s.l.], v. 38, n° 3, p. 1097–1103, 2007. DOI: 10.1161/01.STR.0000258346.68966.9d.

VAGHI, G. et al. The role of stroke-induced immunosuppression as a predictor of functional outcome in the neurorehabilitation setting. **Scientific Reports**, [s.l.], v. 14, n° 1, p. 1–11, 2024. ISBN: 0123456789, ISSN: 20452322, DOI: 10.1038/s41598-024-58562-1.

VAHIDY, F. S. et al. Acute splenic responses in patients with ischemic stroke and intracerebral hemorrhage. **Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism**, 36(6), 1012–1021 2016. <https://doi.org/10.1177/0271678X15607880>.

VIANA, R. et al. Sepsis after middle cerebral artery occlusion exacerbates peripheral oxidative stress in a sex-specific manner. **Microvascular Research**, [s.l.], v. 155, p. 104711, 2024. ISSN: 00262862, DOI: 10.1016/j.mvr.2024.104711.

VILLA, R. F.; FERRARI, F.; MORETTI, A. Post-stroke depression: Mechanisms and pharmacological treatment. **Pharmacology & Therapeutics**, [s.l.], v. 184, p. 131–144, 2018. ISSN: 01637258, DOI: 10.1016/j.pharmthera.2017.11.005.

VIRANI, S. S. et al. Heart Disease and Stroke Statistics—2020 Update: A Report From the American Heart Association. **Circulation**, [s.l.], v. 141, n° 9, 2020. ISSN: 0009-7322, DOI: 10.1161/CIR.0000000000000757.

VITTURI, B. K. et al. Prevalence and Predictors of Fatigue and Neuropsychiatric Symptoms in Patients with Minor Ischemic Stroke. **Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases**, [s.l.], v. 30, n° 9, p. 105964, 2021. ISSN: 10523057, DOI: 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2021.105964.

WALTER, U.; DONAT, M. Predictors of pneumonia in acute stroke patients admitted to a neurological intensive care unit. **J Neurol**, [s.l.], v. 254, n° 10, p. 1323–1329, 2007. ISBN: 0041500705200, DOI: 10.1007/s00415-007-0520-0.

WANG, B. et al. High-CBD cannabis extracts inhibit the expression of proinflammatory factors via miRNA-mediated silencing in human small intestinal epithelial cells. **Heliyon**, 9(8), e18817, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e18817>.

WANG, Yue et al. Neuroscience and Biobehavioral Reviews Vagus nerve stimulation in brain diseases : Therapeutic applications and biological mechanisms. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, [s.l.], v. 127, n° April, p. 37–53, 2021. ISSN: 0149-7634, DOI: 10.1016/j.neubiorev.2021.04.018.

WANG, Y. et al. Nitrate Metabolism and Ischemic Cerebrovascular Disease: A Narrative Review. **Frontiers in Neurology**, 13, 2022. <https://doi.org/10.3389/fneur.2022.735181>.

WANG, Yijie; HONG, F.; YANG, S. Roles of Nitric Oxide in Brain Ischemia and Reperfusion. **Int J Mol Sci**, [s.l.], v. 23, n° 8, p. 1–13, 2022. DOI: 10.3390/ijms23084243.

WEI, Y. et al. Brain-spleen axis in health and diseases: A review and future perspective. **Brain Research Bulletin**, 182, 130–140, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2022.02.008>.

WESTENDORP, W. F. et al. Post-stroke infection: A systematic review and meta-analysis. **BMC Neurology**, [s.l.], v. 11, n° 1, p. 110, 2011. ISSN: 1471-2377, DOI: 10.1186/1471-2377-11-110.

WOLSKA, M. et al. Long Non-coding RNAs as Promising Therapeutic Approach in Ischemic Stroke: a Comprehensive Review. **Molecular Neurobiology**, [s.l.], v. 58, n° 4, p. 1664–1682, 2021. ISSN: 0893-7648, DOI: 10.1007/s12035-020-02206-8.

WONG, C. H. Y. et al. Functional innervation of hepatic iNKT cells is immunosuppressive following stroke. **Science**, [s.l.], v. 334, n° 6052, p. 101–105, 2011. ISSN: 10959203, DOI: 10.1126/science.1210301.

WU, H.-Y., & JAN, T.-R. Cannabidiol hydroxyquinone-induced apoptosis of splenocytes is mediated predominantly by thiol depletion. **Toxicology Letters**, 195(1), 68–74, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2010.02.012>.

XIANG, L. et al. Gut Microbiotic Features Aiding the Diagnosis of Acute Ischemic Stroke. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, [s.l.], v. 10, 2020. ISSN: 2235-2988, DOI: 10.3389/fcimb.2020.587284.

XU, Q. et al. Relevant mediators involved in and therapies targeting the inflammatory response induced by activation of the NLRP3 inflammasome in ischemic stroke. **Journal of Neuroinflammation**, [s.l.], v. 18, n° 1, p. 123, 2021. ISSN: 1742-2094, DOI: 10.1186/s12974-021-02137-8.

YAN, G. et al. Anti-oxidant effects of cannabidiol relevant to intracerebral hemorrhage. **Frontiers in Pharmacology**, 14, 2023. <https://doi.org/10.3389/fphar.2023.1247550>.

YANG, J. L.; MUKDA, S.; CHEN, S. Der. Diverse roles of mitochondria in ischemic stroke. **Redox Biology**, [s.l.], v. 16, n° January, p. 263–275, 2018. ISSN: 22132317, DOI: 10.1016/j.redox.2018.03.002.

YANG, M. et al. Requirement of G β γ and c-Src in D2 dopamine receptor-mediated nuclear factor- κ B activation. **Molecular Pharmacology**, [s.l.], v. 64, n° 2, p. 447–455, 2003. ISSN: 0026895X, DOI: 10.1124/mol.64.2.447.

YAO, H. et al. Hyperforin promotes post-stroke neuroangiogenesis via astrocytic IL-6-mediated negative immune regulation in the ischemic brain. **Frontiers in Cellular Neuroscience**, [s.l.], v. 13, n° May, p. 1–17, 2019. ISSN: 16625102, DOI: 10.3389/fncel.2019.00201.

YLI-KARJANMAA, M. et al. Topical Administration of a Soluble TNF Inhibitor Reduces Infarct Volume After Focal Cerebral Ischemia in Mice. **Frontiers in Neuroscience**, 13, 2019a <https://doi.org/10.3389/fnins.2019.00781>.

YLI-KARJANMAA, M. et al. Topical Administration of a Soluble TNF Inhibitor Reduces Infarct Volume After Focal Cerebral Ischemia in Mice. **Frontiers in Neuroscience**, 13, 2019b. <https://doi.org/10.3389/fnins.2019.00781>.

YOUNG, L. M. De et al. Edema and cell infiltration in the phorbol ester-treated mouse ear are temporally separate and can be differentially modulated by pharmacologic agents. **Agents Actions**, [s.l.], v. 26, n° 3–4, p. 335–341, 1989. DOI: 10.1007/BF01967298.

YU, G. et al. Inhibition of myeloperoxidase oxidant production by N-acetyl lysyltyrosylcysteine amide reduces brain damage in a murine model of stroke. **Journal of Neuroinflammation**, 13(1), 119, 2016. <https://doi.org/10.1186/s12974-016-0583-x>.

YU, H. et al. The “Dialogue” Between Central and Peripheral Immunity After Ischemic Stroke: Focus on Spleen. **Frontiers in Immunology**, 12, 2021. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.792522>.

ZAID, Y. et al. Epidemiologic features and risk factors of sepsis in ischemic stroke patients admitted to intensive care : A prospective cohort study. **Journal of Clinical Neuroscience**, [s.l.], v. 69, p. 245–249, 2019. ISSN: 0967-5868, DOI: 10.1016/j.jocn.2019.07.031.

ZENG, J. et al. TRIM9-Mediated Resolution of Neuroinflammation Confers Neuroprotection upon Ischemic Stroke in Mice. **Cell Reports**, [s.l.], v. 27, n° 2, p. 549-560.e6, 2019. ISSN: 22111247, DOI: 10.1016/j.celrep.2018.12.055.

ZHENG, H. et al. Stroke recovery and rehabilitation in 2016: A year in review of basic science and clinical science. **Stroke and Vascular Neurology**, [s.l.], v. 2, n° 4, p. 222–229, 2017. ISSN: 20598696, DOI: 10.1136/svn-2017-000069.

ZHOU, C. et al. Activation of spleen tyrosine kinase (SYK) contributes to neuronal pyroptosis and cognitive impairment in diabetic mice via the NLRP3/Caspase-1/GSDMD signaling pathway. **Experimental Gerontology**, [s.l.], v. 198, p. 112626, 2024. ISSN: 05315565, DOI: 10.1016/j.exger.2024.112626.

ZHOU, Y. et al. Predictive Value of the Systemic Immune Inflammation Index for Adverse Outcomes in Patients With Acute Ischemic Stroke. **Neurol frontal**, [s.l.], v. 13, n° March, p. 1–11, 2022. DOI: 10.3389/fneur.2022.836595.

ZHU, G. et al. Crosstalk Between the Oxidative Stress and Glia Cells After Stroke : From Mechanism to Therapies. **Front Immunol**, [s.l.], v. 13, n° February, p. 1–16, 2022. DOI: 10.3389/fimmu.2022.852416.

ZHU, H. et al. Interleukins and Ischemic Stroke. **Frontiers in Immunology**, [s.l.], v. 13, n° January, p. 1–18, 2022. ISSN: 16643224, DOI: 10.3389/fimmu.2022.828447.

ANEXO A – AVALIAÇÃO DE DÉFICIT NEUROLÓGICO

Escala de déficit neurológico (EDN)	Pts.
Testes motores	
Segurando o rato pela cauda (1) <i>Flexão de membro anterior</i> (1) <i>Flexão de membro posterior</i> (1) <i>Movimento de cabeça >10° para o eixo vertical em 30s</i>	3
Colocando o rato no chão (normal = 0; máximo = 3) (0) <i>Marcha normal</i> (1) <i>Incapacidade de andar em linha reta</i> (2) <i>Paresia com andar em círculo para o lado parético</i> (3) <i>Paresia com queda para o lado parético</i>	3
Testes sensoriais	2
(1) Teste de colocação (teste visual e tátil) (2) Teste propriocetivo (sensação de profundidade, empurrando a pata contra a borda da mesa para estimular os músculos do membro)	
Teste de equilíbrio na trave (normal = 0; máximo = 6)	6
(0) Equilíbrio com postura firme (1) Segura o lado da trave (2) Abraça a trave e um membro cai da plataforma (3) Abraça a trave e dois membros caem da plataforma ou gira na plataforma (>60s) (4) Tenta se equilibrar na trave, mas cai (>40s) (5) Tenta se equilibrar na trave, mas cai (>20s) (6) Nenhuma tentativa de se equilibrar ou segurar na trave (<20s)	
Reflexos ausentes e movimentos anormais	4
(1) Reflexo do pavilhão auricular (agitação de cabeça ao tocar o pavilhão auricular) (1) Reflexo corneano (pisar os olhos ao tocar levemente as pálpebras com algodão) (1) Reflexo de sobressalto (resposta motora a um breve estímulo sonoro ao rasgar uma (1) Crises epilépticas, mioclonias e/ou mioclonia)	
Pontuação máxima	18
1 ponto é concedido pela incapacidade de realizar as tarefas ou pela falta de um reflexo testado; 1 a 6 pontos indica lesão neurológica leve; 7 a 12 pontos indica lesão neurológica moderada; 13 a 18 pontos indica lesão neurológica grave.	

ANEXO B- PARECER APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA



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



CERTIFICADO

Certificamos que o projeto abaixo especificado, que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovado** pela Comissão de Ética no Uso de Animais - CEUA da Universidade do Extremo Sul Catarinense - UNESC, em reunião de **23/04/2024**.

Título do projeto	Efeito do tratamento com canabidiol sobre a permeabilidade intestinal e dano pulmonar após o acidente vascular cerebral isquêmico experimental
Project title	The effect of cannabidiol treatment on bowel permeability and acute lung injury after experimental ischemic stroke.
Número do protocolo Protocol number	13/2024
Pesquisador principal Principal Investigator	FABRÍCIA CARDOSO PETRONILHO
Pesquisadores Researchers	Solange de Souza Stork, Khiany Damaris Mathias Maurilio, Richard Simon Machado, Larissa Joaquim, Lucineia Gainski Danielski, David dos Santos, Paulo Henrique Amboni Brunelli, Vilson Heinzen Cardoso, Anita Dal Bó Prudencio da Silva Tiscoski, Carla Damasio Martins, Fabrício Weinheimer Lippert, Maiara de Aguiar da Costa, Victoria Linden de Rezende, Sandra Bonfante, Natália Piacentini da Silva, Maria Amélia Cechinel da Silva, Victor Duílio Antunes Maragno, Poliana da Rocha de Azevedo, Naila Maciel Andrade.
Finalidade	() Ensino (X) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	25/04/2024 a 25/04/2025
Espécie/linhagem/raça	Rato heterogênico/ Wistar
Idade/Peso	60 dias/200 a 250g
Número de animais	Masculino 180
Procedência	Laboratório de Neurologia Experimental

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

Criciúma-SC, 23 de abril de 2024

Josiane Budni

Coordenadora da CEUA