



FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE COIMBRA

TRABALHO FINAL DO 6º ANO MÉDICO COM VISTA À ATRIBUIÇÃO DO
GRAU DE MESTRE NO ÂMBITO DO CICLO DE ESTUDOS DE MESTRADO
INTEGRADO EM MEDICINA

ISABEL SOFIA DE SOUSA PEDROSA

**APOE E TRANSFORMAÇÃO HEMORRÁGICA APÓS
ADMINISTRAÇÃO DE ALTEPLASE EM DOENTES COM
ACIDENTE VASCULAR CEREBRAL ISQUÉMICO
AGUDO**

ARTIGO CIENTÍFICO

ÁREA CIENTÍFICA DE NEUROLOGIA

TRABALHO REALIZADO SOB A ORIENTAÇÃO DE:

PROFESSORA DOUTORA MARIA ISABEL JACINTO SANTANA

DOUTOR GUSTAVO ANTONIO PEREIRA RODRIGUES CORDEIRO SANTO

SETEMBRO 2012

ISABEL SOFIA DE SOUSA PEDROSA

**APOE E TRANSFORMAÇÃO HEMORRÁGICA APÓS
ADMINISTRAÇÃO DE ALTEPLASE EM DOENTES COM
ACIDENTE VASCULAR CEREBRAL ISQUÉMICO
AGUDO**

Investigadores:

Isabel Sofia de Sousa Pedrosa

Maria Isabel Jacinto Santana

Gustavo António Pereira Rodrigues Cordeiro Santo

Ricardo Morais

João Sargento Freitas

Estudante do Curso de Mestrado Integrado em Medicina da Faculdade de Medicina da
Universidade de Coimbra

Rua Dr. António Granjo nº115 3050-225 Luso-Mealhada

sofias_pedrosa@hotmail.com

Dissertação apresentada à Universidade de Coimbra para cumprimento dos requisitos necessários para obtenção do grau de Mestre em Medicina, sob orientação científica da Professora Doutora Maria Isabel Jacinto Santana e co-orientação do Doutor Gustavo António Pereira Rodrigues Cordeiro Santo

Resumo:

Introdução:

O desenvolvimento de uma hemorragia intracraniana após realização de fibrinólise em contexto de acidente vascular cerebral isquémico agudo é um fenómeno complexo e multifactorial, cujo conhecimento permanece parcialmente incompreendido. O gene que codifica a apolipoproteína E é um potencial candidato implicado na sua etiopatogénese uma vez que os alelos $\epsilon 2$ e $\epsilon 4$ parecem estar envolvidos no desenvolvimento de angiopatia amilóide. Numa população de doentes com acidente vascular cerebral isquémico agudo analisou-se uma possível associação entre o alelo $\epsilon 4$ e o risco de transformação hemorrágica e hemorragia intracerebral sintomática após realização de fibrinólise endovenosa.

Metodologia:

Estudo prospectivo que decorreu no período compreendido entre 1 de Janeiro de 2011 e 31 de Agosto de 2012 e incidiu sobre uma população de doentes com acidente vascular isquémico agudo admitidos na unidade da respectiva patologia dos Hospitais da Universidade de Coimbra e que foram tratados com rt-PA dentro de 4,5 horas. Os dados referentes aos casos que cumpriam os critérios de inclusão e de exclusão foram recolhidos através da folha de entrada e da análise do processo clínico. Todos os doentes foram submetidos a exames de imagem antes e 24 horas após o tratamento trombolítico e procedeu-se à extracção do DNA para genotipagem da apolipoproteína E. Para avaliação do *status* do doente foram utilizadas a escala *National Institute of Health Stroke Scale* (NIHSS) e *modified Rankin scale* (mRs). O tratamento estatístico foi realizado com o *software* SPSS. Os doentes foram divididos de acordo com a presença ou ausência de um ou mais alelos $\epsilon 4$, desenvolvimento ou não de transformação hemorrágica e de hemorragia intracerebral sintomática.

Resultados:

Na análise univariada verificou-se uma relação estatisticamente significativa entre o desenvolvimento de transformação hemorrágica e a presença de fibrilhação auricular, hiperdensidade da ACM, pontuação mais elevada de NIHSS de entrada, às 2h e às 24h, na mRs no momento da alta e mais reduzida no ASPECTS. Na análise da relação entre as variáveis estudadas com a hemorragia intracerebral sintomática verificou-se uma relação significativa com diabetes mellitus, hipertensão arterial, fibrilhação auricular, insuficiência cardíaca congestiva, pontuação mais elevada de NIHSS às 2h e 24h, no *score* obtido na mRs no momento da alta e, por fim, no tempo decorrido entre os sintomas e o tratamento fibrinolítico. Na análise multivariada, apenas o valor de NIHSS e a pontuação do ASPECTS no momento de admissão se revelaram preditores independentes de transformação hemorrágica e de hemorragia intracerebral, respectivamente.

Conclusão:

Os resultados deste estudo não sugerem a presença de uma associação estatisticamente significativa entre a presença de pelo menos um alelo $\epsilon 4$ e o risco de desenvolvimento de transformação hemorrágica e hematoma intracraniano sintomático em doentes com acidente vascular isquémico agudo submetidos a fibrinólise.

Palavras-chaves: AVC isquémico; Apolipoproteína E; alelo $\epsilon 4$; transformação hemorrágica; fibrinólise.

Abstract:

Background:

The development of an intracranial haemorrhage after undergoing fibrinolysis in the context of acute ischemic stroke is a multifactorial and complex phenomenon, whose knowledge remains partially misunderstood. The gene encoding apolipoprotein E is a potential candidate involved in its etiopathogenesis since $\epsilon 2$ and $\epsilon 4$ alleles appear to be involved in the development of amyloid angiopathy. In a population of patients with acute ischemic stroke analyzed a possible association between the $\epsilon 4$ allele and the risk of hemorrhagic transformation and symptomatic intracerebral hemorrhage after undergoing intravenous fibrinolysis.

Methods:

This prospective study took place in the period between 1 January 2011 and 31 August 2012 and focused on a population of patients with acute ischemic stroke admitted in the unit of their pathology from the University Hospitals of Coimbra and who were treated with rt-PA within 4.5 hours. Data regarding cases that met the criteria for inclusion and exclusion were collected through the sheet entry and analysis of clinical process. All patients underwent imaging before and 24 hours after thrombolytic therapy and proceeded to the extraction of DNA for genotyping of apolipoprotein E. To review the status of the patient were used National Institute of Health Stroke Scale (NIHSS) and modified Rankin Scale (mRs). Statistical analysis was performed with SPSS software. Patients were divided according to the presence or absence of one or more $\epsilon 4$ alleles, development or absence of hemorrhagic transformation and symptomatic intracerebral hemorrhage

Results:

In univariate analysis there was a statistically significant relationship between the hemorrhagic transformation and the presence of atrial fibrillation, hyperdensity ACM, NIHSS score highest entry, and at 2h to 24h in mRs at discharge and lower in ASPECTS. In the analysis of the relationship between variables with symptomatic intracerebral hemorrhage there was a significant relationship with diabetes mellitus, hypertension, atrial fibrillation, congestive heart failure, NIHSS score highest at 2 and 24 h, the score obtained in the mRs at discharge and the time elapsed between symptoms and fibrinolytic treatment. In multivariate analysis, only the value of the NIHSS and ASPECTS score on admission proved to be independent predictors of hemorrhagic transformation and intracerebral hemorrhage, respectively.

Conclusion:

The results of this study don't suggest the presence of a statistically significant association between the presence of at least one $\epsilon 4$ allele and the risk of hemorrhagic transformation and hematoma intracranial symptomatic in patients with acute ischemic stroke undergoing fibrinolysis.

Keywords: ischemic stroke; Apolipoprotein E; $\epsilon 4$ allele; hemorrhagic transformation; fibrinolysis.

Índice

Lista de Abreviaturas.....	8
Introdução.....	9
Metodologia.....	12
1. Doentes	12
2. Determinação do genótipo da apolipoproteínaE	15
3. Análise Estatística	15
Resultados.....	16
Discussão.....	22
1. População	22
2. Apolipoproteína E	22
3. Transformação hemorrágica e SICH	25
4. Limitações	29
Referências	32
Anexos.....	36

Lista de Abreviaturas

- AAP: Antiagregante plaquetar
- ACM: Artéria Cerebral Média
- ACO: Anticoagulante oral
- AINE: Anti-inflamatório não esteróide
- AP de AVC: Antecedentes pessoais de acidente vascular cerebral
- ApoE: Apolipoproteína E
- ASPECTS: *Alberta Stroke Program Early CT Score*
- AVC: Acidente Vascular Cerebral
- AVCi: Acidente Vascular Cerebral isquêmico
- BHE: Barreira hemato-encefálica
- DM: Diabetes Mellitus
- DP: Desvio Padrão
- FA: Fibrilhação Auricular
- HIC: Hemorragia intracerebral
- HTA: Hipertensão Arterial
- ICC: Insuficiência Cardíaca Congestiva
- INR: *International Normalized Ratio*
- LDL: *low-density lipoprotein*
- MMP: Metaloproteinase
- mRs: *modified Rankin scale*
- NIHSS: *National Institute of Health Stroke Scale*
- NINDS: *National Institute of Neurological Disorders and Stroke*
- Pv: Periventricular
- SBP: Substância Branca Profunda
- SICH: Hemorragia intracerebral sintomática
- SITS-MOST: *Safe Implementation of Trombolysis in Stroke Monitoring Study*
- rt-PA: alteplase
- RMN-CE: ressonância magnética nuclear craneo-encefálica
- TC: Tomografia computadorizada
- TC-CE: Tomografia computadorizada craneo-encefálica

Introdução

O acidente vascular cerebral (AVC) é uma situação comum em neurologia e também uma das principais causas de incapacidade grave e morte. Em Portugal, de acordo com os dados estatísticos disponíveis, é a principal causa de morte.

O AVC isquémico resulta da oclusão de uma artéria, com consequente ausência de perfusão na área cerebral por ela irrigada. Por outro lado, no AVC hemorrágico, ocorre a rotura de um vaso cerebral com subsequente distribuição do sangue pelo parênquima adjacente.

Com o estudo *National Institute Neurological Disorders and Stroke* (NINDS) foi possível evidenciar, pela primeira vez, o benefício clínico de um fármaco com acção fibrinolítica, o rt-PA ou alteplase, no tratamento do AVC isquémico (AVCi) agudo.

A hemorragia intracerebral (HIC) após o tratamento fibrinolítico constitui o efeito secundário mais grave e tem, por vezes, consequências fatais. Desenvolve-se nas primeiras 24 a 36h após a trombólise. Aquelas que surgem para além deste limite temporal são consideradas não relacionadas com o rt-PA.

O desenvolvimento de uma HIC induzida pela terapêutica de revascularização em contexto de AVCi agudo é um fenómeno heterogéneo e complexo, que envolve numerosos parâmetros, e cujo conhecimento permanece parcialmente incompreendido. (Derex, et al., 2008). Provavelmente, inclui uma combinação de vários processos distintos: o efeito directo de agentes fibrinolíticos e a alteração da barreira hematoencefálica (BHE), sendo esta última desencadeada pela isquemia. De facto, estudos experimentais demonstraram que existe uma lesão da lâmina basal dos vasos sanguíneos bem como o comprometimento da adesão entre as células da microvasculatura e da matriz extracelular. Tudo isto contribui para um aumento da permeabilidade capilar e

influxo de componentes plasmáticos sobretudo dos que exacerbam a reacção inflamatória, o que aumenta ainda mais a permeabilidade endotelial (Zoppo, et al., 1998).

A transformação hemorrágica também envolve a participação das metaloproteinases (MMP) cuja activação é desencadeada pela rotura da BHE. A activação da MMP-9 está associada a um aumento da permeabilidade da barreira com a formação de edema e transformação hemorrágica (Asahi, et al., 2001).

Em virtude do seu efeito potencialmente devastador, a identificação de preditores independentes clínicos, biológicos ou imagiológicos, de transformação hemorrágica e hemorragia cerebral sintomática (SICH) consequente à terapêutica com rt-PA é da maior utilidade clínica. Na última década têm vindo a ser apresentados numerosos estudos neste domínio. Todas as variáveis, a seguir discriminadas, já foram associadas, de uma forma ou de outra, ao efeito secundário descrito: idade, sexo, hipertensão arterial (HTA), diabetes mellitus (DM), dislipidémia, fibrilhação auricular (FA), insuficiência cardíaca congestiva (ICC), hiperglicémica, antecedentes pessoais e familiares de AVC, angiopatia amilóide cerebral esporádica e sinais precoces de isquemia detectados na tomografia computadorizada (TC) (Larrue, et al., 2001).

Apesar de se conhecer a influência destes factores, cada vez mais se assiste à pesquisa incessante de determinantes genéticos. O gene que codifica a apolipoproteína E (ApoE) é um dos genes mais amplamente estudados em patologia vascular e neurodegenerativa. Trata-se de um polimorfismo com 3 alelos: $\epsilon 2$, $\epsilon 3$ e $\epsilon 4$ dando origem a seis genótipos diferentes: $\epsilon 3\epsilon 3$, $\epsilon 3\epsilon 2$, $\epsilon 3\epsilon 4$, $\epsilon 2\epsilon 4$, $\epsilon 2\epsilon 2$ e $\epsilon 4\epsilon 4$. Em Portugal, o alelo $\epsilon 2$ apresenta uma frequência de 6,34%, o $\epsilon 3$ de 83,95% e o $\epsilon 4$ de 9,71% (Schiele, et al., 2000). Os alelos $\epsilon 2$ e $\epsilon 4$ da ApoE foram associados ao risco de HIC. De facto, estes dois alelos foram sugeridos como promotores da hemorragia associada a angiopatia cerebral

amilóide segundo diferentes mecanismos: $\epsilon 4$ estaria relacionado com o aumento da deposição de amilóide nos vasos cerebrais e $\epsilon 2$ contribuiria para alterações patológicas vasculares (p.e. fissuras e necrose fibrinóide) que culminariam numa rotura do vaso (Thanvi, et al., 2006).

O objectivo principal deste estudo prospectivo é relacionar o genótipo de ApoE com o risco de transformação hemorrágica após tratamento com fibrinólise em doentes com AVCi agudo. Até ao momento não são conhecidos estudos publicados neste domínio concreto. O objectivo secundário é procurar outros preditores de transformação hemorrágica ou SICH, no mesmo contexto.

Metodologia

1. Doentes

Este estudo prospectivo incidiu sobre uma população de doentes com AVCi agudo admitidos na unidade de AVC dos Hospitais da Universidade de Coimbra que foram tratados com rt-PA dentro de 4,5 horas após o evento e que cumpriam os critérios de inclusão e exclusão estabelecidos (**Tabela 1**). O estudo decorreu no período compreendido entre 1 de Janeiro de 2011 e 31 de Agosto de 2012.

Todos os doentes foram submetidos a determinação do genótipo da ApoE e realizaram TC de diagnóstico no momento da admissão e de controlo 24 horas a 36 horas após o evento.

Tabela 1: Critérios de inclusão e exclusão

Critérios de inclusão	Critérios de exclusão
Idade superior a 18 anos	Patologias relacionadas com adição de drogas.
Tempo desde início do AVCi até ao tratamento fibrinolítico inferior ou igual a 4.5h	Doente submetidos a fibrinólise intra-arterial.
Admissão na unidade de AVC entre 1 de Janeiro de 2011 a 31 de Agosto de 2012	Presença de outras causas secundárias de HIC
Realização da genotipagem da Apo E.	Demência pré-existente
Realização de TC de diagnóstico e controlo 24 a 36h após a instalação dos sintomas	

Os dados dos doentes foram recolhidos a partir da consulta dos respectivos processos clínicos, nomeadamente da folha de entrada que contém a informação sobre antecedentes pessoais e familiares, factores de risco, medicação prévia, caracterização do AVC de acordo com a classificação etiológica de *Trial of ORG in Acute Stroke Treatment* (TOAST) modificada, entre outros parâmetros. (**Anexo A**)

O AVC, definido como uma disfunção neurológica aguda, foi diagnosticado através de uma correlação clínica-imagiológica, incluindo o exame neurológico realizado pelo neurologista de serviço à urgência e/ou unidade de AVC e a tomografia computadorizada craneo-encefálica (TC-CE). A caracterização etiopatogénica do AVC teve por base a classificação TOAST modificada (**Anexo B**).

Foram ainda utilizadas escalas de medida do *status* funcional do doente. A independência funcional foi determinada pela classificação de *modified Rankin scale* (mRs) prévia e na altura da alta (**Anexo C**). Para a avaliação do grau de severidade neurológica recorreu-se a *National Institute of Health stroke scale* (NIHSS) que foi calculada no momento de admissão, às 2h e 24h. (**Anexo D**).

Todos os doentes realizaram TC na altura do diagnóstico e 24-36h após a terapêutica fibrinolítica para controlo da sua evolução. De acordo com o protocolo de estudo, e com a finalidade de garantir a consistência da avaliação e evitar enviesamentos, estes exames foram revistos por um mesmo neurorradiologista que não teve acesso à restante informação.

Na TC pré-fibrinólise, para detecção de sinais precoces de enfarte foi usada a *Alberta Stroke Program Early CT Score* (ASPECTS) que quantifica o comprometimento isquémico topográfico pela divisão da artéria cerebral média (ACM) em 10 regiões. A TC sem evidência de isquemia é pontuada com 10 pontos, subtraindo um para cada uma das regiões com evidência de lesão. Na **Figura 1** estão representados os territórios da ACM analisados no ASPECTS. Ainda na TC inicial foi registada a presença ou ausência de hiperdensidade da artéria presumivelmente ocluída.

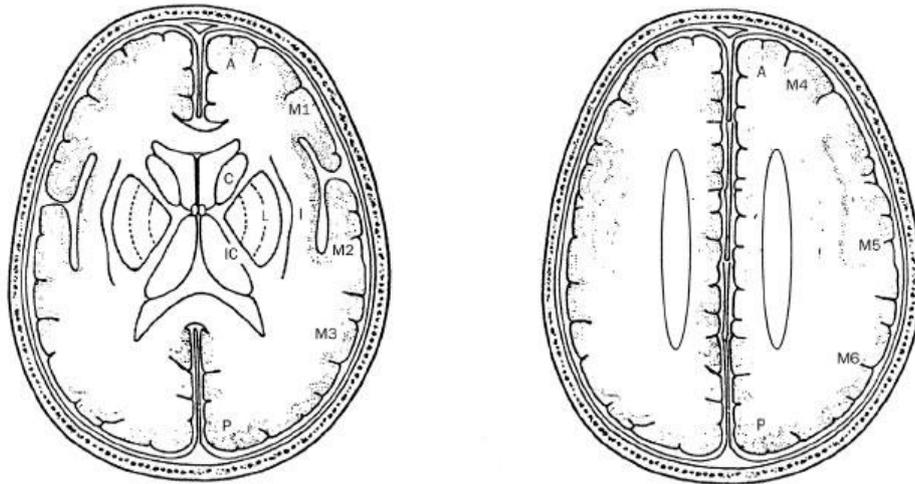


Figura 1: Territórios da artéria cerebral média analisados no ASPECTS

Na TC pós-fibrinólise pesquisou-se, essencialmente, a presença ou não de hemorragia e edema cerebral. A hemorragia intracraniana foi avaliada segundo a classificação de *European Acute Stroke Study III* (ECASS III) que discrimina a transformação hemorrágica em 6 categorias (**Anexo E**). Recorreu-se à definição de SICH utilizada no estudo ECASS III e que é, no essencial, clínico-imagiológica: presença de sangue intracerebral na TC de controlo após administração de rt-PA e agravamento, em pelo menos 4 pontos, na escala NIHSS.

Na **Figura 2** apresentamos imagens de TC-CE de doentes com diferentes categorias da classificação ECASS.

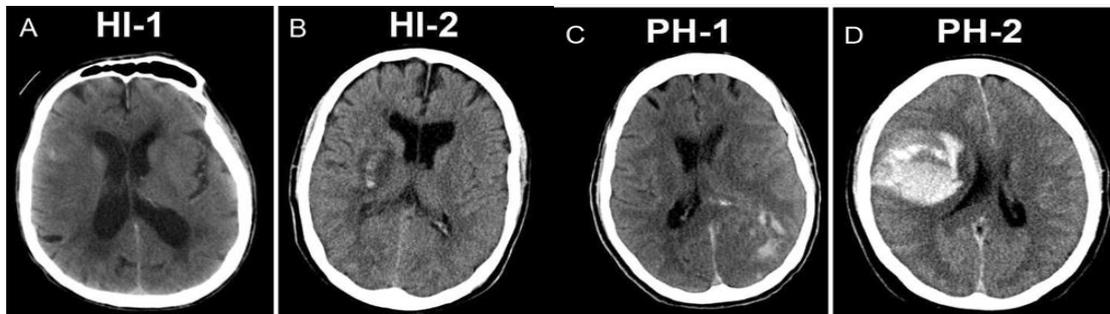


Figura 2 - Imagens de TC-CE de doentes com hemorragia intracerebral em diferentes estadios segundo a classificação de ECASS

O edema foi classificado em 3 graus que estão descritos no **Anexo F**. A presença de leucoencefalopatia foi avaliada segundo os critérios de Fazekas que se encontram na **Anexo G**.

2. Determinação do genótipo da apolipoproteínaE

A identificação do genótipo da ApoE foi realizada pelo laboratório de neuroquímica ou de Hematologia dos Hospitais da Universidade de Coimbra. O DNA foi isolado a partir do sangue total usando um kit comercial (*Roche Diagnostics GmbH Mannheim*, Alemanha), como descrito pelo fabricante. O genótipo da ApoE foi determinado pela reacção de polimerização em cadeia e polimorfismo no comprimento de fragmentos de restrição.

3. Análise Estatística

Para a análise estatística dos dados foi usado o software SPSS versão 20.0 (SPSS, Inc; Chicago; IL; USA). A significância foi definida para $p < 0,050$.

O teste qui-quadrado foi utilizado para comparar variáveis dicotómicas. Para a análise de variáveis contínuas recorreu-se ao teste t-Student. O teste mann-whitney foi utilizado quando necessário.

Na análise multivariada recorreu-se ao modelo de regressão logística binário com método de entrada *forward conditional*. As variáveis dependentes seleccionadas foram as que apresentavam $p < 0.200$.

Resultados

Durante o período estudado, 165 doentes realizaram fibrinólise. Foram excluídos 56 doentes por não cumprirem os critérios previamente definidos. Dos 109 doentes incluídos, 46 (42.2%) eram do sexo feminino e 63 (57.8%) do sexo masculino, com uma média de idades de 73.8 (DP:11.3)¹. O alelo mais prevalente na população estudada foi o $\epsilon 3$ (87.2%), seguido do $\epsilon 4$ (6.9%) e por fim o $\epsilon 2$ (5.9%) (**Figura 3**).

Na **Tabela 2** apresentam-se os factores de risco vascular analisados, medicação prévia com estatinas, AINE, anticoagulantes orais e antiagregantes plaquetares e na **Tabela 3** os parâmetros analíticos e

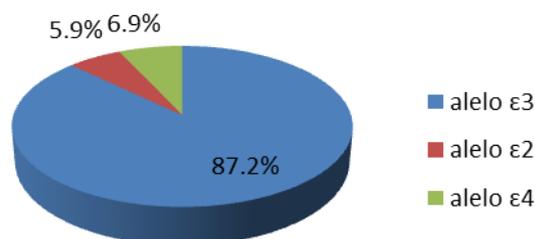


Figura 3: Representação gráfica da prevalência dos alelos da apolipoproteína E

valor da tensão arterial no momento de admissão, *score* de NIHSS (entrada, 2h e 24h) e o tempo sintomas-agulha.

Tabela 2: Factores de risco vascular e medicação prévia com estatinas, anti-inflamatórios não esteróides, antiagregantes plaquetares e anticoagulantes orais

	N	Percentagem (%)
HTA	86	(80.4%)
DM	32	(29.9%)
FA	52	(48.6)
ICC	12	(11.2%)
Coronariopatia	10	(9.3%)
Dislipidemia	43	(40.2%)
AP de AVC	13	(12.3%)
Tabagismo	15	(13.8%)
Alcoolismo	13	(11.9%)
Estatinas	32	(29.4%)
ACO	6	(5.5)
AAP	35	(32.1%)
AINE	8	(7.5%)

As variáveis são expressas como número absoluto e percentagem (n%). Os valores expressos para cada uma das variáveis dizem respeito aos doentes que possuem as características indicadas.

HTA: hipertensão arterial; DM: diabetes mellitus; FA: fibrilhação auricular; ICC: insuficiência cardíaca congestiva; AP de AVC: antecedentes pessoais de AVC; ACO: anticoagulantes orais; AAP: antiagregantes plaquetares; AINE: anti-inflamatórios não esteróides.

¹ A idade é expressa como média \pm desvio padrão (DP).

Tabela 3: Valores analíticos, tensão arterial na admissão, NIHSS inicial, às 2h e 24h e tempo sintomas-agulha

	Média	Desvio Padrão
Glicémia de entrada	129.9	40.6
LDL	125.4	31.3
Colesterol Total	184.38	39.3
INR	1.2	0.2
TAS entrada	167.3	28.6
TAD entrada	83.6	19.3
NIHSS entrada	14.3	6.7
NIHSS 2h	12.1	8.2
NIHSS 24h	14.0	13.8
Sintomas-agulha	161.9	53.2

Glicémia (em mg/dl); Colesterol total e LDL: (mg/dL); INR: *International Normalized Ratio*; TAS (em mmHg): tensão arterial sistólica; TAD (em mmHg): tensão arterial diastólica; Sintomas-agulha (em minutos): tempo que decorre desde o início do evento até à realização da fibrinólise.

Tabela 4: Parâmetros imagiológicos avaliados

	Mediana	(Quartil25-Quartil75)
ASPECTS	9	(8-10)
Leucoencefalopatia SBP	1	(1-2)
Leucoencefalopatia Pv	2	(1-2)
Edema	0	(0-2)
	N	Percentagem
Hiperdensidade ACM	53	(49.1%)
Transformação hemorrágica	32	(29.4%)
SICH	9	(8.3%)

ASPECTS: *Alberta Stroke Program Early CT Score*; SBP: substância branca profunda; Pv: periventricular; ACM: artéria cerebral média; SICH: hemorragia intracerebral sintomática.

Na **Tabela 4** são apresentados os resultados da análise imagiológica.

A população foi dividida em 2 grupos de acordo com a genotipagem da ApoE: doentes portadores de um ou mais alelos $\epsilon 4$ e doentes sem qualquer alelo $\epsilon 4$. A comparação das características deste grupo está representada na **Tabela 5**. Realizou-se o mesmo procedimento para a transformação hemorrágica e SICH cujos resultados são apresentados na **Tabela 6**.

Tabela 5: Comparação dos factores de risco vascular, medicação prévia com estatinas, anti-inflamatórios não esteróides, anticoagulantes orais e antiagregantes plaquetares, valores laboratoriais, tensão arterial de entrada; NIHSS (entrada, 2h e 24h), mRs prévio e na alta, dose da fibrinólise, tempo sintomas-agulha e resultados da avaliação imagiológica com a presença do alelo $\epsilon 4$

	Alelo $\epsilon 4$		P
	Presente	Ausente	
Idade	69.0 (18.6)	74.5 (9.9)	0.314
Sexo masculino	6 (46.2%)	57 (59.4%)	0.386
DM	2 (15.4%)	30 (31.9%)	0.347
HTA	11 (84.6%)	75 (79.8%)	0.837
FA	3 (23.1%)	49 (52.1%)	0.076
Coronariopatia	2 (15.4%)	8 (8.5%)	0.684
ICC	3 (23.1%)	9 (9.6%)	0.316
Dislipidemia	5 (38.5%)	38 (40.4%)	0.852
Alcoolismo	1 (7,7%)	12 (12,5%)	1.000
Tabagismo	2 (15.4%)	13 (13.5%)	0.565
AP de AVC	1 (7.7%)	12 (12.9%)	1.000
AAP prévio	6 (42.2%)	29 (30.2%)	0.342
ACO prévio	2 (15.4%)	4 (4.2%)	0.150
AINE prévio	0	8 (8.5%)	0.592
Estatina prévia	5 (38.5%)	27 (28.1%)	0.519
Glicémia de entrada	109.4 (32.7)	132.8 (40.9)	0.051
Colesterol Total	195.4(27.5)	182.8(40.6)	0.301
LDL	130 (24.3)	125.8(32.2)	0.598
INR	1.1 (0.1)	1.2 (0.2)	0.138
TAS entrada	158.4 (30.0)	168.5 (28.4)	0.233
TAD entrada	76.7 (14.4)	84.5 (19.7)	0.177
NIHSS entrada	13.8 (8.4)	14.4(6.5)	0.781
NIHSS 2h	10.0 (7.4)	12.3 (8.3)	0.431
NIHSS 24h	11.7 (9.2)	14.29 (14.2)	0.590
mRs prévio	0 (0-0)	0 (0-0)	0.383
mRs alta	3.5 (1-5)	3.0 (1-5)	0.972
Dose	58.6 (8.9)	60.3 (12.3)	0.495
Sintomas-agulha	145.9 (48.6)	164.01(53.7)	0.250
ASPECTS	10 (7.50-10)	9 (8-10)	0.159
Hiperdensidade da ACM	9 (69.2%)	44 (46.3%)	0.147
Transformação hemorrágica	4 (30.8%)	28 (29.2%)	1.000
SICH	0 (0.0%)	9 (9.4%)	0.596
LeucoencefalopatiaPv	1 (1-2)	2 (1-2)	0.201
Leucoencefalopatia SBP	1 (1-1)	2 (1-2)	0.441

Resultados apresentados como: média e desvio padrão para idade, valores analíticos, tensão arterial, escala de NIHSS, dose e tempo sintomas-agulha. Como mediana e quartis 25 e 75 para edema cerebral, escala de mRs, ASPECTS e leucoencefalopatia. Como número absoluto e percentagem para as restantes variáveis.

HTA: hipertensão arterial; DM: diabetes mellitus; FA: fibrilhação auricular; ICC: insuficiência cardíaca congestiva; AP de AVC: antecedentes pessoais de AVC; ACO: anticoagulantes orais; AAP: antiagregantes plaquetares; AINE: anti-inflamatórios não esteróides; Glicémia (mg/dL); Colesterol e LDL: (mg/dL); INR: *International Normalized Ratio*; TAS (mmHg): tensão arterial sistólica; TAD (mmHg): tensão arterial diastólica; Sintomas-agulha (em minutos): tempo que decorre desde o início do evento até à realização da fibrinólise; SBP: substância branca profunda; Pv: periventricular; ACM: artéria cerebral média; SICH: hemorragia intracerebral sintomática.

Tabela 6: Comparação dos factores de risco vascular, medicação prévia com estatinas, anti-inflamatórios não esteróides, anticoagulantes orais e antiagregantes plaquetares, valores laboratoriais, tensão arterial de entrada; NIHSS (entrada, 2h e 24h), mRs prévio e na alta, dose de alteplase, tempo sintomas-agulha e resultados da avaliação imagiológica com a transformação hemorrágica e hemorragia intracerebral sintomática

	Transformação Hemorrágica			SICH		
	Presente	Ausente	P	Presente	Ausente	P
Idade	74.1(11.9)	73.7(11.1)	0.868	78.1(4.5)	73.5(11.7)	0.239
Sexo masculino	21(65.6%)	42(54.5%)	0.395	6(66.7%)	57(57.0%)	0.731
DM	9 (28.1%)	23(30.7%)	0.368	4(44.4%)	29(28.6%)	0.001
HTA	25(78.1%)	61(81.3%)	0.089	6 (66.7%)	80(81.6%)	0.001
FA	16(50.0%)	36(48.0%)	0.022	5 (55.6%)	47(48.0%)	0.001
Coronariopatia	2 (6.2%)	8 (10.7)	0.245	1 (11.1%)	9 (9,2%)	0.939
ICC	2 (6.2%)	10(13.3%)	0.058	0 (0.0%)	12(12.2%)	0.001
Alcoolismo	3 (9.4%)	10(13.0%)	0.752	2 (22.2%)	11(11.0%)	0.292
Tabagismo	5 (15.6%)	10(13.0%)	0.763	1 (11.1%)	14(14.0%)	1.000
AP de AVC	0 (0.0%)	1 (1.4%)	1.000	3 (33.3%)	10(10.3%)	0.079
AAP prévio	14(43.8%)	21(27.3%)	0.116	5 (55.6%)	30(30.0%)	0.143
ACO prévio	2 (6.2%)	4 (5.2%)	1.000	0 (0.0%)	6 (6.0%)	1.000
AINE prévio	4 (12.5%)	4 (5.3%)	0.236	0 (0.0%)	8 (8.2%)	1.000
Estatina prévia	12(37.5%)	20(26.0%)	0.254	3(33.3%)	29(29.0%)	0.720
Glicémia	129.4(31.1)	130.1(44.2)	0.929	140.2(42.1)	128.8(40.5)	0.410
Colesterol Total	179.4(35.2)	186.6(41.0)	0.813	172.4(31.1)	185.6(39.4)	0.342
LDL	124.2(28.8)	125.9(35.6)	0.821	121.7(35.2)	125.8(31.2)	0.745
INR	1.2(0.1)	1.2(0.2)	0.478	1.2(0.2)	1.1(0.2)	0.607
TAS entrada	166.0(30.9)	167.8(27.8)	0.762	166.8(26.1)	167.3(29.0)	0.953
TAD entrada	84.4(27.0)	83.2(15.1)	0.818	76.2(26.3)	84.2(18.5)	0.396
NIHSS entrada	16.8 (6.1)	13.4 (6.7)	0.018	14.0(5.9)	14.4(6.8)	0.873
NIHSS 2h	19.1 (7.3)	9.2 (6.7)	0.001	20.3 (10.0)	11.2 (7.6)	0.001
NIHSS 24h	20.3(8.5)	11.3(14.7)	0.003	25.2 (10.3)	12.8(13.6)	0.009
mRs prévio	0(0-0)	0(0-0)	0.422	0 (0-0)	0 (0-0)	0.394
mRs alta	5 (4-6)	3 (1-4)	0.001	5 (4-6)	3 (1-4)	0.001
Dose	60.7 (10.3)	59.8 (12.6)	0.741	58.4 (10.8)	60.2 (12.0)	0.676
Sintomas-agulha	173.9(51.5)	156.9(53.5)	0.129	198.6(42.2)	158.6(53.0)	0.030
ASPECTS	8 (7-9,75)	9 (8-10)	0.022	8 (7-9,75)	9(8-10)	0.106
Hiperdensidade ACM	21 (65.6%)	32 (42.1%)	0,035	7 (77.8%)	46 (46.5%)	0.090
LeucoencefalopatiaPv	2 (1-2)	1 (1-2)	0.253	1 (1-2)	1 (1-2)	0.548
Leucoencefalopatia SBP	1 (1-2)	2(1-2)	0.176	2 (1-2)	2(1-2)	0.490

Resultados apresentados como: média e desvio padrão para idade, valores analíticos, tensão arterial, escala de NIHSS, dose e tempo sintomas-agulha. Como mediana e quartis 25 e 75 para escala de mRs, ASPECTS e leucoencefalopatia. Como número absoluto e percentagem para as restantes variáveis.

HTA: hipertensão arterial; DM: diabetes mellitus; FA: fibrilhação auricular; ICC: insuficiência cardíaca congestiva; AP de AVC: antecedentes pessoais de AVC; ACO: anticoagulantes orais; AAP: antiagregantes plaquetares; AINE: anti-inflamatórios não esteróides; Glicémia (mg/dL); Colesterol e LDL: (mg/dL); INR: *International Normalized Ratio*; TAS (mmHg): tensão arterial sistólica; TAD (mmHg): tensão arterial diastólica; Sintomas-agulha (em minutos): tempo que decorre desde o início do evento até à realização da fibrinólise; SBP: substância branca profunda; Pv: periventricular; ACM: artéria cerebral média; SICH: hemorragia intracerebral sintomática.

Na **tabela 5** não se verificou a existência de uma relação estatisticamente significativa entre nenhuma das variáveis com a presença de um alelo ou mais $\epsilon 4$.

Na análise da **tabela 6** verificou-se a existência de uma relação estatisticamente significativa entre o desenvolvimento de transformação hemorrágica e a presença de fibrilhação auricular ($p=0.022$), hiperdensidade da ACM ($p=0.035$), pontuação mais elevada na NIHSS de entrada, às 2h e às 24h ($p=0.018, 0.001, 0.003$, respectivamente), na mRs no momento da alta ($p=0.001$) e mais reduzida no ASPECTS ($p=0.022$). Na comparação das diferentes variáveis com a hemorragia intracerebral sintomática verificou-se uma relação significativa com Diabetes Mellitus ($p=0.001$), HTA ($p=0.001$), FA ($p=0.001$), ICC ($p=0.001$), pontuação mais elevada de NIHSS às 2h e 24h ($p= 0.001$ e 0.009 , respectivamente), na mRs na alta ($p=0.001$) e, por fim, no tempo decorrido entre os sintomas e o tratamento fibrinolítico ($p=0.030$) (quanto maior o tempo, maior o risco de desenvolvimento de SICH). Não se verificou qualquer associação estatisticamente significativa entre as restantes variáveis e a transformação hemorrágica ou SICH.

Tabela 7: Comparação do tipo de hemorragia intracerebral com a presença do alelo $\epsilon 4$

Tipo de hemorragia	Alelo $\epsilon 4$		p	
	N (%)	Presente		Ausente
HI1	15 (13.9%)	3 (23.1%)	12 (12.6%)	0.535
HI2	3 (2.8%)	1 (7.7%)	2 (2.1%)	
PH 1	4 (3.7%)	0 (0.0%)	4 (4.2%)	
PH 2	8 (7.4%)	0 (0.0%)	8 (8.4%)	
PHr1	2 (1.9%)	0 (0.0%)	2 (2.1%)	
PHr 2	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	

HI 1: pequenas petéquias localizadas nas margens do enfarte; **HI 2:** petéquias de maiores dimensões confluentes na área de enfarte; **PH 1:** hemorragia $\leq 30\%$ da área de enfarte com ligeiro efeito de massa; **PH 2:** hemorragia $> 30\%$ da área de enfarte com efeito de massa; **PHr 1:** hematoma pequeno ou médio de localização remota da área de enfarte com ligeiro efeito de massa; **PHr 2:** hematoma grande de localização remota da área de enfarte que pode ter associado importante efeito de massa.

Na **Tabela 7** estão descritos os tipos de hemorragia e a sua distribuição de acordo com a presença ou ausência do alelo $\epsilon 4$. Não se observaram mais uma vez associações significativas.

Para analisar a dependência entre as variáveis propostas para estudo foi criado um modelo de regressão logística (**Tabela 8**). As variáveis dependentes seleccionadas foram as que apresentavam $p < 0.200$. Nesta análise, apenas o valor de NIHSS e a pontuação do ASPECTS no momento de admissão se revelaram preditores independentes de transformação hemorrágica e SICH, respectivamente.

Tabela 8: Valores de p dos modelos de regressão logística para a transformação hemorrágica e SICH

	Transformação Hemorrágica	SICH
HTA	0.233	0.134
FA	0.840	0.894
ICC	0.233	0.138
DM	-	0.861
AP de AVC	-	0.057
AAP prévio	-	0.816
NIHSS	0.029	0.612
mRs alta	0.405	-
Sintomas-agulha	0.120	0.064
ASPECTS	0.592	0.033
Hiperdensidade ACM	0.124	0.155
Alelo $\epsilon 4$	0.971	0.998

HTA: hipertensão arterial; DM: diabetes mellitus; FA: fibrilhação auricular; ICC: insuficiência cardíaca congestiva; AP de AVC: antecedentes pessoais de AVC; AAP: antiagregantes plaquetares; Sintomas-agulha: tempo que decorre desde o início do evento até à realização da fibrinólise; ACM: artéria cerebral média; SICH: hemorragia intracerebral sintomática.

Discussão

1. População

Relativamente às características demográficas da população em estudo verificou-se uma predominância do sexo masculino (57.8%) e de indivíduos idosos (73.8 anos, DP:11.3), o que está em linha com estudos prévios, razão pela qual a idade e o género masculino são considerados factores de risco não modificáveis para a doença vascular cerebral isquémica (Soler, et al., 2010). Quanto aos restantes factores de risco vascular obteve-se uma maior prevalência de HTA (80.4%), FA (48.6%), dislipidémia (40.2%) e DM (29.9%), semelhante aos resultados obtidos em múltiplos estudos (Arboix, et al., 2010).

2. Apolipoproteína E

O alelo $\epsilon 3$ foi o mais prevalente (87.2%) seguido do alelo $\epsilon 4$ (6.9%) e $\epsilon 2$ (5.9%). Estes resultados já eram esperados e estão de acordo com a literatura até agora descrita (Schiele, et al., 2000).

A presença de pelo menos um alelo de $\epsilon 4$ é um conhecido factor de risco para o desenvolvimento da Doença de Alzheimer. Parece ainda desempenhar, um papel importante na patogénese da angiopatia amilóide cerebral, uma importante causa de hemorragia intracerebral primária lobar, em particular em doentes idosos. Na verdade, já foi demonstrado que a presença de um alelo $\epsilon 4$ está relacionada com o aumento da deposição de amilóide na vasculatura cerebral (Thanvi, et al., 2006) que, por sua vez, poderá ser um potencial factor de risco para o desenvolvimento de HIC após trombólise (McCarron and Nicoll, 2004), sobretudo em doentes nas mesmas faixas etárias.

Em teoria o alelo $\epsilon 4$ poderá contribuir para a transformação hemorrágica por diversos mecanismos: modulação da resposta inflamatória, promoção do stress oxidativo, alteração da permeabilidade e integridade da BHE, indução da apoptose endotelial, vasoconstrição e excitotoxicidade. Por outro lado, o efeito neuroprotector do alelo $\epsilon 4$ parece ser inferior ao dos outros alelos. Segundo pesquisas recentes, ApoE modula a função microglial e inibe a secreção de citocinas de uma forma competitiva por ligação a receptores específicos. Este efeito imunomodulador pode explicar em parte o seu papel neuroprotector na HIC. Enquanto que a relativa ineficácia do alelo $\epsilon 4$ pode contribuir para um prognóstico mais desfavorável (Lantern, et al., 2009).

Compostos ferrosos, tais como a hemoglobina são uma significativa fonte de radicais livres de oxigênio que por sua vez, pode alterar a permeabilidade da BHE., aumento de cálcio intracelular e inibição dos vasodilatadores, contribuindo, deste modo, para o vasospasmo cerebral. A ApoE, por sua vez, poderá ter algum papel na inactivação dos radicais livres (um estudo documenta o aumento da concentração de peroxidase lipídica nos ratos sem o gene da ApoE) (Fagan, et al., 2000). O alelo $\epsilon 4$ é menos eficaz, e por isso, será de esperar um maior risco de vasoespasmo e um agravamento da lesão tecidual em caso de isquemia cerebral. Vários trabalhos indicaram que ApoE poderá modificar a resposta do cérebro perante a isquemia cerebral (Lantern, et al., 2009). A hipoperfusão global causada pela hipertensão intracraniana e a própria isquemia focal induzida pelo vasospasmo cerebral são consequências comuns e devastadoras de hemorragia intracerebral. Os resultados são controversos mas, efectivamente, os efeitos do alelo $\epsilon 4$ têm sido relatados em diferentes situações clínicas associadas a isquemia cerebral. Diferentes estudos *in vivo* têm demonstrado que ratos sem o gene da ApoE têm enfartes maiores e com piores resultados após a isquemia focal

e global. Por outro lado, os ratos que expressam o alelo $\epsilon 4$ humano apresentam um maior risco de má evolução funcional. (Horsburgh, et al., 2000).

Apesar do fundamento fisiopatológico, os resultados deste trabalho apontam no sentido de que a existência de um alelo $\epsilon 4$ não configura um risco acrescido, pelo menos de forma estatisticamente significativa, para o desenvolvimento de transformação hemorrágica ou SICH após trombólise.

A classificação do ECASS III, descrita e utilizada neste trabalho, discrimina entre hematoma que se desenvolve no local do enfarte (HI) e numa área remota (PHr). Em teoria, era de esperar que os portadores de um alelo $\epsilon 4$ apresentassem um risco acrescido de desenvolver ambos os tipos de hemorragia. Contudo, nenhum destes portadores apresentou uma hemorragia no local do enfarte e, mais surpreendentemente, nenhum apresentou hemorragias cerebrais em localização distante da área da lesão isquémica (nomeadamente lobar, como era de admitir que ocorresse).

Como explicar estes resultados? Na sequência de tudo o que já foi afirmado torna-se difícil fazê-lo não recorrendo à argumentação das eventuais limitações deste estudo.

Porém, convém enfatizar que a presença de um alelo $\epsilon 4$ se associa a níveis elevados de colesterol LDL, logo a risco acrescido de aterosclerose (Abboud, et al., 2008). O oposto acontece com o alelo $\epsilon 2$, que se associa a níveis séricos baixos de colesterol LDL. De notar que o estudo *Stroke Prevention by Aggressive Reduction of Cholesterol Levels* (SPARCL) demonstrou que os doentes submetidos a tratamento com doses elevadas de estatinas (no caso, atorvastatina 80 mg/dia) apresentam um risco acrescido de desenvolver hemorragia cerebral. Mas, mais uma vez, este argumento afigura-se-nos pouco consistente na medida em que não verificamos, neste estudo, qualquer associação entre os níveis de colesterol total ou LDL obtidos e a ocorrência de

transformação hemorrágica ou hemorragia cerebral. O mesmo aconteceu com o tratamento prévio com estatinas.

3. Transformação hemorrágica e SICH

A análise multivariada permitiu evidenciar que o parâmetro clínico NIHSS pré-trombólise é um preditor independente de transformação hemorrágica. Por seu turno, o parâmetro imagiológico ASPECTS associa-se ao risco de desenvolvimento de SICH.

A NIHSS é uma escala padrão, validada, segura e quantitativa, que traduz a severidade e magnitude do défice neurológico após o AVC. Esta escala é constituída por 11 itens que espelham, de forma rigorosa, a disfunção neurológica que o doente apresenta, no contexto do insulto vascular cerebral. A pontuação varia de 0 (sem limitações) a 42 (coma). O ASPECTS é uma escala semiquantitativa que reflecte as alterações isquémicas precoces no território da ACM usando um sistema de 10 pontos, sendo 10 o valor normal (Pexman, et al., 2001). É uma ferramenta para aplicação exclusiva na imagem da TC-CE, mais precisa, robusta e prática que a utilização da regra do 1/3 (hipodensidade inferior a 1/3 do território da artéria cerebral média) (Pexman, et al., 2001). Esta escala dá informação sobre o volume e localização do edema permitindo, deste modo, fazer uma estimativa da extensão do enfarte. Alguns autores não aconselham a administração de fibrinolítico quando a pontuação obtida naquela classificação é igual ou inferior a 7, dado o risco acrescido de hemorragia cerebral sintomática (Hirano, et al., 2011).

Os resultados apresentados não são, a este nível, surpreendentes. Na verdade, um NIHSS elevado pré-tratamento traduz uma maior extensão da área disfuncional mas não reflecte, necessariamente, a dimensão da área irreversivelmente lesada. Por seu turno, o ASPECTS detecta sinais imagiológicos precoces de edema citotóxico sugerindo, ainda que de forma indirecta, a presença de enfarte constituído. Os resultados obtidos estão,

deste modo, em total acordo com estudos prévios que evidenciam que quanto maiores os sinais precoces de lesão irreversível, maior o risco de desenvolvimento de SICH (Hirano, et al., 2011). Por seu turno, a gravidade dos défices neurológicos iniciais (dentro do limite autorizado para realização de fibrinólise, ou seja, 24 pontos) não se associam, de forma estatisticamente significativa, com um risco mais elevado de SICH, apenas de transformação hemorrágica, que não tem relevância clínica.

Neste trabalho a idade não demonstrou ser um preditor independente de transformação hemorrágica. Estudos anteriores sugeriram o contrário (NINDS 1995; Larrue, et al., 2001). Vários argumentos jogam a favor da existência de uma relação entre idade avançada e risco acrescido de sangramento cerebral após fibrinólise, entre eles a existência de angiopatia amiloide (nos quais os alelos $\epsilon 4$ e $\epsilon 2$ foram implicados). Contudo, os resultados do ensaio clínico IST-3 (*The third International Stroke Trial*) apresentado na reunião da *European Stroke Conference* em Lisboa, em Maio do ano corrente, demonstraram que a idade não é um preditor de transformação hemorrágica após terapêutica fibrinolítica, sendo segura e eficaz a sua administração a doentes com idade superior a 80 anos.

Estudos prévios sugerem que a leucoencefalopatia pode estar relacionada com a transformação hemorrágica após fibrinólise. A leucoencefalopatia arteriopática é a expressão clínica e imagiológica da hipoperfusão cerebral prolongada e caracteriza-se por múltiplas pequenas áreas de desmielinização da substância branca cerebral. A pré-existência de uma lesão crónica da microcirculação cerebral, que inclui a disfunção endotelial, parece aumentar o risco de rotura do vaso após administração de um agente trombolítico. Neste estudo, contudo, não se observou qualquer associação entre a presença de leucoencefalopatia (periventricular, na substancia branca profunda ou em ambos) e o risco de transformação hemorrágica após fibrinólise endovenosa.

Um número expressivo de estudos anteriores sugeriu que o tempo sintomas-agulha não era um factor de risco independentemente para o desenvolvimento de SICH. No mesmo sentido, a *pooled analysis* dos ensaios clínicos NINDS, ECASS II e ATLANTIS conclui pela ausência de associação. No presente estudo esta variável revelou-se significativa na análise univariada, mas a associação perdeu-se quando se procedeu à regressão logística.

A associação entre hiperdensidade da ACM detectada na TC encefálica pré-fibrinólise e transformação hemorrágica foi previamente investigada. Já foi, inclusive, descrita como seu preditor independente. A presença da hiperdensidade na TC é, frequentemente, observada na ACM e, na maioria dos casos, associa-se a um padrão específico de perfusão anormal na ressonância magnética. (Leys, et al., 1992). A sua presença e a redução severa da perfusão sugerem um limitado suporte sanguíneo colateral. Tal como aconteceu com a variável anterior, no nosso estudo observou-se uma associação significativa na análise univariada que se perdeu na multivariada.

Não se obteve, na análise de regressão logística, uma associação estatisticamente relevante entre HTA e transformação hemorrágica e SICH. Neste estudo, este parâmetro diz respeito, exclusivamente, a antecedentes pessoais de HTA. Os doentes candidatos a tratamento com rt-PA endovenoso só o iniciam após estabilização dos valores tensionais em valores inferiores a 180/95 mmHg. Durante os 60 minutos de infusão, a tensão arterial é avaliada cada cinco minutos por forma a garantir que o doente mantém este parâmetro dentro da janela recomendada. Após a sua conclusão persiste, durante 24 horas, uma vigilância apertada daquela. Salienta-se que esta variável foi classificada numa forma dicotómica. Desta forma, não inclui uma caracterização detalhada deste factor de risco, nomeadamente no que diz respeito a número de anos de doença, ao controlo deste factor de risco, sob medicação ou não, entre outros aspectos clínicos.

Estes aspectos poderão explicar a ausência de associação verificada, em oposição aos resultados obtidos em alguns estudos anteriores. Na verdade, as alterações estruturais a nível microvascular provocadas pela HTA crónica - microaneurismas, hialinização, alongamento, estreitamento e malformações vasculares que terminam com a fragilidade da parede do vaso, condicionando a sua rotura – são fundamentos fisiopatogénicos passíveis de explicar uma eventual associação. Existe também a possibilidade de a HTA levar à disfunção da BHE originando as alterações da permeabilidade vascular que por sua vez activam a MMP-9, promotora de edema e transformação hemorrágica (Ariesen, et al., 2003; Derex, et al., 2008).

A microangiopatia cerebral é uma das complicações descritas da DM. Além do risco trombótico, pode contribuir para alterações da BHE favorecendo a transformação hemorrágica. Alterações que incluem a necrose das células endoteliais cerebrais e espessamento da membrana basal dos capilares. A hiperglicemia pode originar acidose celular profunda, levando a disfunção enzimática que aumenta a produção de radicais livres responsáveis por uma maior fragilização da BHE. Na análise univariada foi encontrada uma associação entre a DM e SICH, a qual, no entanto, deixou de ter significância na análise multivariada. Os níveis da glicemia sérica pré-tratamento foram superiores no grupo com SICH mas não se observou uma relação estatisticamente significativa. À semelhança do que foi reportado em relação à HTA, também os níveis de glicemia são monitorizados durante o tratamento com fibrinolítico e no período subsequente.

A FA e a ICC são causas frequentes, em particular a primeira, de AVCi de origem cardioembólica. Habitualmente, este tipo de AVCi resulta da oclusão embólica de artérias de médio calibre, condicionando uma lesão isquémica potencialmente extensa (Hart, et al., 2001). A transformação hemorrágica espontânea é uma complicação

conhecida deste tipo de AVC. Na análise multivariada encontrou-se uma relação estatisticamente significativa entre a FA e a transformação hemorrágica e SICH. No entanto, na regressão logística tal não aconteceu, perdendo-se a associação.

4. Limitações

Este estudo pode ser considerado exploratório ou preliminar, e por isso tem várias limitações. Em primeiro lugar, a dimensão da amostra foi relativamente reduzida. O número de doentes submetidos a fibrinólise nesta Unidade de AVC é de cerca de 100/ano o que, tendo em conta que o risco de transformação hemorrágica é relativamente baixo (29.4%) e de SICH ainda mais reduzido (8.3%), torna difícil a obtenção de uma amostra com a dimensão desejada. O mesmo se aplica ao alelo $\epsilon 4$, dada a sua reduzida prevalência.

Outra limitação do estudo é a técnica de imagem utilizada. Os nossos resultados referem-se exclusivamente às imagens de TC-CE, que é um exame de fácil utilização e está disponível na maioria dos hospitais no âmbito de cuidados urgentes. A utilização da RMN-CE na abordagem do AVC na fase aguda, se bem que desejável, está actualmente restrita a alguns centros de excelência. Por outro lado o protocolo rigoroso de leitura da TC proposto, é, na nossa opinião, uma das mais-valias deste trabalho. Na verdade, as imagens de TC-CE foram invariavelmente efectuadas pelo mesmo observador (neutralizando o efeito da variabilidade inter-observador) e o neurorradiologista não teve acesso aos restantes parâmetros clínicos em análise (obviando-se eventuais enviesamentos).

Conclusão

Os mecanismos que concorrem para o desenvolvimento de transformação hemorrágica e SICH após realização de fibrinólise nos doentes com AVCi agudo são ainda controversos. Embora teoricamente atractiva, a hipótese de uma associação entre a presença de pelo menos um alelo $\epsilon 4$ e o risco de hemorragia após administração de rt-PA, não foi possível confirmá-la neste estudo.

Agradecimentos

À Prof. Dr^a. Maria Isabel Jacinto Santana por ter aceite ser minha orientadora.

Ao Dr. Gustavo Cordeiro por toda a disponibilidade e empenho neste projecto.

Ao Dr. João Freitas pelo apoio e participação.

Ao neurorradiologista Dr. Ricardo Morais pela sua colaboração.

A Dr^a Inês Baldeiras pela sua disponibilidade.

A todos os médicos e enfermeiros da Unidade de AVC/Serviço de Neurologia, em especial à enfermeira Graça.

Aos colegas que participaram na organização da base de dados comum.

Aos meus pais por todo carinho e dedicação que me proporcionaram em todo o meu percurso académico.

Ao Luís pelo apoio incondicional.

Referências

Abboud S., Viiri L., Lutjohann D., Goebeler S., Luoto T., Friedrichs S., et al. (2008). Associations of apolipoprotein E gene with ischemic stroke and intracranial atherosclerosis. *European Journal of Human Genetics* 16: 955-960

Amarenco P., Goldstein L., Szarek M., Silesen H., Rudolph A., Callahan A., et al. (2007). Effects of Intense Low-Density Lipoprotein Cholesterol Reduction in Patients With Stroke or Transient Ischemic Attack: The Stroke Prevention by Aggressive Reduction in Cholesterol Levels (SPARCL) Trial. *Stroke* 38:3198-3204

Arboix A., Alió J., Schroth G., (2010). Cardioembolic Stroke: Clinical Features, Specific Cardiac Disorders and Prognosis. *Current Cardiology Reviews*, 6: 150-161

Ariesen M., Claus S., Rinkel G. and Algra A., (2003). Risk factors for Intracerebral Hemorrhage in the General Population: A systematic review. *Stroke* 34: 2060-2065

Asahi M., Wang X., Mori T., et al. (2001). Effects of matrix metalloproteinase-9 gene knock-out on the proteolysis of blood-brain barrier and white matter components after cerebral ischemia. *Journal of Neuroscience* 21: 7724-77321)

Derex L. and Nighoghossian N. (2008). Intracerebral Haemorrhage after Thrombolysis for Acute Ischaemic Stroke: an update. *Journal Neurology Neurosurgery Psychiatry* 79: 1093-1099

Fagan A., Holtzman D. (2000). Astrocyte lipoproteins, effects of ApoE on neuronal function, and role of ApoE in amyloid-beta deposition in vivo. *Microscopic Research* 50: 297-304

Fazekas, F., Chawluk, J. B., Alavi, A., Hurtig, H. I., Zimmerman, R. A. (1987). MR signal abnormalities at 1.5 T in Alzheimer's dementia and normal aging. *AJR Am J Roentgenol*, 149:351-356

Hacke W., Kaste M., Bluhmki E., Brozman M., Dávalos A., Guidetti D. (2008).
Thrombolysis with Alteplase 3 to 4.5 hours after Acute Ischemic Stroke 359: 1317-1329

Hart R. and Halperin J. (2001). Atrial Fibrillation and stroke: concepts and
controversies. Stroke 32: 803-808

Hirano T., Sasaki M., Tomura N., Ito Y. and Kobayashi S. (2011).Low Alberta
Stroke Program Computed Tomography Score within 3 hours of onset predicts
subsequent symptomatic intracranial hemorrhage in patients treated with 0.6 mg/Kg
alteplase. Journal of Stroke and Cerebrovascular Disease 6: 1-5

Horsburgh K., McCulloch J., Nilsen M., et al.(2000). Increased neuronal damage
and ApoE immunoreactivity in human apolipoprotein E, E4 isoform-specific, transgenic
mice after global cerebral ischemia. European Journal of Neuroscience 12:4309-4317

Lanterna L., Biroli F. (2009). Significance of Apolipoprotein E in Subarachnoid
Hemorrhage. Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases 18:116-123

Larrue V., Von Kummer R., Muller A., Bluhmki E. (2001).Risk Factors for
Severe Hemorrhagic Transformation in Ischemic Stroke Patients Treated With
Recombinant Tissue Plasminogen Activator: A Secondary Analysis of the European-
Australasian Acute Stroke Study (ECASS II). Stroke 32: 438-441

Lees K., Bluhmki E., Kummer R., Brott T., Toni D., Grotta J., et al. (2010). Time
to treatment with intravenous alteplase and outcome in stroke: an updated pooled
analysis of ECASS, ATLANTIS,NINDS, and EPITHET trials. The Lancet 375:1695-
1703

Leys D., Cordonnier C. (2012).rt-PA for ischaemic stroke: what will the next
question be?. The Lancet 379: 2320-2321

Martinez-González N., Sudlow C. (2006). Effects of apolipoprotein E genotype on outcome after ischaemic stroke, intracerebral haemorrhage and subarachnoid haemorrhage. *Journal Neurology Neurosurgery Psychiatry* 77: 1329-1335

McCarron M., Nicoll J. (2004). Cerebral amyloid angiopathy and thrombolysis-related intracerebral haemorrhage. *The Lancet* 3: 484-492

Misra U., Kalita J., Somarajan B. (2012). Recurrent Intracerebral Hemorrhage in Patients with Hypertension is associated with APOE Gene Polymorphism: a Preliminary Study. *Journal of stroke and Cerebrovascular diseases* 5:4-5

Mokin M., Kan P., Kass-Hout T., Abla A., Dumont T., Snyder K. (2012). Intracerebral hemorrhage secondary to intravenous and endovascular intraarterial revascularization therapies in acute ischemic stroke: an update on risk factors, predictors and management. *Neurosurgery Focus* 32:1-10

Montaner J (2011). Genetics of intracerebral haemorrhage: a tsunami effect of APOE ϵ 2 genotype on brain bleeding size?. *The Lancet* 10: 673-675

Pexman J., Barber P., Hill M., Sevick R., Demchuk A., Hudon M. (2001). Use of the Alberta Stroke Program Early CT Score (ASPECTS) for Assessing CT Scans in Patients with Acute Stroke. *Journal Neuroradiology* 22: 1534-1542

Saidi S., Slamia L., Ammou S., Mahjoub T., Almawi Y. (2007). Association of Apolipoprotein E gene polymorphism with ischaemic stroke involving large-vessel disease and its relation to serum lipid vessel. *Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases* 16: 160-166

Schiele F., Bacquer D., Vincet-Viry M., Beisiegel U., Ehnholm C., Evans A., et al. (2000). Apolipoprotein E serum concentration and polymorphism in six European countries: the ApoEurope Project. *Atherosclerosis* 152:475-488

Soler E., Ruiz V. (2010). Epidemiology and Risk Factors of Cerebral Ischemia and Ischemic Heart Diseases: Similarities and Differences. *Current Cardiology Reviews*,6, 138-149

Sudlow C., Martinez-Gonzalez N., Kim J., Clark C. (2006). Does Apolipoprotein E Genotype Influence the Risk of Ischemic Stroke, Intracerebral Hemorrhage, or Subarachnoid Hemorrhage?. *Stroke*. 37(2): 364–370

Thanvi B., Robinson T. (2006). Sporadic cerebral amyloid angiopathy—an important cause of cerebral haemorrhage in older people. *Age and Ageing* 35: 565-571

The benefits and harms of intravenous thrombolysis with recombinant tissue plasminogen activator within 6h of acute ischaemic stroke (the third international stroke trial – IST 3): a randomised controlled trial (2012). *Lancet* 379: 2352-2363

The National Institute of Neurological Disorders and Stroke rt-PA Stroke Study Group (1997). Intracerebral hemorrhage after intravenous t-PA therapy for ischemic stroke. *Stroke* 36: 2109-2118

Wahlgren N., Ahmed N., Dávalos A., Grond M., Hacke W., Hennerici M., et al. (2007). Thrombolysis with alteplase for acute ischaemic stroke in the Safe Implementation of Thrombolysis in Stroke-Monitoring Study (SITS-MOST): an observational Study. *The Lancet* 369: 275-282

Zoppo G., Von Kummer R., Hamann G. (1998). Ischaemic damage of brain microvessels: inherent risks for thrombolytic treatment in stroke. *Journal of Neurology Neurosurgery and Psychiatry* 65: 1-9

Anexos

Anexo A: Folha de entrada



Nota de Entrada

Nome: _____

PU: _____

AP / Factores de Risco

HTA Dislipidemia ICC AIT/AVC Prévio _____

Pré-DM DM Tipo 1 DM Tipo 2 Alcoolismo _____

Tabagismo Activo/Prévio(UMA: _____) Enxaqueca C/ S/ Aura

FA Persistente FA Paroxística Espec.Méd.Assist. _____

Dç coronária _____ Dç Art. Periférica _____ IMC: _____

Outros/AP: _____

Condição prévia

Medicação habitual

mRS: _____

Social: _____

HFam (Incluindo AVC/EAM)

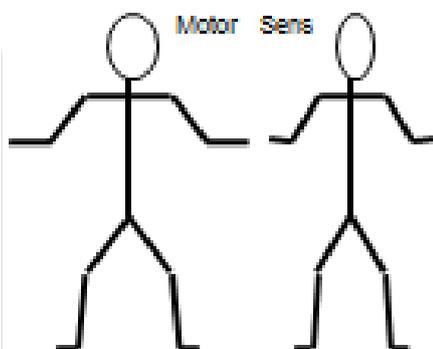
Instalação: ____/____/____; ____: ____ Proveniência/ativação: _____

HDA

Ensaio:

Classific. Oxford/TOAST/Sind. Vascular:

EO



Glasgow Inicial: E _ M _ V _ NIHSS Inicial: ____

ECD

ECD Pedidos

TC-CE:

ASPECTS: ____

Análises:

ECG:

Anexo B: Criterios etiológicos de TOAST modificados para a classificação de AVCi

AVCi Aterotrombótico

AVCi Aterotrombótico-*like*

AVCi Cardioembólico

AVCi Lacunar

AVCi por causas raras

AVCi por causas coexistentes

AVCi por causa desconhecida

- a) Estudo Completo
- b) Estudo Incompleto

Anexo C: modified Rankin scale

Grau	Descrição
0	Assintomático
1	Sem incapacidade significativa apesar de sintomatologia presente
2	Incapacidade ligeira
3	Incapacidade moderada
4	Incapacidade moderada grave
5	Incapacidade grave
6	Óbito

Anexo D: National Institute of Health stroke scale

1a Nível de consciência	0	Alerta
	1	Sonolento, mas despertável com mínima estimulação
	2	Sonolento, requer estimulação repetida para responder
	3	Coma
1b. Pergunte ao doente o mês e a idade	0	Responde a ambas as questões correctamente
	1	Responde a uma questão correctamente
	2	Ambas as respostas são incorrectas
1c. Peça ao doente para abrir /fechar os olhos e abrir/fechar a mão	0	Obedece a ambas as ordens
	1	Obedece a uma ordem correctamente
	2	Ambas incorrectas
2. Melhor movimento ocular (apenas no plano horizontal)	0	Normal
	1	Limitação parcial dos movimentos oculares
	2	Desvio forçado dos olhos
3. Campos visuais	0	Sem deficits campimétricos
	1	Hemianópsia parcial
	2	Hemianópsia completa
	3	Hemianópsia bilateral (amaurótico, cegueira cortical)
4. Parésia facial (pedir ao doente para cerrar os dentes e fechar os olhos com vigor)	0	Movimentos simétricos e normais
	1	Parésiaminor (assimetria a sorrir ou dos sulcos nasogenianos)
	2	Parésia parcial (parilisia total da face inferior)
	3	Parésia total de um ou ambos os lados (face inf e sup)
5a Força muscular – Membro superior esquerdo	0	Normal (estende o braço 90° ou 45° por 10 sec sem cair)
	1	Membro começa a cair antes dos 10 sec
	2	Alguma força contra a gravidade
	3	Sem força para vencer a gravidade
	4	Sem movimento
	9	Não testável (fusão da articulação ou membro amputado)
5b Força muscular – Membro superior direito	0	Normal (estende o braço 90° ou 45° por 10 sec sem cair)
	1	Membro começa a cair antes dos 10 sec
	2	Alguma força contra a gravidade
	3	Sem força para vencer a gravidade
	4	Sem movimento
	9	Não testável (fusão articular ou membro amputado)
6a Força muscular – Membro inferior esquerdo	0	Normal (MI mantém-se a 30° por 5 sec sem cair)
	1	Membro começa a cair antes dos 5 sec
	2	Alguma força contra a gravidade
	3	Sem força para vencer a gravidade
	4	Sem movimento
	9	Não testável (fusão articular ou membro amputado)
6b Força muscular – Membro inferior direito	0	Normal (MI mantém-se a 30° por 5 sec sem cair)
	1	Membro começa a cair antes dos 5 sec
	2	Alguma força contra a gravidade
	3	Sem força para vencer a gravidade
	4	Sem movimento
	9	Não testável (fusão articular ou membro amputado)
7. Ataxia dos membros	0	Sem ataxia
	1	Presente em um membro
	2	Presente em dois membros
8. Sensibilidade (use alfinete para testar na face, tronco e membros, ver assimetria)	0	Normal
	1	Diminuição de sensibilidade ligeira a moderada
	2	Perda de sensibilidade severa ou total
9. Linguagem (descrever figuras, nomear objectos)	0	Sem afasia
	1	Afasia ligeira a moderada
	2	Afasia severa
	3	Mutismo, afasia global
10. Disartria (lendo palavras)	0	Articulação normal
	1	Disartria ligeira a moderada
	2	Palavras quase ininteligíveis ou incapaz de falar
	9	Não testável (Intubado ou outro obstáculo físico)
11. Inatenção (use estímulo visual ou sensorial duplo)	0	Normal
	1	Inatenção para estímulo simultâneo bilateral em uma das modalidades sensoriais
	2	Hemi-inatenção severa ou em mais do que uma modalidade sensorial

Anexo E: Classificação ECASS da hemorragia intracerebral

HI 1	Enfarte hemorrágico (<i>Haemorrhagic infarcts</i>)	Pequenas petéquias localizadas nas margens do enfarte
HI 2	Enfarte hemorrágico (<i>Haemorrhagic infarcts</i>)	Petéquias de maiores dimensões confluentes na área de enfarte
PH 1	Hematoma parenquimatoso (<i>Parenchymal hematoma</i>)	Hemorragia \leq 30% da área de enfarte com ligeiro efeito de massa
PH 2	Hematoma parenquimatoso (<i>Parenchymal hematoma</i>)	Hemorragia $>$ 30% da área de enfarte com efeito de massa
PHr 1	Hematoma parenquimatoso remoto (<i>remote parenchymal hematoma</i>)	Hematoma pequeno ou médio de localização remota da área de enfarte com ligeiro efeito de massa.
PHr2	Hematoma parenquimatoso remoto (<i>remote parenchymal hematoma</i>)	Hematoma grande de localização remota da área de enfarte que pode ter associado importante efeito de massa

Anexo F: Classificação de edema cerebral

COED 1	Edema cerebral focal inferior a 1/3 do hemisfério afectado
COED2	Edema cerebral focal superior a 1/3 do hemisfério afectado
COED3	Edema cerebral com desvio da linha média.

Anexo G: Critérios de Fazekas de Leucoencefalopatia

Grau	Substância Branca Profunda	Periventricular
0	Lesões ausentes	Lesões ausentes
1	Lesões focais	Lesões em “caps”
2	Lesões parcialmente confluentes	Lesões em halo
3	Lesões difusas	Lesões irregulares estendendo-se à substância branca profunda