

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NEUROCIÊNCIAS**

**POTENCIAIS BIOMARCADORES SÉRICOS DE DEPRESSÃO E ANSIEDADE NO  
TRAUMATISMO CRANIOENCEFÁLICO LEVE**

Carlisa Silver e Silva

BELO HORIZONTE  
2022

Carlisa Silver e Silva

**POTENCIAIS BIOMARCADORES SÉRICOS DE DEPRESSÃO E ANSIEDADE NO  
TRAUMATISMO CRANIOENCEFÁLICO LEVE**

Dissertação apresentada ao Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais – Programa de pós-graduação em Neurociências como parte dos requisitos para obtenção do Título de Mestre em Neurociências.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dra. Aline Silva de Miranda

Coorientador: Prof. Dr. Vinicius Sousa Pietra Pedroso

BELO HORIZONTE  
2022

043 Silva, Carlisa Silver e.  
Potenciais biomarcadores séricos de depressão e ansiedade no traumatismo cranioencefálico leve [manuscrito] / Carlisa Silver e Silva. – 2022.  
58 f.: il. ; 29,5 cm.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dra. Aline Silva de Miranda. Coorientador: Prof. Dr. Vinicius Sousa Pietra Pedroso.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas. Programa de Pós-graduação em Neurociências.

1. Neurociências. 2. Traumatismos Craniocerebrais. 3. Neuropsiquiatria. 4. Ansiedade. 5. Depressão. 6. Biomarcadores. I. Miranda, Aline Silva de. II. Pedroso, Vinicius Sousa Pietra. III. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Biológicas. IV. Título.

CDU: 612.8



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NEUROCIÊNCIAS

### ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO DA ALUNA

#### CARLISA SÍLVER E SILVA

Realizou-se, no dia 08 de julho de 2022, às 14:00 horas, online, da Universidade Federal de Minas Gerais, a 240ª defesa de dissertação, intitulada *POTENCIAIS BIOMARCADORES SÉRICOS DE DEPRESSÃO E ANSIEDADE NO TRAUMATISMO CRANIOENCEFÁLICO LEVE*, apresentada por CARLISA SÍLVER E SILVA, número de registro 2020675042, graduada no curso de MEDICINA, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em NEUROCIÊNCIAS, à seguinte Comissão Examinadora: Profa. Aline Silva de Miranda - Orientadora (UFMG), Prof. Gabriel da Rocha Fernandes (FIOCRUZ Instituto René Rachou), Prof. João Vinicius Salgado (UFMG).

A Comissão considerou a dissertação: Aprovada

Finalizados os trabalhos, lavrei a presente ata que, lida e aprovada, vai assinada por mim e pelos membros da Comissão.

Belo Horizonte, 08 de julho de 2022.

Carlos Magno Machado Dias - Secretário(a)

Assinatura dos membros da banca examinadora:

Profa. Aline Silva de Miranda ( Doutora )

Prof. Gabriel da Rocha Fernandes ( Doutor )

Prof. João Vinicius Salgado ( Doutor )



Documento assinado eletronicamente por **Gabriel da Rocha Fernandes, Usuário Externo**, em 08/07/2022, às 16:25, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Aline Silva de Miranda, Servidor(a)**, em 11/07/2022, às 12:48, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **João Vinicius Salgado, Membro de comissão**, em 12/07/2022, às 11:50, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).

## **AGRADECIMENTOS**

Meu primeiro agradecimento vai para minha amiga querida, colega e fonte de inspiração Máira Glória, que me acompanhou desde os primeiros passos, me amparando quando eu caí e me dando suporte para que concluísse este projeto.

Agradeço também, imensamente, à minha orientadora Prof<sup>a</sup>. Aline Miranda por não só me acolher como aluna, como também por ser o exemplo de profissional e de mulher cientista que levarei por toda minha carreira.

Ao Prof. Leonardo Cruz de Souza agradeço por me acolher na minha entrada na instituição e se colocar sempre disponível.

Ao Prof. Vinicius Sousa Pietra Pedroso agradeço por me acompanhar durante todo o processo, me orientando, auxiliando e ensinando sempre que foi necessário.

Ao Prof. Rafael Alves Bonfim de Queiroz agradeço a imensa doação voluntária de seu tempo, contribuindo imensamente para nosso estudo.

Enfim, agradeço a todos vocês que além de profissionais competentes e dedicados são pessoas humanas e que veem na profissão um propósito de vida que vai além de vocês mesmos.

Agradeço ao meu marido, que sempre me apoiou em todas as minhas escolhas profissionais, mesmo quando isso significava menos dedicação a ele e à nossa família.

Agradeço a toda a minha família: minhas irmãs Carla e Camila, parceiras de sangue e de profissão que em todo o momento me deram suporte, meus pais Carlos Antônio da Silva Rezende e Marisa Cândida dos Reis Silva, que além de amor e carinho me ensinaram a ter dedicação e comprometimento.

Agradeço a minha grande amiga Caíssa Andrade por manter-se de mãos dadas comigo durante todo este caminho do Mestrado.

E por último agradeço à minha filha amada Leona que com seus olhinhos amendoados fazia nascer uma grande força e um desejo em mim de me aprimorar sempre e trabalhar para que nossa comunidade fosse melhor. Essa força foi a principal responsável pela conclusão deste projeto.

Muito Obrigada a todos vocês.

## RESUMO

O traumatismo cranioencefálico (TCE) leve é um evento adverso à saúde extremamente comum. Apesar de muito prevalente, este tipo de trauma é negligenciado, não havendo um acompanhamento longitudinal dos pacientes após o atendimento de urgência. Cada vez mais surgem evidências de que pacientes com TCE leve podem desenvolver alterações cognitivas e comportamentais, incluindo sintomas neuropsiquiátricos. Dentre os sintomas psiquiátricos, a ansiedade e a depressão têm sido os mais estudados nesta população. O objetivo deste trabalho foi investigar potenciais biomarcadores séricos associados ao desenvolvimento de alterações da saúde mental, principalmente a incidência de quadros de ansiedade e depressão, em pacientes com TCE leve até um mês após o trauma. No presente estudo, pacientes com TCE leve foram recrutados no pronto atendimento da neurologia do Hospital João XXIII em até 24 horas após o trauma. Estes pacientes foram avaliados em até 30 dias após o TCE leve por meio de testes cognitivos e de escalas de autorrelato, além de coleta de sangue para análise de biomarcadores. Foram dosados 67 marcadores inflamatórios, de dano neuronal e vascular no soro de pacientes e controles. O estudo foi realizado com 21 pacientes com TCE leve (n=21) e 13 controles saudáveis (n=13). Os pacientes que sofreram TCE leve (n=21) apresentaram maior incidência de ansiedade e depressão quando comparado aos controles (n=13). Também houve diferença nos biomarcadores (IL-4 e Lipocalina-2 para quadros de ansiedade e MCP-1 para quadro de depressão) no soro dos pacientes com TCE leve e participantes do grupo controle, o que pode sugerir uma associação do TCE com alguns biomarcadores e a associação destes com quadros de ansiedade e depressão. A identificação de alterações cognitivo-comportamentais e neuropsiquiátricas e a compreensão de fatores fisiopatológicos associados a essas alterações podem contribuir para o desenvolvimento de melhor assistência e acompanhamento do paciente vítima de TCE leve, além de elucidar aspectos relacionados à fisiopatologia do TCE leve e suas alterações neuropsiquiátricas, indicando futuros caminhos para o desenvolvimento de intervenções clínicas.

**Palavras-chave:** Traumatismo Cranioencefálico Leve. Avaliação Neuropsiquiátrica. Ansiedade. Depressão. Biomarcadores Associados ao TCE Leve. Biomarcadores Associados à Depressão.

## ABSTRACT

Cognitive, behavioral, and neuropsychiatric changes are commonly observed in patients with mild traumatic brain injury (TBI). Among psychiatric symptoms, anxiety and depression have been the most studied in this population. The purpose of this study was to investigate potential serum biomarkers associated with the development of mental health disorders, especially the occurrence of anxiety and depression, in patients with mild TBI up to one month after the trauma. In this study, patients with mild TBI were recruited from the neurology emergency department of Hospital João XXIII within 24 hours after the trauma. These patients were evaluated no later than 30 days after mild TBI through cognitive tests and self-report scales. Blood samples were also collected for biomarker analysis. Sixty-seven inflammatory, neuronal and vascular damage markers were measured in the serum of patients and controls. The study was performed with 21 patients with mild TBI (n=21) and 13 healthy controls (n=13). Patients who suffered mild TBI (n=21) had a higher incidence of anxiety and depression compared to healthy controls (n=13). There was also a difference in serum biomarkers of patients with mild TBI and participants of group control, which may suggest an association between TBI and some biomarkers as well as a connection with anxiety and depression. The identification of cognitive-behavioral and neuropsychiatric alterations and the understanding of pathophysiological factors can contribute to the development of better care and follow-up of patients with mild TBI. These findings may contribute to the development of clinical interventions.

**Keywords:** Mild Traumatic Brain Injury. Neuropsychiatric assessment. Anxiety Depression. Biomarkers associated with Mild TBI. Biomarkers associated with Depression.

## LISTA DE SIGLAS

TCE	Traumatismo Cranioencefálico
ECG	Escala de coma de Glasgow
HADS	Hospital Anxiety and Depression Scale (Escala Hospitalar de Ansiedade e Depressão)
IL	Interleucina
MCP	Monocyte chemotactic protein (Proteína Quimiotática de Monócitos)
NT	Não testável
DNA	Deoxyribonucleic Acid (ácido desoxirribonucleico)
DATASUS	Departamento de Informática do Sistema Único de Saúde
NA <sup>+</sup>	Sódio
Ca <sup>++</sup>	Cálcio
MMP9	Metaloproteinase 9
HPA	Eixo Hipotálamo-Hipófise- Adrenal
TNF- $\alpha$	Fator de Necrose Tumoral
TEPT	Transtorno do Estresse pós Traumático
TDM	Transtorno Depressivo Maior
TRACK-TBI	Transforming Research and Clinical Knowledge in Traumatic Brain Injury (Transformando a Pesquisa e o Conhecimento Clínico em Traumatismo craniano)
PTSD checklist	Post-traumatic stress disorder checklist (Transtorno do Estresse pós traumático checklist)
DSM-5	Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders 5 (Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos 5)
PHQ-9	Patient Health Questionnaire (Questionário de Saúde do Paciente)
OR	Odds ratio
SNC	Sistema Nervoso Central
ACTH	Hormônio adrenocorticotrófico
Eixo HPA	Eixo hipotálamo-pituitária-adrenal
ISRS	Inibidor seletivo da recaptção de Serotonina
GABA	Ácido gama-aminobutírico
BDNF	Fator de crescimento neurotrófico cerebral

TC	Tomografia computadorizada
TNF	Fator de Necrose Tumoral
AUC	Área sob a curva
MMP-9	metaloproteinase de matriz-9
UCH	Ubiquitina C-terminal Hidrolase-L1
GFAP	Proteína Ácida Fibrilar Glial
CKBB	Creatina quinase tipo B
MMP-2	Metaloproteinase de matriz-2
CRP	Proteína C reativa
GFAP-BDP	Glial Fibrillary Acidic Protein and its breakdown products
NFL	Neurofilamento de cadeia leve
SNTF	Calpain-derived $\alpha$ II-spectrin N-terminal fragmente (Fragmento N-terminal de espectrina $\alpha$ II derivada de calpaína)
MCP- 1	Proteína 1 Químioatraente de Monócito
FGF	Fator de Crescimento de Fibroblasto
IFN	Interferon
MPI	Proteína Beta Inflamatória de Macrófago
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
COEP	Comitê de ética em pesquisa
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
FHEMIG	Fundação Hospitalar do Estado de Minas Gerais
CAAE	Certificado de Apresentação para Apreciação Ética.
UNESCO	Organização das Nações Unidas para a Educação, a Ciência e a Cultura
FAPEMIG	Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais
HJ XXIII	Hospital João XXIII
LIIM	Laboratório Interdisciplinar de Investigações Médicas
EGF	Epidermal Growth Factor (Fator de Crescimento Epidermal)
FGF-2	Fibroblast Growth Factors (Fator de Crescimento do Fibroblasto)
TGF- alpha	Transforming Growth Factor Alpha (Fator de Crescimento Transformante alfa)
GCfs	Granulocyte Colony-stimulating Factor (Fator Estimulador de Colônias Granulocitárias)
GMCSF	Granulocyte-macrophage Colony Stimulating Factor (fator Estimulador de Colônias de Granulócitos e Macrófagos)

GRO	Growth Related Oncogene (Oncogene Relacionado ao Crescimento)
MCP 3	Monocyte Chemotactic Protein-3 (Proteína Quimiotática de Monócitos-3)
MDC	Macrophage-derived Chemokine (Quimiocina Derivada de Macrófagos)
sCD40L	Soluble CD40-ligand (ligante solúvel CD40L)
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor (Fator de Crescimento Endotelial Vascular)
BDNF	Brain-derived Neurotrophic Factor (Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro)
sICAM-1	Soluble Intercellular Adhesion Molecule-1 (Molécula de adesão intercelular solúvel-1)
MPO	Myeloperoxidase (mieloperoxidase)
PDGF-AA	Fator de Crescimento Derivado de Plaquetas-AA
NCAM	Neural Cell Adhesion Molecule (Molécula de Adesão de Células Neurais)
PDGF-AB/BB -	Platelet derived growth factor-AB (Fator de Crescimento Derivado de Plaquetas-AB)
sVCAM-1	Soluble Vascular Cell Adhesion Molecule-1 (Molécula de Adesão Celular-Vascular 1 solúvel)
PAI-1	Plasminogen Activator Inhibitor-1 (Inibidor do Ativador do Plasminogênio)
NGAL	Neutrophil Gelatinase (Lipocalina Associada à gelatinase neutrofilica)
VEGF- R2/KDR	Vascular Endothelial Growth Factor Receptor (Receptor do Fator de Crescimento Endotelial Vascular)
MMP-1	Matrix Metalloproteinase-1 (Metaloproteinase-1 Matriz)
MIF	Macrophage Migration Inhibitory Factor (Fator Inibidor de Migração de Macrófagos)
S100B	S100 Calcium Binding Protein B (S100 proteína B de ligação ao cálcio)
TNFSF14	Tumor Necrosis Factor Superfamily Member 14 (Membro da Superfamília do Fator de Necrose Tumoral 14)
APP	Myloid precursor protein (Proteína Precursora Mieloide)
RAGE	Receptor for Advanced Glycation Endproducts (Receptor para Produtos Finais de Glicação Avançada)

NSE	Neuron Specific Enolase (Enolase Específica do Neurônio)
NRG	Neuregulina
IQR	Intervalo Interquartil
OLS	Ordinary Least Squares
BAF	Bateria de Avaliação Frontal

## SUMÁRIO

APRESENTAÇÃO.....	10
1 - INTRODUÇÃO.....	11
2 - REVISÃO DE LITERATURA.....	13
2.1 - Trauma Crânio Encefálico - Definição e Classificação.....	13
2.2 - Epidemiologia .....	14
2.3 - Critérios Classificação de Gravidade.....	14
2.4 - Fisiopatologia do Traumatismo Cranioencefálico.....	16
2.5 - Ansiedade e Depressão no Traumatismo Cranioencefálico leve.....	18
2.6 - Neurobiologia da Ansiedade.....	20
2.7- Neurobiologia da Depressão.....	21
2.8 - Biomarcadores no Traumatismo Cranioencefálico Leve.....	22
4 - JUSTIFICATIVA.....	26
5 - HIPÓTESE.....	28
6 - OBJETIVO GERAL .....	29
6.1 – Objetivos Específicos .....	29
7 - MÉTODOS.....	30
7.1 Participantes e critérios.....	30
7.1.1 - Participantes e critérios de inclusão e exclusão do estudo.....	30
7.2 - Aspectos éticos .....	30
7.3 - Financiamento .....	31
7.4 - Desenho do estudo.....	31
7.5 - Instrumentos.....	32
7.5.1 - Avaliação em até 24 horas.....	32
7.5.2 - Avaliação em até até 30 dias.....	32
7.6 - Coleta e análise dos marcadores no sangue.....	32
7.7 - Análise estatística.....	34
8 - RESULTADOS.....	36
9 - DISCUSSÃO.....	41
10 - CONCLUSÕES.....	46
11 - LIMITAÇÕES E PERSPECTIVAS.....	47
REFERÊNCIAS.....	48

## **APRESENTAÇÃO**

O presente trabalho apresenta desenho transversal e faz parte de um estudo longitudinal, realizado com pacientes com Traumatismo Cranioencefálico (TCE) leve no hospital João XXIII situado na cidade de Belo Horizonte, que tem como objetivo avaliar biomarcadores no sangue, alterações cognitivas, neuropsiquiátricas e de neuroimagem de 24 horas a até um ano pós-trauma.

Este trabalho encontra-se organizado da seguinte forma: 1) Apresentação; 2) Introdução 3) Revisão da literatura; 4) Justificativa; 5) Hipóteses; 6) Objetivos; 7) Métodos; 8) Resultados; 9) Discussão; 10) Conclusão; 11) Limitações e Perspectivas; 12) Referências.

O estudo teve como objetivo investigar, de forma transversal, alterações psiquiátricas com sintomas de ansiedade e depressão em pacientes com TCE leve em até 30 dias após o trauma, além de identificar biomarcadores associados a estes sintomas no pós-trauma.

## 1 - INTRODUÇÃO

O Traumatismo Cranioencefálico (TCE) é definido como uma lesão encefálica aguda, decorrente de ação de energia mecânica no crânio, derivada de forças físicas externas [1]. É a maior causa de morte e incapacidade por lesão mundialmente, com prejuízos físicos, emocionais e cognitivos que representam impacto negativo para os pacientes e para suas famílias [1].

A grande maioria dos quadros de TCE são leves e representam cerca de 80%-95% dos casos de TCE [2]. Mesmo um quadro de TCE leve tem impacto na saúde global do paciente podendo evoluir com sintomas neuropsiquiátricos após o trauma[2].

Para se classificar a gravidade de um caso de TCE, o parâmetro mais utilizado é a Escala de Coma de Glasgow – ECG [3]. Essa escala avalia parâmetros de abertura ocular, resposta verbal e melhor resposta motora. Na escala de coma de Glasgow é atribuída uma pontuação de 3 a 15 ao paciente. O paciente que apresenta pontuação de 13 a 15 nesta escala é considerado portador de um quadro de TCE leve [3].

Em qualquer caso de TCE, seja ele grave, moderado ou leve, ocorrem lesões encefálicas que são resultado de mecanismos fisiopatológicos que se iniciam com o acidente e se estendem por dias, semanas ou até anos [4].

O objeto deste estudo é a investigação, de forma transversal, de alterações psiquiátricas com sintomas de ansiedade e depressão em pacientes com TCE leve em até 30 dias após o trauma e a identificação de biomarcadores associados aos sintomas depressivos e ansiosos nestes pacientes.

O estudo consistiu em investigação transversal, no período de um mês pós-trauma, dos parâmetros clínicos, neuropsicológicos e de marcadores séricos dos grupos clínicos e controles saudáveis.

Assim, foram avaliados 21 pacientes com TCE leve (n=21), atendidos no pronto atendimento da neurologia do Hospital João XXIII. As coletas foram realizadas durante trinta dias consecutivos. Os participantes do grupo clínico eram em sua maioria homens (52,38%), com uma média de idade de 35,66 anos, variando de 24 a 52 anos. Com relação à escolaridade, a média foi de 9,9 anos de escolaridade, com desvio padrão de 0,42 (mediana de 10 anos de escolaridade), sendo o mínimo de 5 e o máximo de 15 anos de escolaridade (tabela 1).

O grupo controle saudável foi composto por 13 participantes com idade entre 20 e 55 anos, com idade média de 38,61 anos, em sua maioria do sexo masculino (53,8%). Em

relação à escolaridade, a média foi de 10,38 anos de escolaridade, com desvio padrão de 1,04 (mediana de 11 anos de escolaridade), sendo o mínimo de 4 e o máximo de 15 anos de escolaridade. Não houve diferença de sexo, idade e anos de escolaridade entre pacientes e controles ( $p>0,05$ ), conforme pode ser observado na tabela 4.

Os dados obtidos foram submetidos à análise estatística com metodologia de aprendizagem de máquina. Tal abordagem foi desenvolvida para investigar uma relação exploratória entre biomarcadores, idade e sexo com medidas HADS em pacientes com TCE leve. Nesse contexto, biomarcadores, idade e sexo são variáveis de associação e as medidas HADS são variáveis-alvo.

O resultado do estudo foi que observou-se diferença significativa entre pacientes e controles, com os pacientes apresentando maior pontuação ( $p<0,001$ ) para sintomas ansiosos na escala HADS. Os sintomas depressivos na escala HADS também apresentaram diferença significativa entre pacientes e controles ( $p=0,009$ ) conforme pode ser observado na tabela 3.

Além disso, observou-se que os biomarcadores IL-4 e Lipocalina-2 estavam associados à presença de sintomas ansiosos na escala HADS Ansiedade e idade e o biomarcador MCP-1 estavam associados aos sintomas depressivos mensurados na escala HADS Depressão.

## 2 - REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1- Traumatismo Cranioencefálico - Definição e Classificação:

O Traumatismo Cranioencefálico (TCE) é uma condição com alta prevalência mundial e também no Brasil, além de ser um agravo à saúde que gera grandes impactos orçamentários na saúde pública [4]

Trata-se de uma lesão intracraniana causada por uma força externa que impacta a cabeça, excedendo a capacidade protetora do cérebro. Essa força pode ser um golpe violento, uma pancada, um projétil ou mesmo uma explosão. Dependendo da gravidade do impacto, pode levar a hematomas, sangramento, disfunção cerebral ou morte. A extensão desses efeitos pode durar temporariamente, por alguns dias ou pelo resto da vida do paciente [4]

Assim, o TCE pode ser classificado como leve, moderado ou grave, dependendo do dano cerebral ocorrido [5]. O parâmetro mais utilizado para definir a gravidade do TCE é a pontuação na Escala de Coma de Glasgow (ECG), que avalia a gravidade da alteração do nível de consciência e coma através do nível de resposta motora, resposta verbal e abertura ocular [3]. Segundo a pontuação obtida nesta escala, o TCE pode ser classificado como grave (3 a 8 pontos), moderado (9 a 12 pontos) e leve (13 a 15 pontos) [2]. De acordo com Maas [2], a maioria dos casos de TCE são leves, cerca de 80%-95%.

O TCE também pode ser classificado como aberto, quando o parênquima cerebral é diretamente atingido após uma lesão aberta; ou fechado, quando a lesão decorre do choque da superfície de estruturas cerebrais contra ossos do crânio e/ou há estiramento de axônios e vasos cerebrais devido a forças de aceleração/desaceleração e forças rotacionais, não ocorrendo contato de objetos externos com o conteúdo intracraniano [5].

O TCE pode ainda ser dividido em lesões primárias ou secundárias[5,4]. As lesões primárias são aquelas que ocorrem no momento do trauma, decorrentes de dano mecânico, como estiramento, ruptura e compressão de estruturas encefálicas, podendo ser focais ou difusas. As lesões focais geralmente acometem regiões específicas do cérebro e são constituídas por hematomas, hemorragias, contusões, isquemia em determinadas regiões e fraturas cranianas. Já as lesões difusas são caracterizadas por sua dispersão por todo o cérebro, sendo compostas principalmente pela lesão axonal difusa, decorrente de estiramento ou ruptura de axônios e vasos, e inchaço cerebral [4].

A lesão primária desencadeia uma onda secundária de cascatas bioquímicas, juntamente com alterações metabólicas e celulares. Isso ocorre de segundos a minutos após o insulto traumático e pode durar dias, meses ou anos. Muitas vezes leva à neurodegeneração

progressiva e morte celular tardia, exacerbando o dano da lesão primária [4]. As lesões secundárias podem ocorrer em tempos variáveis desde minutos e até mesmo anos após o TCE e são caracterizadas pela ação de mecanismos de excitotoxicidade, estresse oxidativo, disfunção mitocondrial, alteração da barreira hematoencefálica e inflamação, que podem exacerbar as lesões primárias [4].

### **3.2 - Traumatismo Cranioencefálico - Epidemiologia:**

Entre 2008 e 2019 ocorreram, no Brasil, em média, 131.014,83 internações hospitalares ao ano devidas ao TCE. No mesmo período, a incidência foi de 65,54 por 100 mil habitantes. Os custos totais anuais médios das despesas hospitalares associadas com pacientes de TCE no Brasil foram de cerca de US\$43.238.319,90, com custo médio (por admissão de US\$327,68) segundo Carteri & Silva [6].

Ainda de acordo com os dados disponíveis no DATASUS e apresentados por Carteri & Silva [6], em números absolutos, a região com maior número de internações foi a Sudeste (648.447), seguida pela Nordeste e Sul (410.478 e 272.944, respectivamente). As regiões Norte e Centro-Oeste tiveram menor número de internações (126.327 e 113.982). A maior incidência média por 100.000 habitantes anual foi observada na região Sul (79,43), seguida das regiões Sudeste, Centro-Oeste e Norte (64,35, 63,41 e 62,37, respectivamente). A incidência média foi a menor no Nordeste (61,75).

A taxa média anual de mortalidade associada ao TCE no Brasil de 2008 a 2019 foi de 10,27%. As regiões Sudeste e Nordeste apresentaram as maiores taxas de mortalidade (11,16 e 11,02, respectivamente), seguidas das regiões Centro-Oeste (10,05) e Norte (9,33), enquanto o Sul apresentou a menor taxa (7,49).

Apesar da sua alta prevalência e grande impacto social e econômico, principalmente em países em desenvolvimento, estudos epidemiológicos relacionados à população brasileira permanecem escassos.

### **3.3 - Trauma Crânio Encefálico - Classificação de Gravidade:**

Conforme mencionado anteriormente, o parâmetro mais utilizado para se classificar a gravidade do TCE é a Escala de Coma de Glasgow – ECG [3]. Essa escala avalia parâmetros de abertura ocular, resposta verbal e melhor resposta motora.

Na escala de coma de Glasgow é atribuída uma pontuação de 3 a 15 ao paciente avaliado de acordo com os seguintes critérios:

### 1- Abertura Ocular:

- Espontânea: abre os olhos sem a necessidade de estímulo externo = 4 pontos.
- Ao som: abre os olhos quando é chamado = 3 pontos.
- À pressão: paciente abre os olhos após pressão na extremidade dos dedos (aumentando progressivamente a intensidade por 10 segundos) = 2 pontos.
- Ausente: não abre os olhos, apesar de ser fisicamente capaz de abri-los = 1 ponto.
- Não testável (NT): olhos fechados devido ao fator local impossibilitar a AO.

### 2- Resposta Verbal:

- Orientada: consegue responder adequadamente o nome, local e data = 5 pontos.
- Confusa: consegue conversar em frases, mas não responde corretamente às perguntas de nome, local e data = 4 pontos.
- Palavras: não consegue falar em frases, mas interage através de palavras isoladas = 3 pontos.
- Sons: somente produz gemidos = 2 pontos.
- Ausente: não produz sons, apesar de ser fisicamente capaz de realizá-los = 1 ponto.
- Não testável (NT): não emite sons devido a algum fator que impossibilita a comunicação.

### 3- Resposta Motora:

- À ordem: cumpre ordens de atividade motora (duas ações) como apertar a mão do profissional e colocar a língua para fora = 6 pontos.
- Localizadora: eleva a mão acima do nível da clavícula em uma tentativa de interromper o estímulo (durante o pinçamento do trapézio ou incisura supra-orbitária) = 5 pontos.
- Flexão normal: a mão não alcança a fonte do estímulo, mas há uma flexão rápida do braço ao nível do cotovelo e na direção externa ao corpo = 4 pontos.
- Flexão anormal: a mão não alcança a fonte do estímulo, mas há uma flexão lenta do braço na direção interna do corpo = 3 pontos.
- Extensão: há uma extensão do braço ao nível do cotovelo = 2 pontos.

- Ausente: não há resposta motora dos membros superiores e inferiores, apesar de o paciente ser fisicamente capaz de realizá-la = 1 ponto.
- Não testável (NT): não movimentam membros superiores e/ou inferiores devido a algum fator que impossibilita a movimentação.

Um escore na ECG abaixo de 9 é definido como TCE grave, de 9 a 12, moderado e de 13 a 15, leve [2]. Segundo Carroll [7], os critérios consensuais para diagnóstico de TCE leve (ECG 13 a 15 em cerca de 30 minutos pós-trauma ou em primeiro atendimento em serviço de saúde) são:

- confusão ou desorientação, ou
- perda de consciência por 30 minutos ou menos, ou
- amnésia pós-traumática por menos de 24 horas, e/ou
- outras anormalidades neurológicas transitórias como sinais focais, crise epilética e lesão intracraniana sem necessidade cirúrgica.

A predição da gravidade do trauma Cranioencefálico e do prognóstico pode ser refinada considerando-se também achados em exames de imagem e outros fatores.

### **3.4 - Fisiopatologia do Traumatismo Cranioencefálico**

Em qualquer caso de TCE, seja ele grave, moderado ou leve, ocorrem lesões encefálicas que são resultado de mecanismos fisiopatológicos que se iniciam com o acidente e se estendem por dias, semanas ou até anos [4].

Com a ocorrência do trauma encefálico, há um insulto inicial que leva primeiro a uma lesão primária causada pelo dano mecânico de cisalhamento, laceração e/ou estiramento de neurônios, axônios, glia e vasos sanguíneos. Tal lesão pode ser difusa, focal ou uma combinação de ambos, sendo que a maioria destas lesões resultará em perda direta de células neurais e morte celular [4].

Atualmente são conhecidos dois mecanismos de morte celular, a apoptose e a necrose. A característica central da morte por apoptose é a quebra da fita de DNA internucleossomal sendo a manifestação morfológica da morte programada, utilizada em situações fisiológicas.

No TCE podemos encontrar lesões por apoptose tanto em sítios perilesionais como em estruturas distantes do trauma [8].

De acordo com Lozano [4], a morte celular por apoptose tem a vantagem de suscitar pouca reação inflamatória, o que minimiza lesão tecidual; por outro lado, como é um mecanismo fisiológico, depende de energia. A apoptose pode ser deflagrada por estímulos conhecidos como a lesão parcial do DNA, o glutamato e o estresse oxidativo.

Apesar de bem documentada, a apoptose parece ser responsável por apenas uma pequena parte das mortes neuronais no TCE, sendo que a maior parte da morte celular advinda do trauma ocorre devido à necrose [8].

Na necrose existe uma falência energética e a morte ocorre pela incapacidade da célula de manter sua homeostase. Dessa maneira, é um processo menos organizado e que envolve uma resposta inflamatória de maior intensidade ao seu redor. Os mais conhecidos estímulos que levam a necrose são a excitotoxicidade e o estresse oxidativo [4].

No TCE, a hipóxia é o principal fator para o acúmulo de radicais livres que irão promover a morte celular. Além da hipóxia, outro fator que contribui para a morte celular é a liberação de glutamato. No TCE, há a deformação mecânica dos axônios que leva a despolarização das membranas resultando em liberação de neurotransmissores, dentre eles o glutamato.

A lesão celular na excitotoxicidade ocorre em dois estágios. Em um primeiro momento, ocorre um influxo de  $\text{Na}^+$  com conseqüente edema celular. Em um segundo momento, a abertura de canais de  $\text{Ca}^{++}$  de longa duração leva ao acúmulo excessivo de cálcio intracelular. O acúmulo de cálcio, por sua vez, é capaz de promover a ativação de proteases, fosfolipases e óxido nítrico que desencadeiam uma série de eventos que culminam com a morte celular. A ativação da fosfolipase A aumenta a permeabilidade da membrana, gera a formação de ácido aracdônico e radicais livres que irão promover a morte celular [9].

Além do processo de morte celular, em um TCE, mesmo que leve, podem ocorrer outras alterações fisiológicas advindas do trauma, como a ativação prolongada microglial, que pode produzir um processo inflamatório sem resolução e desencadear um processo de neurodegeneração [9,10].

Também podem ocorrer diversas alterações na barreira hematoencefálica devido a lesões nas células endoteliais e astrócitos causadas pelo próprio estímulo mecânico do TCE. O aumento de metaloproteinase 9 (MMP9) pós-TCE ligado à cascata inflamatória, pode digerir as junções ocludentes, causando aumento adicional de permeabilidade na barreira hematoencefálica, contribuindo para uma exacerbação da resposta inflamatória, na qual células imunes periféricas são recrutadas para o sítio da lesão, adentrando no parênquima cerebral [10,11].

O TCE pode provocar ainda alterações do funcionamento de diferentes redes neurais, além do excesso de ativação do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA), com liberação de altos níveis de cortisol, que poderia induzir neuroinflamação com ativação microglial e liberação de citocinas pró-inflamatórias como IL-6, IL-1 $\beta$  e TNF- $\alpha$  [8].

Sintomas observados após o TCE como: alteração do nível de consciência, cefaleia, tontura, vertigem, fadiga, redução da velocidade de processamento, comprometimento de memória de curto prazo e de atenção, alterações de humor e etc. podem advir da ocorrência de estiramento da substância branca de regiões que estariam mais suscetíveis à ação de forças biomecânicas, como a parte superior do tronco encefálico, eixo hipotálamo-pituitária, lobo temporal medial, região fronto-basal, junto ao processo inflamatório das meninges. A persistência de sintomas pós-concussivos estaria, então, relacionada com o tempo necessário para a recuperação destes danos e retorno da homeostase do sistema nervoso central [12]. Decorrente do fato de que os sintomas da síndrome pós-concussiva não são específicos ao paciente pós TCE [12,13], alterando a validade dessa síndrome como uma entidade diagnóstica, sugere-se que os sintomas que ocorrem após o TCE devam ser denominados apenas como sintomas pós-concussivos [13].

Assim um TCE, ainda que leve, pode promover diversas alterações no tecido cerebral, podendo resultar em diversas repercussões clínicas no indivíduo que sofreu o trauma.

### **3.5 - Ansiedade e Depressão no Traumatismo Cranioencefálico leve**

A depressão é uma síndrome heterogênea com fisiopatologia complexa. As pesquisas existentes reconhecem o papel crítico desempenhado por diferentes mecanismos celulares, neuroquímicos e neuroendócrinos na fisiopatologia da depressão [14].

Na última década, houve uma crescente conscientização de que o Traumatismo Cranioencefálico (TCE) e a concussão aumentam substancialmente o risco de desenvolvimento de transtornos psiquiátricos [15,16]. Mesmo o TCE leve aumenta o risco de Depressão e de Transtornos de Ansiedade, como Transtorno de Estresse Pós-Traumático (TEPT), em duas a três vezes, predispondo os pacientes a maiores prejuízos funcionais. Esta forte ligação epidemiológica apoia o exame de potenciais mecanismos que conduzem ao desenvolvimento de sintomas neuropsiquiátricos após TCE [15,16].

A ocorrência de TCE encontra-se associada a déficits cognitivos, sintomas neuropsiquiátricos e grande impacto funcional, sendo que a maior gravidade do trauma geralmente encontra-se associada a maior grau de comprometimento [15,16].

De forma geral, observa-se que o TCE leve está associado a maior risco de transtornos psiquiátricos, pior qualidade de vida, pior qualidade de sono, pior funcionalidade e pior funcionamento cognitivo sendo que alguns desses impactos podem ser observados por vários anos após o TCE.

Pacientes com TCE leve apresentam maior risco para transtornos psiquiátricos, como Transtorno Depressivo Maior (TDM) e Transtorno de Estresse Pós-Traumático (TEPT). Este dado foi demonstrado por Stein [19] que avaliaram prospectivamente pacientes com TCE leve (n=1155) dentro de até 24 horas até o período de doze meses pós TCE, comparados a 230 controles que sofreram algum outro tipo de trauma que não o TCE (os controles foram acompanhados até seis meses). Os pacientes com TCE deste trabalho fazem parte de um estudo prospectivo multicêntrico chamado Transforming Research and Clinical Knowledge in Traumatic Brain Injury (TRACK-TBI). Os participantes foram avaliados por meio do PTSD Checklist for DSM-5 (PCL-5), para detecção de sintomas do Transtorno de Estresse Pós-Traumático e do Patient Health Questionnaire-9 (PHQ-9), para detecção de sintomas depressivos. Em seis meses pós-trauma, pacientes com TCE leve (n=671) apresentaram uma prevalência de 19% de sintomas sugestivos de TEPT em comparação a 9,8% no grupo controle. Em relação a sintomas indicativos de TDM, pacientes com TCE apresentaram prevalência de 9% versus 5,5% no grupo controle. Os fatores significativamente relacionados a maior chance de apresentar TEPT provável aos seis meses nos pacientes com TCE foram anos de escolaridade (OR=0,89), raça negra (OR=5.11), causa da lesão decorrente de violência, assalto (OR=3,43) e histórico psiquiátrico prévio (OR=3,57). O fator relacionado à maior chance de apresentar provável TDM em seis meses foi ter histórico psiquiátrico prévio (OR=3,71). Foi observado que pacientes com TCE leve doze meses pós-trauma apresentaram uma prevalência de provável TEPT de 17,2% e de provável TDM de 6,6% [18]

No estudo longitudinal de base populacional (BIONIC study) realizado por Barker-Collo [19], já mencionado anteriormente, pacientes com TCE leve (n=223) foram avaliados em relação à presença de sintomas depressivos e ansiosos por meio da escala Hospital Anxiety and Depression Scale (HADS). Houve redução significativa de sintomas depressivos do período da avaliação inicial (até duas semanas pós TCE) a um mês e em relação à avaliação inicial e reavaliação em doze meses ( $p < 0,001$ ). Já em relação aos sintomas de ansiedade, foi identificado um aumento significativo da avaliação inicial para o período de um mês e da avaliação inicial para seis meses (ambos  $p < 0,001$ ). Entretanto, do período de seis meses a doze meses, foi observada redução significativa dos sintomas ansiosos nos pacientes com TCE leve ( $p = 0,006$ ).

Barker-Collo [19] investigou a prevalência de sintomas de ansiedade e depressão neste estudo de base populacional (BIONIC study) por um período ainda mais extenso. Além das avaliações no período inicial (até duas semanas pós TCE), de seis meses e de doze meses, pacientes com TCE foram avaliados também no período de 48 meses pós TCE. Para identificar sintomas significativos de ansiedade e depressão, foi aplicada a escala HADS e utilizou-se o ponto de corte de sete pontos ou mais em cada subescala para indicar a presença de ansiedade e depressão. Observou-se, de forma geral, diminuição do número total de sintomas de depressão ( $p < 0,001$ ) e ansiedade ( $p = 0,013$ ) ao longo do tempo. Na avaliação inicial ( $n=223$ ) identificou-se prevalência de 2,8% de depressão, 29,5% de ansiedade e 20,7% de comorbidade entre ansiedade e depressão. Aos seis meses pós TCE ( $n=267$ ), não foram identificados pacientes com critério para depressão de forma isolada, entretanto, observou-se que 3,7% dos pacientes tinham critério para ansiedade somente e 15,7% apresentaram critério para ansiedade e depressão. No período de doze meses ( $n=315$ ), 2,2% dos pacientes apresentaram somente depressão, 25,5% apresentaram somente ansiedade e 10,2% apresentaram comorbidade de ansiedade e depressão. Aos 48 meses pós TCE, foi identificada prevalência de 7,7% de depressão somente, 13,6% de ansiedade somente e 11,8% de ansiedade mais depressão.

### **3.6 - Neurobiologia da Ansiedade**

Ansiedade normal é um sentimento de receio, no qual os pensamentos e as emoções produzem alterações corporais desconfortáveis, tais como taquicardia, dilatação das pupilas, tremores e sudorese. A ansiedade normalmente é manifestada por uma situação específica e o grau de prejuízo é proporcional ao risco ao qual o indivíduo está exposto. A ansiedade normal é de grande utilidade para motivar o indivíduo a tomar decisões e a se preparar para lutar ou fugir quando necessário [20].

Já a ansiedade patológica é a resposta neuroendócrina com sentimento de ansiedade desproporcional ao risco envolvido e pode tornar-se crônico.

A maior característica dos Transtornos de Ansiedade é a resposta de estresse, que é emitida de forma inadequada e exagerada pelo sistema nervoso central (SNC) [20].

Segundo Konklewitz [21], os comportamentos de fuga e esquiva aumentam o estado de vigilância e de alerta pela ativação da divisão simpática do sistema nervoso central, com a liberação de cortisol pelas glândulas adrenais. O cortisol é liberado na corrente sanguínea pela glândula adrenal em resposta a um aumento do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH).

Quando o núcleo central da amígdala é ativado, interfere no eixo HPA (eixo hipotálamo-pituitária-adrenal), emitindo uma resposta de estresse, e quando esse funcionamento é ativado de forma aumentada, podem aparecer os Transtornos de Ansiedade [21]. O excesso de cortisol em períodos contínuos ou de estresse crônico, pode levar à morte os neurônios do hipocampo, causando mau funcionamento de suas funções, principalmente da memória [21].

A atividade elevada do córtex pré-frontal, também tem sido relatada nos Transtornos de Ansiedade. Em resumo, a amígdala e o hipocampo regulam o sistema HPA e a resposta do estresse de uma maneira coordenada, tanto com a hiperatividade da amígdala, relacionada a memórias inconscientes estabelecidas por mecanismos de condicionamento, como pelo medo com a diminuição da atividade do hipocampo, o qual participa no armazenamento de memórias conscientes durante uma situação de aprendizado traumático [21].

A ansiedade não está somente ligada ao aumento da atividade da amígdala, mas também a menor eficiência do córtex pré-frontal [22].

Com relação aos neurotransmissores, a serotonina exerce um duplo papel na regulação da ansiedade: age como ansiogênico na amígdala e ansiolítico na substância cinzenta periaquedutal dorsal. Os inibidores de recaptção da serotonina (ISRSs) prolongam a ação da serotonina liberada em seus receptores, inibindo sua recaptção [21].

Outro neurotransmissor que interfere no eixo da ansiedade é o ácido gama-aminobutírico (GABA), que possui efeito de ação ansiolítica. Tal efeito parece consistir em reduzir o funcionamento de grupos neuronais do sistema límbico, inclusive a amígdala e o hipocampo, que são responsáveis pela integração de reações de defesa contra ameaças de dano ou perda, ou ainda por medo de situações novas [21].

### **3.7 - Neurobiologia da Depressão**

A depressão é uma síndrome heterogênea com fisiopatologia complexa. As pesquisas existentes reconhecem o papel crítico desempenhado por diferentes mecanismos celulares, neuroquímicos e neuroendócrinos na fisiopatologia da depressão [14].

Os primeiros modelos teóricos postularam que a depressão é devido à diminuição da neurotransmissão de monoaminas, particularmente serotonina e norepinefrina. Posteriormente foi observado que a depressão envolve o funcionamento anormal de outras monoaminas como a dopamina, e de outros neurotransmissores como o GABA e o Glutamato [23]

O papel do sistema serotoninérgico tem sido repetidamente demonstrado em um modelo experimental que esgota rapidamente o triptofano, o aminoácido precursor necessário para a síntese central de serotonina [23]

O papel do sistema de catecolaminas (norepinefrina e dopamina) também foi examinado usando um paradigma de depleção com alfa-metil-para-tirosina, que esgota rapidamente as catecolaminas inibindo sua síntese [23]

A diminuição da transmissão de dopamina tem sido associada à depressão em estudos genéticos, neuroquímicos, de neuroimagem, post-mortem e em animais. Esses estudos sustentam a hipótese de que alguns pacientes apresentam um subtipo de depressão sensível à dopamina e resistente ao tratamento com antidepressivos que atuam inicialmente nas vias da serotonina e da norepinefrina [23].

Numerosos estudos implicam mudanças no GABA e glutamato na fisiopatologia da depressão. Estudos de espectroscopia de ressonância magnética em indivíduos sem medicação com Depressão Maior observaram níveis elevados de glutamato e níveis mais baixos de GABA no córtex occipital, e descobriram que o aumento do glutamato nos núcleos da base estava associado ao aumento da anedonia e aumento da lentificação psicomotora. Além disso, reduções anormais nas concentrações de glutamato/glutamina e GABA foram encontradas no córtex pré-frontal de pacientes deprimidos não medicados. Esses achados sugerem que as mudanças no glutamato e no GABA podem variar de acordo com a região do cérebro [23].

O BDNF parece estar envolvido na depressão ligando estresse, neurogênese e atrofia hipocampal. No entanto, o BDNF pode ser relacionado a uma ampla gama de manifestações psicopatológicas além da depressão [23].

Acredita-se que em muitos pacientes deprimidos, a superprodução do hormônio liberador de corticotropina causa atividade excessiva do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal. A secreção prolongada ou excessiva de glicocorticóides pode levar à supressão da neurogênese e atrofia hipocampal [23].

### **3.8 - Biomarcadores no TCE Leve**

Além da avaliação clínica e exames de imagem, já amplamente estudados e utilizados na prática médica para prever prognóstico, muitos estudos têm sugerido a avaliação de biomarcadores no Trauma Crânio-encefálico.

Vários biomarcadores têm sido investigados no TCE leve como citocinas, marcadores de dano neuronal, glial e vascular, que refletem diferentes processos patológicos que ocorrem ao longo do tempo após a lesão encefálica [24].

De acordo com Zetterberg [24], os biomarcadores apresentam potencial tanto para auxiliar na identificação de possíveis alterações que requerem uma tomografia computadorizada de crânio (TC) como lesões intracranianas e hemorragias, que podem não ser presumidas por meio de sinais clínicos, bem como na identificação de casos de TCE leve, que geralmente não apresentam alterações à TC [24,25].

Gan [25] identificou diversos estudos com biomarcadores séricos com importância clínica discriminativa no TCE leve em 3 diferentes situações: 1- detectar a presença de concussão em estágio agudo, 2- prever dano intracraniano após TCE leve, 3- prever o atraso na recuperação dos sintomas pós TCE leve.

Para a detecção de concussão/TCE leve foram identificados como excelentes (que apresentaram área sob a curva - AUC – acima de 0.9) quatro painéis de biomarcadores: 1) coceptina, galectina-3, e metaloproteinase de matriz-9 (MMP-9); 2) proteína ácida fibrilar glial (GFAP) e Ubiquitina C-terminal Hidrolase-L1 (UCH-L1); 3) painel de 10 metabólitos; 4) painel de 17 metabólitos. Além desses painéis, foram considerados como bons (AUC= 0.80-0.89) os biomarcadores coceptina, Creatina quinase tipo B (CKBB), galectina 3, MMP-9, ocludina e um painel de 10 metabólitos. Para a detecção de dano intracraniano em pacientes com TCE leve, foram identificados como excelentes biomarcadores a fosfo-tau (P-tau) e razão de P-tau/total tau e dois painéis: 1) metaloproteinase-2 (MMP-2), proteína C reativa (CRP), CKBB; 2) UCH-L1 e GFAP. Como bons marcadores, apareceram a razão GFAP/GFAP-BDP e D-Dímero. O marcador S-100B apresentou AUC entre 0.70-0.79, o que o deixou em uma classificação aceitável. Já para identificar o atraso na recuperação de pacientes com TCE leve, foram identificados biomarcadores classificados como bons: grelina, glicose, neurofilamento de cadeia leve (NFL), Calpain-derived  $\alpha$ II-spectrin N-terminal fragment (SNTF), proteína tau A (Tau-A). Esses biomarcadores teriam a capacidade de detectar risco de déficits cognitivos persistentes pós TCE [25].

No estudo realizado por Clarke [26], os níveis dos marcadores neuronais GFAP, NFL e proteína tau foram avaliados de forma prospectiva em uma larga amostra de pacientes com TCE leve (n=207), pertencentes ao estudo prospectivo de traumatismo cranioencefálico leve de Trondheim, que foram comparados a controles ortopédicos (n=52) e controles comunitários (n=84). Os tempos de avaliação foram de até 24 horas, 72 horas, duas semanas, três meses e 12 meses pós TCE. Observou-se que os níveis plasmáticos de GFAP e tau

estiveram significativamente aumentados nos pacientes com TCE leve em comparação aos controles (n=136 – controles ortopédicos + comunitários) em até 24 horas, com maior diferença em relação aos níveis de GFAP, que também obteve boa capacidade discriminativa de pacientes x controles (AUC 0.92). Os níveis de GFAP permaneceram elevados 72h após TCE e posteriormente se reduziram, não havendo diferença em relação a controles duas semanas pós TCE.

Em relação à proteína tau, seus níveis estiveram significativamente elevados nos pacientes somente no tempo de 24 horas pós TCE, sem diferenças em relação aos controles nos outros tempos de avaliação. Por sua vez, em relação ao NFL, houve diferença significativa entre pacientes e controles somente no tempo de duas semanas pós TCE, sendo que os níveis de NFL estiveram elevados em pacientes e assim permaneceram no tempo de três meses pós TCE, retornando ao nível dos controles somente no tempo de doze meses [26]. De acordo com esses dados, os autores sugerem que GFAP e tau sejam marcadores de lesão primária e o NFL seja um marcador de lesão secundária do TCE leve.

O estudo prospectivo de Trondheim, que avaliou 207 pacientes com TCE leve, os quais foram investigados quanto a alterações plasmáticas dos níveis de citocinas ao longo de doze meses após o TCE [27], identificou que pacientes com TCE leve apresentaram níveis plasmáticos de interferon gamma, interleucina-8, eotaxina, proteína 1 beta inflamatória de macrófago (MIP-1 beta), proteína 1 quimioatraente de monócito (MCP- 1), interleucina-17A, interleucina-9, fator de necrose tumoral (TNF), e fator de crescimento de fibroblasto (FGF) significativamente elevados em relação a controles (n=82) nos tempos de 72 horas, três meses e doze meses pós-trauma.

A identificação de níveis elevados desses marcadores inflamatórios pode indicar processo inflamatório relacionado ao TCE leve ocorrendo de forma persistente, até um ano pós-trauma[27]. Outro estudo prospectivo recente [28] também procurou identificar alterações nos níveis de diferentes citocinas no plasma de pacientes com TCE leve (n=53) em comparação a controles ortopédicos (n=24) nos tempos de 24 horas e seis meses pós trauma. Os pacientes apresentaram redução significativa dos níveis de IL-1 beta, IL-4, IL-6 e IFN gamma de 24 horas para o tempo de seis meses pós TCE. Houve diferença significativa nos níveis de IL-2 e IL-6 no tempo de 24 horas e nos níveis de IL- 6 aos 6 meses, sendo que os pacientes com TCE leve apresentaram níveis elevados em comparação aos controles ortopédicos. Piores sintomas pós-concussivos (avaliados pelo Rivermead Post Concussion Questionnaire – inclui queixas cognitivas, emocionais e somáticas como falta de concentração, irritabilidade e alterações de sono) uma semana pós TCE estiveram associados

a níveis agudos de IL-2 aumentado e de IL-6 e IL-17A reduzidos. Além disso, observou-se associação significativa entre maiores níveis de IL-17A aos seis meses e pior funcionamento executivo na tarefa de Stroop da bateria Delis- Kaplan, indicando pior controle inibitório aos seis meses pós TCE [28]. Dessa forma, podemos presumir que biomarcadores inflamatórios poderiam ser úteis para auxiliar na compreensão de mecanismos fisiopatológicos do TCE leve e de seus impactos cognitivo-comportamentais.

Tais biomarcadores poderiam contribuir para o diagnóstico e prognóstico do TCE leve, refletindo alterações neuropsiquiátricas e auxiliando na determinação de prognósticos e intervenções precoces.

#### 4 - JUSTIFICATIVA

O TCE leve é uma condição bastante frequente na população mundial, com estimativas de possível aumento devido a situações como acidentes de trânsito, violência interpessoal e esportes [2].

Dada a alta prevalência do TCE, faz-se necessário o estudo das associações deste trauma com transtornos psiquiátricos que comprometem a funcionalidade e a qualidade de vida dos indivíduos conforme demonstrado na literatura [28,29], incluindo o impacto do TCE leve no retorno ao trabalho e empregabilidade [29,31,32].

Por ter sido considerada uma condição que cursa, na maioria dos casos com alterações consideradas leves e de recuperação rápida [35], os impactos a médio e longo prazo do TCE leve foram subestimados por muito tempo, tornando-se foco de estudo apenas recentemente, com a observação de populações militares e atletas altamente expostos a esta condição [36].

Em um estudo prospectivo realizado com 831 pacientes com TCE leve [37], foi observado que menos da metade dos pacientes (41%) receberam algum material educativo sobre o TCE leve ao receberem alta hospitalar e menos da metade (44%) teve algum tipo de retorno médico em até três meses pós TCE. Do total da amostra, 279 (34%) dos pacientes relataram três ou mais sintomas pós-concussivos moderados ou graves em três meses pós TCE. Apesar da presença dos sintomas, somente 52% (n=145) destes pacientes tiveram algum retorno médico [37]. Este dado reflete a falta de acompanhamento e assistência ao paciente com TCE leve pós estágio agudo.

Em relação aos sintomas de Ansiedade e Depressão associados ao quadro de Trauma Cranioencefálico Leve, os estudos encontrados na literatura investigam a associação de sintomas depressivos e ansiosos ao TCE geral, não especificando tratar-se de TCE leve ou TCE grave .

Até a presente data, não foram identificados estudos que investigam a associação de sintomas depressivos e ansiosos em específico com TCE leve na população geral.

Também não foram encontrados estudos que fazem uma associação direta, determinando quais biomarcadores se alteram no TCE leve e estariam relacionados a quadros depressivos e ansiosos.

Este estudo permitirá avaliar a incidência de sintomas de Depressão e Ansiedade desencadeados após quadro de TCE leve e identificar potenciais marcadores associados a estes sintomas.

Deste modo pode auxiliar na compreensão dos possíveis impactos do TCE leve e estimular o estudo de intervenções que sejam mais específicas e eficazes, potencialmente reduzindo o impacto cognitivo-comportamental do TCE na vida do paciente.

## **5 - HIPÓTESE**

A hipótese apresentada neste estudo é que existem biomarcadores (marcadores inflamatórios, marcadores de dano neural, vascular e axonal e fator neurotrófico cerebral) que podem estar associados a incidência de sintomas depressivos e ansiosos nos pacientes com TCE leve.

## **6 - OBJETIVOS**

### **6.1 - Objetivo geral**

Identificar potenciais biomarcadores séricos de ansiedade e depressão em pacientes vítimas de TCE leve.

### **6.2 - Objetivos específicos**

- Investigar a presença de sintomas de ansiedade em pacientes com TCE leve em comparação a controles saudáveis.
- Investigar a presença de sintomas depressivos em pacientes com TCE leve em comparação a controles saudáveis.
- Identificar potenciais biomarcadores associados aos sintomas de Depressão e Ansiedade desencadeados pós Trauma Cranioencefálico Leve.

## **7- MÉTODOS**

### **7.1 - Participantes e critérios**

#### **7.1.1 - Participantes e critérios de inclusão e exclusão do estudo**

Participantes com TCE leve (n=21) foram avaliados no pronto atendimento da neurologia do Hospital João XXIII. As coletas foram realizadas durante trinta dias consecutivos. A definição dos dias e horários da coleta dos dados foram estabelecidos por conveniência, conforme a disponibilidade do pesquisador e logística do serviço de atendimento.

Assim, a captação de participantes para a pesquisa e a coleta dos dados foi realizada no Hospital João XXIII, em dias úteis, às 18:00.

Todos os casos de TCE identificados na sala do pronto atendimento foram registrados e apenas os pacientes com TCE leve que concordaram em participar do estudo por meio da assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) foram incluídos.

Foram incluídos pacientes com a pontuação de treze a quinze na escala de coma de Glasgow, à admissão hospitalar (tal pontuação é critério definidor de diagnóstico de TCE leve), com idade de dezoito a sessenta e cinco anos, que sofreram TCE há menos de 24 horas.

Foram excluídos pacientes com quaisquer outros traumas, lesões ou infecções e histórico de transtorno mental, epilepsia, neurocirurgia, demência, fratura de crânio, lesão penetrante ou achados de alterações intracranianas no exame de tomografia computadorizada do crânio realizada no pronto atendimento.

Também foram excluídos os pacientes que, após realização do teste de rastreio MINI PLUS apresentaram histórico de qualquer agravo à saúde mental, previamente ao trauma.

O grupo controle foi composto por 13 participantes saudáveis recrutados na comunidade que concordaram em participar do estudo por meio da assinatura do TCLE. Foram incluídos participantes de dezoito a cinquenta e nove anos de idade, sem histórico de TCE ou transtornos psiquiátricos. Os critérios de exclusão adotados para o grupo controle incluíam também histórico de neurocirurgia, doenças neurodegenerativas, acidente vascular encefálico, epilepsia e outras doenças neurológicas, declínio cognitivo.

### **7.2 - Aspectos éticos**

Este projeto apresenta aprovação no COEP-UFMG e na Comissão de ética da FHEMIG, sob o número de protocolo CAAE: 49623015.0.0000.5149.

### **7.3 - Financiamento**

O projeto de pesquisa apresenta financiamento internacional adquirido pelo 2016 NARSAD Young Investigator Grant from the Brain and Behavior Research Foundation, NY, USA, número 25414, e nacional pelo 2019 For Women in Science Award- L’Oreal brasil-UNESCO-Academia Brasileira de Ciências (ABC) e pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais - FAPEMIG (APQ-02556-17).

### **7.4 - Desenho do estudo**

O estudo consistiu em investigação transversal, no período de um mês pós-trauma, dos parâmetros clínicos, neuropsicológicos e de marcadores séricos em vinte e um pacientes com idade de dezoito a cinquenta e nove anos que estiverem em observação após atendimento no pronto socorro do Hospital João XXIII nos dias úteis às 18 horas, com TCE leve que atenderam aos critérios de inclusão e exclusão.

A coleta de dados sócio-demográficos e inclusão no estudo ocorreram no pronto atendimento do HJ-XXIII, um grande centro de referência em trauma no estado de Minas Gerais, em até 24 horas pós TCE.

Todos os participantes envolvidos nesta pesquisa foram informados sobre os procedimentos e intuito da pesquisa e concordaram em assinar o Termo de Consentimento Livre Esclarecido (TCLE).

As coletas de até um mês após o TCE foram realizadas no ambulatório do próprio hospital e no Laboratório Interdisciplinar de Investigações Médicas (LIIM) da Faculdade de Medicina da UFMG, mediante agendamento realizado de acordo com a disponibilidade dos participantes e da entrevistadora.

A coleta de todos os participantes foi composta por bateria de avaliação neuropsicológica, escalas de funcionamento cognitivo, de ansiedade e de depressão, e coleta de sangue periférico para análise de marcadores.

Para compor o grupo controle, 13 participantes saudáveis (de 18 a 59 anos), sem histórico de TCE, recrutados na comunidade foram avaliados com os mesmos testes que os pacientes.

## **7.5 - Instrumentos:**

### **7.5.1- Avaliação em até 24 horas**

Neste momento foram coletados os dados sócio-demográficos e realizada avaliação neuropsicológica breve.

Os dados sociodemográficos coletados foram:

- Sexo
- Etnia
- Idade
- Estado civil
- Local de residência.
- Escolaridade.

### **7.5.2 - Avaliação em até 30 dias**

A avaliação neuropsiquiátrica, realizada no ambulatório do próprio hospital e no Laboratório Interdisciplinar de Investigações Médicas (LIIM) da Faculdade de Medicina da UFMG, em até 30 dias após o trauma, foi composta pelo seguinte instrumento:

- HADS: A Escala Hospitalar de ansiedade e depressão (Hospital Anxiety and depression scale – HAD) [38] é uma escala de autorrelato com objetivo de identificar sintomas que possam ser compatíveis com a presença de transtornos de ansiedade e depressão em populações não-clínicas. É composta por 14 itens, sendo 7 deles referentes a sintomas de ansiedade e 7 de depressão. Cada um dos itens pode receber uma pontuação que varia de 0 a 3, sendo a pontuação total máxima de cada subescala de 21 pontos. Uma pontuação maior ou igual à 7 é sugestiva de ansiedade e maior ou igual a 6, sugestiva de depressão.

## **7.6 - Coleta e análise dos marcadores no sangue**

O sangue periférico dos participantes foi coletado logo após as avaliações descritas no item 7.5 por punção venosa da região cubital com tubos a vácuo, no período de até 30 dias após o TCE.

O processamento do sangue para obtenção de soro ocorreu em até 3 horas pós coleta, no qual os tubos foram centrifugados por 10 minutos, a 4° C, com 3.000 rotações por minuto. As alíquotas de soro foram armazenadas a -80° C até o momento da análise.

Os marcadores Copeptina e do sistema renina-angiotensina (angiotensina I, angiotensina, II, enzima conversora de angiotensina e enzima conversora de angiotensina 2) foram dosados por meio do método Elisa (MyBioSource, CA, USA), enquanto os marcadores descritos a seguir foram quantificados por meio de Luminex LUMINEX, TX, USA; R&D Systems, Minneapolis, MN, USA): epidermal growth factor (EGF), fibroblast growth factor 2 (FGF-2), Eotaxin, transforming growth factor alpha (TGF- alpha), granulocyte colony-stimulating factor (GCSF), granulocyte-macrophage colony- stimulating factor (GM-CSF), interferon alpha 2 (IFN-alpha2), interferon gamma (IFN- gamma), growth-related oncogene (GRO), Interleucina-10 (IL-10), monocyte chemotactic protein 3 (MCP-3), interleucina-12 p40 (IL-12p40), macrophage-derived chemokine (MDC), interleucina -12 p70 (IL-12p70), interleucina-13 (IL-13), interleucina-15 (IL-15), soluble CD40 ligand (sCD40L), interleucina-17 A (IL-17A), interleucina-1 alpha (IL-1alpha), interleucina-9 (IL-9), interleucina-1 beta (IL-1beta), interleucina-2 (IL-2), interleucina-3 (IL-3), interleucina-4 (IL-4), interleucina-5 (IL-5), interleucina-6 (IL-6), interleucina-7 (IL-7), interleucina-8 (IL-8/CXCL8), IP-10, monocyte chemotactic protein 1 (MCP-1), macrophage inflammatory protein-1 alpha (MIP-1alpha), macrophage inflammatory protein-1 beta (MIP-1beta), Fator de necrose tumoral alfa (TNF-alfa), vascular endothelial growth factor A (VEGF-A), fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF), Catepsin D, soluble intercellular adhesion molecule-1 (sICAM-1), myeloperoxidase (MPO), platelet derived growth factor-AA (PDGF-AA), RANTES, neural cell adhesion molecule (NCAM), platelet derived growth factor-AB (PDGF-AB/BB), soluble vascular cell adhesion molecule-1 (sVCAM-1), plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1), matrix metalloproteinase-9 (MMP-9), Fibroblast Activation Protein, Neuropilin-1, Lipocalin-2/ neutrophil gelatinase associated lipocalin (NGAL), vascular endothelial growth factor receptor 2 (VEGF- R2/KDR), matrix metalloproteinase-1 (MMP-1), macrophage migration inhibitory factor (MIF), S100 calcium binding protein B (S100-B), tumor necrosis factor superfamily member 14 (TNFSF14/LIGHT), amyloid precursor protein (APP), receptor for advanced glycation endproducts (RAGE), Fracktalkine/CX3CL1, Enolase-2/ neuron specific enolase (NSE), neuregulin-1-beta-1(NRG1-beta1), ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase isozyme L1(UCH-L1/ PARK-5).

## 7.7 - Análise estatística

Para a análise dos dados sociodemográficos foi utilizado Teste exato de Fisher para análise do sexo, Teste t para amostras independentes para análise da idade e Mann Whitney para análise dos dados referentes a escolaridade.

A partir dos dados sociodemográficos foi desenvolvida abordagem para investigar uma relação exploratória entre biomarcadores, idade e sexo com medidas HADS em pacientes com TCE leve. Nesse contexto, biomarcadores, idade e sexo são variáveis de associação, e as medidas HADS são variáveis-alvo. A análise foi realizada tem quatro etapas em seu algoritmo sequencial da seguinte forma:

Etapa 1: identificação e remoção de outliers dos dados. Nesta etapa inicial, os métodos de desvio padrão e Intervalo Interquartil (IQR) foram implementados usando a linguagem de programação Python [39] com base na referência [40]. Três desvios padrão da média foram adotados como ponto de corte para identificar outliers usando o método do desvio padrão. Um fator k de 3 foi usado para identificar valores extremos de outliers usando o método IQR. Um recurso é removido dos dados quando pelo menos um dos métodos indica que ele tem um outlier. Esta etapa de pré-processamento é essencial para limpar a amostra de dados para garantir que as observações representem melhor o problema.

Etapa 2: determinando as pontuações de importância para cada recurso. Esta etapa tem como objetivo atribuir uma pontuação média aos recursos de entrada com base em sua utilidade na previsão de uma variável alvo. A técnica de importância do recurso de permutação com o algoritmo Random Forest para regressão é investigada usando scikit-learn [41], uma ferramenta simples e eficiente para análise preditiva de dados em Python. O algoritmo Random Forest é aplicado com parâmetros padrão usando a classe RandomForestRegressor no scikit-learn. A técnica de importância do recurso de permutação no scikit-learn é adotada com o parâmetro `n_repeats` igual a 100, e esse parâmetro denota o número de vezes para permutar um recurso. As técnicas de importância da Random Forest e da permutação são simuladas em dez interações. O parâmetro `random_state` é definido com um número inteiro em cada iteração, ou seja, a iteração do número varia entre 0 e 9. O parâmetro `random_state` indica uma semente do gerador de números pseudo aleatórios.

Etapa 3: análise da multicolinearidade entre recursos. Inicialmente, para cada variável-alvo, definimos um conjunto de características da etapa 2 que têm uma pontuação média maior ou igual a um limite, que é a pontuação média de todas as características em análise. Em segundo lugar, as correlações de Spearman usando pandas [42], uma biblioteca Python para ferramenta de análise e manipulação de dados, foram calculadas considerando cada conjunto de recursos. Nesta etapa, correlações entre recursos maiores ou iguais a 0,7 indicam os recursos candidatos para remoção do conjunto. As características candidatas cuja soma nos módulos dos coeficientes de Spearman tem o maior valor são removidas e não são consideradas na etapa 4.

Etapa 4: construção de modelos de regressão linear múltipla para explorar a relação entre características e variáveis-alvo. Nesta etapa, o módulo stats models do Python [43] foi adotado para implementar o método Ordinary Least Squares (OLS) para regressão linear múltipla usando a técnica de eliminação reversa. Inicialmente, todas as características de cada conjunto definido na Etapa 3 foram normalizadas e usadas para gerar o modelo. Em seguida, a classe StandardScaler do pré-processamento do módulo do scikit-learn é aplicada para normalização de dados. Um nível de significância para o recurso permanecer no modelo foi definido como valor de  $p < 0,05$  durante o passo a passo do método OLS.

Devido à discrepâncias técnicas foi optado pelo grupo a retirada de outliers.

## 8 - RESULTADOS

A amostra clínica final foi composta por 21 pacientes com TCE leve. As características sociodemográficas e clínicas são mostradas nas Tabelas 1 e 2.

Composta majoritariamente por homens (52,38%), a amostra clínica apresentou uma média de idade de 35,66 anos, variando de 24 a 52 anos. A média de escolaridade foi de 9,9 anos estudados, com desvio padrão de 0,42. A mediana desse fator foi de 10 anos de estudo, sendo o mínimo de 5 e o máximo de 15 anos (tabela 1).

O grupo controle saudável foi composto por 13 participantes com idade entre 20 e 55 anos de idade, com idade média de 38,61 anos, em sua maioria do sexo masculino (53,8%). A média de anos de estudo foi de 10,38 anos, com desvio padrão de 1,04. A mediana, neste caso, foi de 11 anos, sendo o mínimo de 4 e o máximo de 15 anos de escolaridade. Não houve diferença de sexo, idade e anos de estudo entre pacientes e controles ( $p>0,05$ ), conforme pode ser observado na Tabela 1.

Tabela 1. Características sócio-demográficas: sexo, idade e escolaridade

	Controles N (%) Média (DP) Mediana (PC 25-75)	Pacientes N (%) Média (DP) Mediana (PC 25-75)	Valor p
Sexo masculino	7	11	1,0 <sup>a</sup>
Sexo feminino	6	10	1,0 <sup>a</sup>
Idade	38,61 (3,07)	35,66 (1,85)	0,38 <sup>b</sup>
Anos escolaridade	11 (7,5 – 14,5)	10 (8,5 – 11)	0,57 <sup>c</sup>

a - Teste exato de Fisher; b- Teste t para amostras independentes; c- Mann Whitney

Os dados clínicos dos pacientes com TCE podem ser observados na Tabela 2. A maioria dos pacientes (81%) obteve uma pontuação de 15 na Escala de Coma de Glasgow (ECG) à admissão hospitalar.

As causas mais frequentes de TCE foram queda de altura variada, representando 23,8% dos casos, seguido de queda da própria altura (19%). Pouco mais da metade (52,4%)

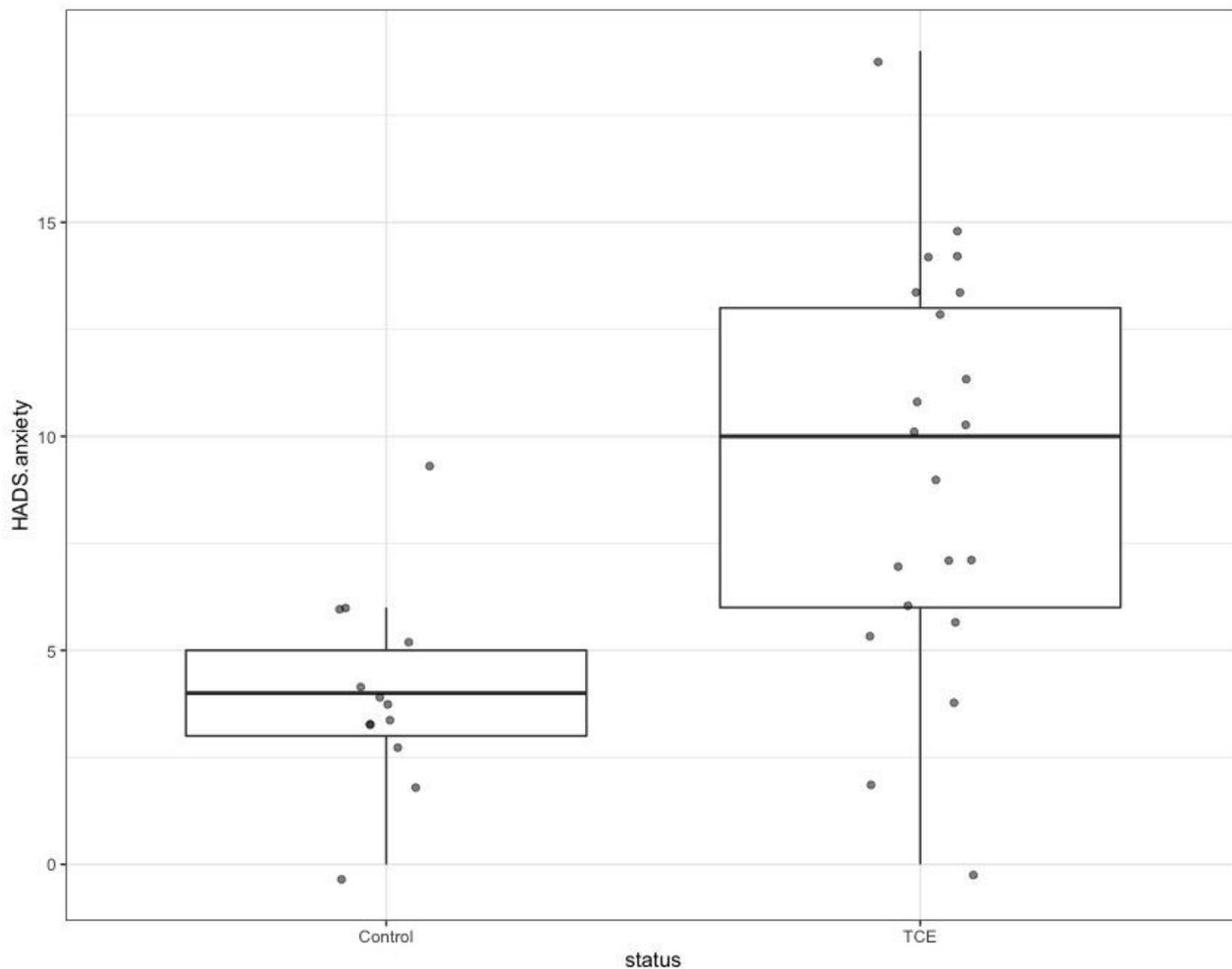
dos participantes do estudo que sofreram TCE leve apresentaram perda de consciência após o trauma.

Tabela 2. Causas de TCE (n=21)

Causa do TCE	N (%)
Queda da própria altura	4 (19%)
Acidente automobilístico	3 (14,3%)
Acidente automobilístico	2 (9,5%)
Agressão física	3 (14,3%)
Atropelamento	1 (4,8%)
Queda de altura variada	5 (23,8%)
Outros	3 (14,3%)
	N (%)
Perda de consciência	11 (52,4%)
	N (%)
ECG 13	2 (9,5%)
ECG 14	1 (4,8%)
ECG 15	17 (81%)

Foi observada diferença significativa entre pacientes e controles em relação à presença de sintomas ansiosos aferidos através da escala HADS, com os pacientes com TCE apresentando maior pontuação ( $p < 0,001$ ). Essa diferença pode ser observada no Gráfico 1.

Gráfico 1. HADS Ansiedade x Grupo controle e grupo com TCE.



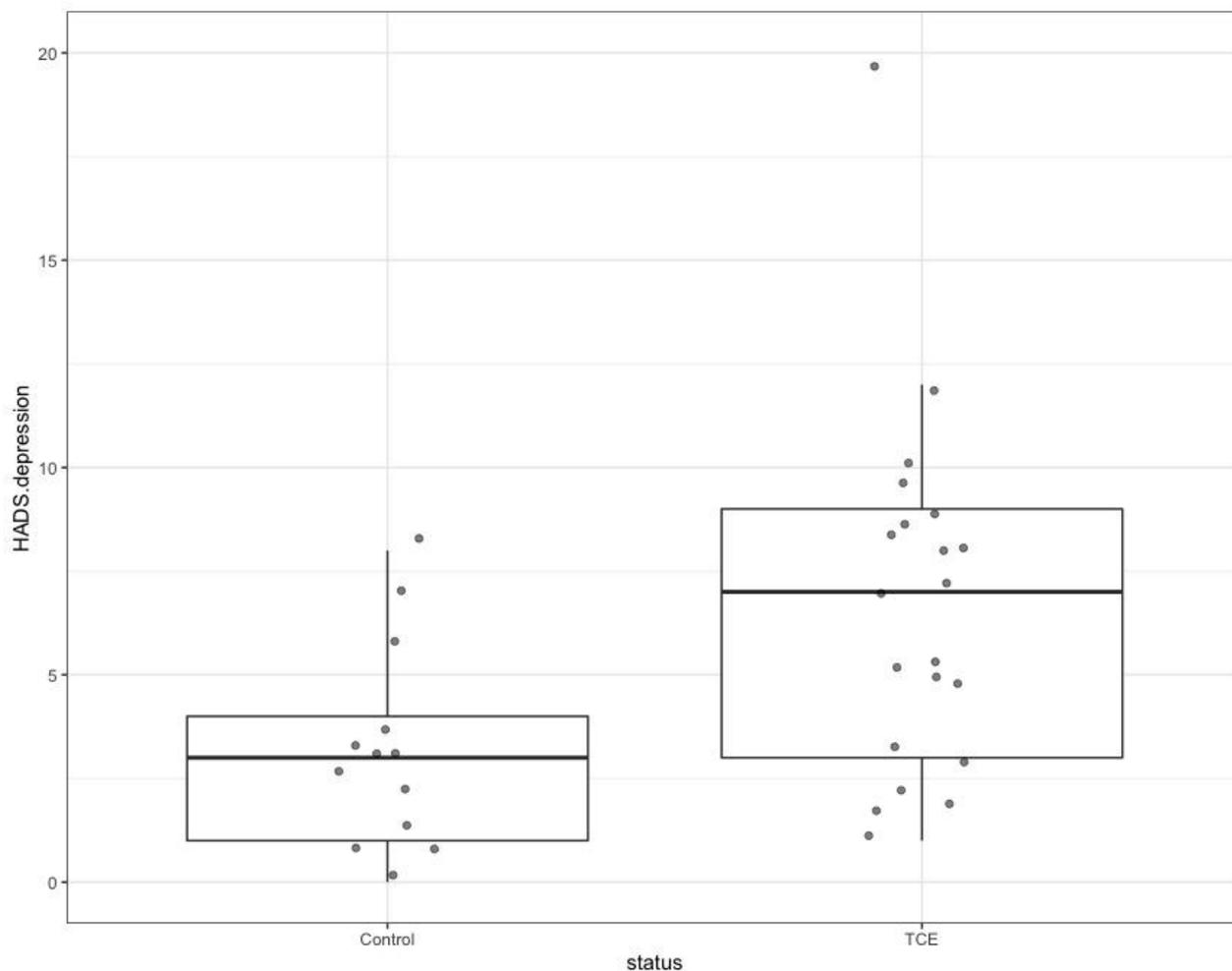
Os sintomas depressivos aferidos na escala HADS também apresentaram diferença significativa entre pacientes e controles ( $p=0,009$ ) conforme pode ser observado na Tabela 3 e no Gráfico 2.

Tabela 3. Escores de ansiedade e depressão em controles saudáveis e pacientes com TCE leve

HADS	Controles (n=13) Média (DP) Mediana (PC 25-75)	TCE leve (n=21) Média (DP) Mediana (PC 25-75)	Valor p
HADS Ansiedade	4 (0,61)	9,33 (1,02)	<0,001 <sup>b</sup>
HADS Depressão	3 (1-5)	7 (3-9)	0,009 <sup>c</sup>

b - Teste t para amostras independentes; c- Teste de Mann-Whitney

Gráfico 2. HADS depressão x Grupo controle e grupo com TCE



Observou-se que os biomarcadores IL-4 e Lipocalin-2 estão associados à presença de sintomas ansiosos na escala HADS Ansiedade. Já a idade e o biomarcador MCP-1 estão conectados aos sintomas depressivos na escala HADS Depressão, como demonstra a Tabela 4.

Tabela 4. A relação entre características e variáveis-alvo foi obtida na etapa 4 da análise estatística, levando em consideração as medidas HADS

Variável de resposta	Características (variáveis de previsão)	Coefficiente Padronizado	Estatística T	Valor de P
HADS Ansiedade	IL-4	0.5177	3.253	0.004

HADS Ansiedade	Lipocalina-2	0.5194	5.717	< 0.001
HADS Depressão	idade	0.2895	2.349	0.030
HADS Depressão	MCP-1	0.4606	2.936	0.008

## 9 - DISCUSSÃO

O TCE é um agravo à saúde de alta prevalência e mesmo os quadros de Traumatismo Cranioencefálico leve (TCE) podem repercutir com grande impacto da saúde global e funcionalidade do indivíduo acometido.

Nesse sentido, é de extrema importância que se conheça e compreenda quais sintomas psiquiátricos podem surgir numa relação de causa e efeito com um quadro de TCE leve.

Além disso, uma associação com biomarcadores seria de grande valia ao tratamento e condução dos casos de TCE leve, uma vez que os biomarcadores podem fornecer uma visão sobre a base biológica subjacente dos sintomas, seja de depressão, seja de ansiedade, bem como prever o surgimento de tais sintomas podendo ser usados para desenvolver propedêuticas terapêuticas precoces ou tratamentos medicamentosos mais eficazes e, portanto, encurtar o tempo de resposta ou remissão reduzindo o impacto do agravo à saúde advindo do TCE leve.

A ideia por trás da identificação de biomarcadores é que eles permitirão a identificação de pacientes que poderiam vir a desenvolver os sintomas depressivos e ou ansiosos permitindo uma abordagem mais eficiente desses indivíduos.

Até onde sabemos, não existem estudos que abordam a associação de biomarcadores inflamatórios e de lesão neuronal e axonal com sintomas ansiosos e depressivos pós TCE leve.

O resultado deste estudo mostra que os biomarcadores IL-4 e Lipocalin-2 foram associados a escore positivo para sintomas ansiosos de acordo com a escala HADS Ansiedade e idade e o biomarcador MCP-1 foram associados ao escore positivo para sintomas depressivos segundo a escala HADS Depressão.

Embora as alterações inflamatórias tenham sido associadas a transtornos de humor e ansiedade patológica, existem poucos estudos que buscam estabelecer uma relação direta entre biomarcadores especificando-os. Os poucos estudos encontrados apresentam resultados inconsistentes e heterogêneos. Os níveis de quimiocinas têm sido um tópico pouco estudado em transtornos psiquiátricos.

Um fator de dificuldade para a realização de estudos que relacionam sintomas psiquiátricos com citocinas/ biomarcadores específicos é o fato de que as citocinas possuem uma ação pleiotrópica (células-alvo múltiplas e múltiplas ações) e muitas delas possuem um espectro de ações sobrepostas. Elas podem também exercer ações antagônicas ou sinérgicas.

Portanto, a exposição simultânea a diferentes citocinas pode resultar em respostas qualitativamente diferentes nas células-alvo. Além disso, uma citocina pode aumentar ou diminuir a produção de outra citocina [38].

Deste modo, é difícil conhecer os meios pelos quais as citocinas promovem alterações neuroimunoendócrinas, interferindo na fisiologia do sistema nervoso central, promovendo sintomas neuropsiquiátricos.

Talvez o caminho seja justamente o oposto, primeiramente estabelecer relação entre sintomas e biomarcadores para posteriormente, com o auxílio de novas tecnologias, esclarecer o papel destas citocinas na fisiopatologia dos agravos à saúde mental.

Diante disso, a psicofisiologia da ansiedade é descrita como multifatorial, resultante da combinação de fatores genéticos e ambientais e, recentemente, novos mecanismos têm surgido como peças dessa combinação incluindo: questões nutricionais [45], estresse oxidativo [46] e inflamação [47]. Especialmente com a ansiedade induzida pelo estresse, a inflamação é um fator coincidente reconhecido [48] e uma causa potencial de ansiedade [49]

Nesse sentido, as citocinas pró-inflamatórias, continuam sendo os principais bioativos que regulam a psiconeuroimunologia [50] porque podem afetar diretamente a função neuronal [51, 52]. Duas das citocinas inflamatórias geradas periféricamente mais reconhecidas que influenciam o comportamento são IL-1 $\beta$  e TNF- $\alpha$  [53,54,55], com IL-1 $\beta$  possuindo especificamente propriedades ansiogênicas [56].

Em contraste, os impactos das citocinas anti-inflamatórias na ansiedade não estão bem delineados, apesar de saber-se que dentro do sistema imunológico inato, a inclinação anti-inflamatória é fundamental para subjugar e/ou controlar a inflamação, como acontece após a entrada de macrófagos [57] ou com ativação alternativa de macrófagos. [58].

A Interleucina-4 (IL-4) é uma citocina produzida por células T tipo 2 (Th2), basófilos, mastócitos e eosinófilos ativados. Age como anti-inflamatório, bloqueando a síntese de IL-1, TNF- $\alpha$ , IL-6 e proteína inflamatória de macrófagos. A IL-4 participa na regulação do sistema imune em vários níveis. Entre outras funções, promove a diferenciação de linfócitos Th2, a proliferação e diferenciação de linfócitos B e é um potente inibidor da apoptose.

Assim, classicamente a IL-4 parece desempenhar um papel protetor no sistema nervoso central, no entanto, de forma inesperada encontramos uma associação direta do aumento de IL-4 com maior pontuação na escala HADS Ansiedade.

Outros trabalhos [59, 60, 61] que correlacionam doenças inflamatórias com aumento de IL-4 também encontraram uma relação direta entre aumento de IL-4 e pontuação na escala HADS Ansiedade.

A hipótese para explicar essa aparente contradição é que o aumento dessa citocina anti-inflamatória poderia ser um evento compensatório ao mecanismo de lesão neuroinflamatória que está sendo perpetuada ao longo do tempo. O aumento de IL-4 seria portanto uma tentativa de equilibrar uma possível resposta inflamatória exacerbada e minimizar a persistência dos sintomas ansiosos.

A lipocalina-2 (LCN2) é membro de uma família de mais de 20 proteínas de pequeno porte que desempenham diversos papéis celulares [62,63]. A LCN2 participa da resposta imune inata, dada a sua capacidade de restringir o crescimento bacteriano através da ligação a sideróforos de bactérias carregadas de ferro [64, 65]. Relata-se a presença de LCN2 em diversos tecidos, como pulmões, coração, rins, e células, como nos neutrófilos. Essa lipoproteína está ausente no cérebro normal, mas pode ser expressa em situações patológicas [66].

Níveis de lipocalina 2 elevados parecem ocorrer em resposta a estímulos variados, como inflamação periférica ou neuroinflamação [68,69]. Evidências recentes sugerem um papel neurotóxico à LCN2, principalmente na região do hipocampo [69]. A LCN2 está associada, também, à disfunção neuronal e ao comprometimento cognitivo em situações de doenças cerebrais crônicas. Em tratamentos que utilizam a LCN2, há registro de mudança de composição à nível celular do hipocampo e queda do número de neurônios maduros [69].

Em modelos animais, a expressão de LCN2 após isquemia cerebral ocorreu em astrócitos, células endoteliais, gânglios da base e no corpo caloso. Foi visto que a lipoproteína atuaria como mediador autócrino de respostas dos astrócitos, que são células importantes para a modulação sináptica e para o metabolismo neuronal [66].

Observações descreveram a lipocalina 2 como molécula de ação regulatória da morfologia neuronal e a excitabilidade no hipocampo e na amígdala após o estresse em roedores[70, 71]. No entanto, a real função do LCN2 na homeostase cerebral está longe de ser totalmente compreendida. Como uma proteína imunológica [65], é provável que a LCN2 desempenhe um duplo papel crítico tanto no sistema nervoso quanto no imunológico, podendo interferir no funcionamento do sistema nervoso central e nos mecanismos fisiopatológicos dos sintomas psiquiátricos, a exemplo dos sintomas ansiosos.

Segundo Chen [72], a injeção em ratos com lipocalina 2 recombinante nos ventrículos laterais gerou aversão social e comportamentos ansiosos, além da ativação de astrócitos no hipocampo. Diminuindo os níveis de LCN2 com auxílio de eletroacupuntura, foi visualizado melhora desses sintomas [72].

No presente estudo, foi observado que níveis aumentados de Lipocalina 2 foram associados a maior pontuação na escala HADS Ansiedade. Este achado apoia os dados apresentados nos estudos em modelos animais citados acima, que relacionam o aumento de Lipocalina 2 a uma maior excitabilidade de hipocampo e amígdala, regiões importantes na regulação do medo e da ansiedade.

Com relação aos sintomas depressivos, nosso estudo demonstrou que quanto maior a idade maior a pontuação na escala HADS Depressão.

Os dados do IBGE coletados em 2019 [73] trazem que a faixa etária com maior proporção de depressão foi a de 60 a 64 anos de idade (13,2%), enquanto o menor percentual foi obtido na de 18 a 29 anos de idade (5,9%), com uma relação direta entre idade e diagnóstico.

De fato, observa-se que na prática clínica existe maior incidência de depressão unipolar em pessoas mais velhas, havendo um aumento expressivo da incidência após os 35 anos de idade.

Além da idade, como preditor de sintomas depressivos, a proteína quimiotática de monócitos 1 (MCP-1) foi um dos biomarcadores associados aos sintomas depressivos após TCE a partir da HADS Depressão [74]

A MCP 1 faz parte da família das quimiocinas CC e tem um importante papel no processo inflamatório para o recrutamento de outras células inflamatórias, como os monócitos [75]. Essa quimiocina foi relacionada a diversas condições patológicas, inclusive em doenças neuro inflamatórias [75]. Estudos relacionaram, também, essa quimiocina ao sistema imune inato e adaptativo a partir da regulação pelos sistemas TH-1, TH-2 e pelos monócitos [75].

A expressão de MCP 1 pode ocorrer fisiologicamente ou por indução em situações de estresse oxidativo, por monócitos, por fatores de crescimento ou células endoteliais. Essa quimiocina pode ser expressa também em regiões do SNC, como o córtex cerebral, o hipocampo, o hipotálamo e a substância nigra. Um estudo recente apontou também que a MCP-1 pode agir como modulador da atividade neuronal e funções neuroendócrinas nestes locais, apontando para uma possível correlação entre esse biomarcador e depressão [76].

Diversas citocinas, entre elas a MCP-1, têm demonstrado afetar muitos comportamentos, incluindo efeitos no sono, apetite, comportamento sexual, memória e atividade motora. De fato, as citocinas são responsáveis por comportamentos exibidos durante doenças infecciosas, referidos coletivamente como comportamento doentio. É interessante que a constelação de sintomas no comportamento doentio, tais como letargia, sonolência,

fadiga, falta de interesse, falta de apetite e menor concentração, é similar a muitos sintomas descritos na síndrome depressiva [76].

Assim, os achados em nosso estudo, que associam o aumento de MCP-1 diretamente a maior pontuação na escala HADS Depressão vão ao encontro dos dados encontrados na literatura.

## 10 - CONCLUSÕES

A partir do presente estudo é possível concluir que pacientes com TCE leve apresentam maiores níveis de ansiedade e depressão em comparação com controles saudáveis quando avaliados em até um mês após o TCE.

Observa-se também que níveis séricos de IL-4 e Lipocalin-2 estão associados a presença de sintomas ansiosos indicados pela escala HADS Ansiedade e que a idade e o biomarcador MCP-1 estão associados a sintomas depressivos mensurados pela escala HADS Depressão em pacientes com TCE leve.

Esses dados apontam para a importância de avaliação e acompanhamento de pacientes com TCE, ainda que de gravidade leve, sugerindo que esses pacientes encontram-se em risco para transtornos psiquiátricos, corroborando dados da literatura.

A identificação de biomarcadores associados a sintomas ansiosos e depressivos podem nos indicar a existência de mecanismos fisiopatológicos subjacentes a esses sintomas pós TCE, o que poderia auxiliar a elucidar a fisiopatologia dos sintomas depressivos e ansiosos que surgem após quadros de TCE, ajudando a estabelecer novas propedêuticas para um tratamento eficaz desses sintomas nessa população.

## 11 - LIMITAÇÕES E PERSPECTIVAS

Nosso estudo contou com algumas limitações que merecem ser pontuadas.

A primeira seria com relação ao número de participantes: por se tratar de um estudo que não contou com um número grande de participantes, esse número reduzido pode ter influenciado o resultado aqui observado, além de limitar possíveis generalizações. Buscamos corrigir essa limitação utilizando métodos avançados de análise estatística através da metodologia de aprendizagem de máquina.

Além da possibilidade de aumentar o número de participantes do estudo, seria interessante continuar o estudo de maneira longitudinal para responder se esses sintomas depressivos e ansiosos, bem como a presença dos biomarcadores encontrados e seu comportamento.

Perspectivas: além da correlação entre marcadores inflamatórios, marcadores de dano neural, vascular e axonal e fator neurotrófico cerebral com sintomas de ansiedade e depressão após TCE leve, pretendemos fazer a correlação destes biomarcadores com outros sintomas neuropsiquiátricos no TCE leve e até mesmo correlacionar com o estabelecimento de entidades nosológicas neuropsiquiátricas. Isto poderia ser realizado utilizando os outros instrumentos de avaliação psicométrica aplicados no grupo do estudo (Minimental, BAF, MINI-Plus, WHOQOL-bref, Escala de Dificuldades de Regulação Emocional e Pittsburgh Sleep Quality Index) e realizando uma análise longitudinal dos biomarcadores no sangue periférico do grupo clínico.

A confirmação dos resultados aqui encontrados, em pesquisas futuras, pode favorecer a potencial implementação de análise destes biomarcadores na prática clínica, guiando e otimizando o acompanhamento e tratamento de pacientes vítimas de TCE leve.

## REFERÊNCIAS

- [1] Gardner, A. J., Zafonte, R. (2016). Neuroepidemiology of traumatic brain injury. *Handb Clin Neurol*, 138, 207-223. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802973-2.00012-4>
- [2] Maas, A. I. R., Menon, D. K., Adelson, P. D., Andelic, N., Bell, M. J., Belli, A., et al. (2017). Traumatic brain injury: integrated approaches to improve prevention, clinical care, and research. *Lancet Neurol*, 16(12), 987-1048. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(17\)30371-X](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(17)30371-X)
- [3] Teasdale, G., & Jennett, B. (1974). Assessment of coma and impaired consciousness. A practical scale. *Lancet*, 2(7872), 81-84. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(74\)91639-0](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(74)91639-0)
- [4] Lozano, D., Gonzales-Portillo, G. S., Acosta, S., de la Pena, I., Tajiri, N., Kaneko, Y., & Borlongan, C. V. (2015). Neuroinflammatory responses to traumatic brain injury: etiology, clinical consequences, and therapeutic opportunities. *Neuropsychiatr Dis Treat*, 11, 97-106. <https://doi.org/10.2147/NDT.S65815>
- [5] Andrade, A. F., Paiva, W. S., Amorim, R. L., Figueiredo, E. G., Rusafa Neto, E., & Teixeira, M. J. (2009). [The pathophysiological mechanisms following traumatic brain injury]. *Rev Assoc Med Bras* (1992), 55(1), 75-81. <https://doi.org/10.1590/s0104-42302009000100020> (Mecanismos de lesao cerebral no traumatismo cranioencefalico.)
- [6] Carteri, RBK., Silva, RA. Incidência hospitalar de traumatismo cranioencefálico no Brasil: uma análise dos últimos 10 anos. *Revista Brasileira de Terapia Intensiva*, v. 33, p. 282-289, 2021.
- [7] Carroll, L. J., Cassidy, J. D., Holm, L., Kraus, J., Coronado, V. G., & Injury, W. H. O. C. C. T. F. o. M. T. B. (2004). Methodological issues and research recommendations for mild traumatic brain injury: the WHO Collaborating Centre Task Force on Mild Traumatic Brain Injury. *J Rehabil Med*(43 Suppl), 113-125. <https://doi.org/10.1080/16501960410023877>
- [8] Verboon, L. N., Patel, H. C., & Greenhalgh, A. D. (2021). The Immune System's Role in the Consequences of Mild Traumatic Brain Injury (Concussion). *Front Immunol*, 12, 620698. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.620698>
- [9] Van der Horn, H. J., Out, M. L., de Koning, M. E., Mayer, A. R., Spikman, J. M., Sommer, I. E., & Van der Naalt, J. (2020). An integrated perspective linking physiological and psychological consequences of mild traumatic brain injury. *J Neurol*, 267(9), 2497-2506. <https://doi.org/10.1007/s00415-019-09335-8>
- [10] Pearn, M. L., Niesman, I. R., Egawa, J., Sawada, A., Almenar-Queralt, A., Shah, S. B., Duckworth, J. L., & Head, B. P. (2017). Pathophysiology Associated with Traumatic Brain Injury: Current Treatments and Potential Novel Therapeutics. *Cell Mol Neurobiol*, 37(4), 571-585. <https://doi.org/10.1007/s10571-016-0400-1>

- [11] Sulhan, S., Lyon, K. A., Shapiro, L. A., & Huang, J. H. (2020). Neuroinflammation and blood-brain barrier disruption following traumatic brain injury: Pathophysiology and potential therapeutic targets. *J Neurosci Res*, 98(1), 19-28. <https://doi.org/10.1002/jnr.24331>
- [12] Bigler, E. D. (2008). Neuropsychology and clinical neuroscience of persistent postconcussive syndrome. *J Int Neuropsychol Soc*, 14(1), 1-22. <https://doi.org/10.1017/S135561770808017X>
- [13] Polinder, S., Cnossen, M. C., Real, R. G. L., Covic, A., Gorbunova, A., Voormolen, D. C., Master, C. L., Haagsma, J. A., Diaz-Arrastia, R., & von Steinbuechel, N. (2018). A 188 Multidimensional Approach to Post-concussion Symptoms in Mild Traumatic Brain Injury. *Front Neurol*, 9, 1113. <https://doi.org/10.3389/fneur.2018.01113>
- [14] Belmaker, R. H., & Agam, G. (2008). Mechanisms of disease: Major depressive disorder. *The New England Journal of Medicine*, 358(1), 55-68. <https://doi.org/10.1056/NEJMra073096>
- [15] Vaughn, Melonie N., et al. Developing Biomarkers of Mild Traumatic Brain Injury: Promise and Progress of CNS-Derived Exosomes. *Frontiers in neurology* 12 (2021).
- [16] Griffen, J. H., R. (2014). Cognitive and behavioral outcomes from traumatic brain injury. In M. S. Sherer, A. M. (Ed.), *Handbook on the Neuropsychology of Traumatic Brain Injury* (pp. 25-45). [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-0784-7\\_2](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-0784-7_2)
- [17] Lange, R. T., Lippa, S. M., French, L. M., Bailie, J. M., Gartner, R. L., Driscoll, A. E., Wright, M. M., et al. (2020). Long-term neurobehavioural symptom reporting following mild, moderate, severe, and penetrating traumatic brain injury in U.S. military service members. *Neuropsychol Rehabil*, 30(9), 1762-1785. <https://doi.org/10.1080/09602011.2019.1604385>
- [18] Stein, M. B., Jain, S., Giacino, J. T., Levin, H., Dikmen, S., Nelson, L. D., et al. (2019). Risk of Posttraumatic Stress Disorder and Major 190 Depression in Civilian Patients After Mild Traumatic Brain Injury: A TRACK-TBI Study. *JAMA Psychiatry*, 76(3), 249-258.
- [19] Barker-Collo, S., Theadom, A., Jones, K., Starkey, N., Kahan, M., & Feigin, V. (2018). Depression and anxiety across the first 4 years after mild traumatic brain injury: findings from a community-based study. *Brain Inj*, 32(13-14), 1651-1658. <https://doi.org/10.1080/02699052.2018.1540797>
- [20] TELES, Leandro. Transtorno de Ansiedade. 2015. Disponível em: <https://leandroteles.com.br/artigos-e-videos/> Último acesso em 22 de junho de 2022
- [21] Konkiewitz, E C, et. al. Tópicos de neurociência clínica. / Elisabete Castelon Konkiewitz, [organizadora]. – Dourados, MS : Editora da UFGD, 2010. 116p.ISBN 978-85-61228-65-1
- [22] Mocaiber, I. Neurobiologia da Regulação Emocional: implicações para a terapia cognitivo-comportamental. *Psicologia em Estudo, Maringá*, v. 13, n. 3, p. 531-538, jul./set. 2008

- [23] Papa, L., Edwards, D., Ramia, M. Firas H Kobeissy, editors. Exploring Serum Biomarkers for Mild Traumatic Brain Injury. In: Brain Neurotrauma: Molecular, Neuropsychological, and Rehabilitation Aspects. Boca Raton (FL): CRC Press/Taylor & Francis; 2015. Chapter 22. *Frontiers in Neuroengineering*.
- [24] Zetterberg, H., & Blennow, K. (2016). Fluid biomarkers for mild traumatic brain injury and related conditions. *Nat Rev Neurol*, 12(10), 563-574. <https://doi.org/10.1038/nrneurol.2016.127>
- [25] Gan, Z. S., Stein, S. C., Swanson, R., Guan, S., Garcia, L., Mehta, D., & Smith, D. H. (2019). Blood Biomarkers for Traumatic Brain Injury: A Quantitative Assessment of Diagnostic and Prognostic Accuracy. *Front Neurol*, 10, 446. <https://doi.org/10.3389/fneur.2019.00446>
- [26] Clarke, G. J. B., Skandsen, T., Zetterberg, H., Einarsen, C. E., Feyling, C., Follestad, T., Vik, A., Blennow, K., & Haberg, A. K. (2021). One-Year Prospective Study of Plasma Biomarkers From CNS in Patients With Mild Traumatic Brain Injury. *Front Neurol*, 12, 643743. <https://doi.org/10.3389/fneur.2021.643743>
- [27] Chaban, V., Clarke, G. J. B., Skandsen, T., Islam, R., Einarsen, C. E., Vik, A., Damas, J. K., Mollnes, T. E., Haberg, A. K., & Pischke, S. E. (2020). Systemic Inflammation Persists the First Year after Mild Traumatic Brain Injury: Results from the Prospective Trondheim Mild Traumatic Brain Injury Study. *J Neurotrauma*, 37(19), 2120-2130. <https://doi.org/10.1089/neu.2019.6963>
- [28] Vedantam, A., Brennan, J., Levin, H. S., McCarthy, J. J., Dash, P. K., Redell, J. B., Yamal, J. M., & Robertson, C. S. (2021). Early versus Late Profiles of Inflammatory Cytokines after Mild Traumatic Brain Injury and Their Association with Neuropsychological Outcomes. *J Neurotrauma*, 38(1), 53-62. <https://doi.org/10.1089/neu.2019.6979>
- [29] Van der Vlegel, M., Polinder, S., Mikolic, A., Kaplan, R., von Steinbuechel, N., Plass, A. M., Zeldovich, M., van Praag, D., Bockhop, F., Cunitz, K., Mueller, I., Haagsma, J. A., The Center-Tbi, P., & Investigators. (2021). The Association of PostConcussion and Post-Traumatic Stress Disorder Symptoms with Health-Related Quality of Life, Health Care Use and Return-to-Work after Mild Traumatic Brain Injury. *J Clin Med*, 10(11). <https://doi.org/10.3390/jcm10112473>
- [30] Zahniser, E., Nelson, L. D., Dikmen, S. S., Machamer, J. E., Stein, M. B., Yuh, E., Manley, G. T., Temkin, N. R., & Investigators, T.-T. (2019). The Temporal Relationship of Mental Health Problems and Functional Limitations following mTBI: A TRACKTBI and TED Study. *J Neurotrauma*, 36(11), 1786-1793. <https://doi.org/10.1089/neu.2018.6172>
- [31] Chu, S. Y., Tsai, Y. H., Xiao, S. H., Huang, S. J., & Yang, C. C. (2017). Quality of return to work in patients with mild traumatic brain injury: a prospective investigation of associations among post-concussion symptoms, neuropsychological functions, working status and stability. *Brain Inj*, 31(12), 1674-1682. <https://doi.org/10.1080/02699052.2017.1332783>

- [32] Graff, H. J., Siersma, V., Moller, A., Kragstrup, J., Andersen, L. L., Egerod, I., & Mala Rytter, H. (2019). Labour market attachment after mild traumatic brain injury: 184 nationwide cohort study with 5-year register follow-up in Denmark. *BMJ Open*, 9(4), e026104. <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2018-026104>
- [33] Iacono, D., Raiciulescu, S., Olsen, C., & Perl, D. P. (2021). Traumatic Brain Injury Exposure Lowers Age of Cognitive Decline in AD and Non-AD Conditions. *Front Neurol*, 12, 573401. <https://doi.org/10.3389/fneur.2021.573401>
- [34] Snowden, T. M., Hinde, A. K., Reid, H. M. O., & Christie, B. R. (2020). Does Mild Traumatic Brain Injury Increase the Risk for Dementia? A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Alzheimers Dis*, 78(2), 757-775. <https://doi.org/10.3233/JAD-200662>
- [35] Rohling, M. L., Binder, L. M., Demakis, G. J., Larrabee, G. J., Ploetz, D. M., & Langhinrichsen-Rohling, J. (2011). A meta-analysis of neuropsychological outcome after mild traumatic brain injury: re-analyses and reconsiderations of Binder et al. (1997), Frencham et al. (2005), and Pertab et al. (2009). *Clin Neuropsychol*, 25(4), 608-623. <https://doi.org/10.1080/13854046.2011.565076>
- [36] Barr, W. B. (2014). Mild traumatic brain injury. In M. S. A. M. Sander (Ed.), *Clinical handbooks in neuropsychology. Handbook on the neuropsychology of traumatic brain injury* (pp. 347–369). Springer Science + Business Media. [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-0784-7\\_18](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-0784-7_18)
- [37] Seabury, S. A., Gaudette, E., Goldman, D. P., Markowitz, A. J., Brooks, J., McCrea, M. A., et al. (2018). Assessment of Followup Care After Emergency Department Presentation for Mild Traumatic Brain Injury and Concussion: Results From the TRACK-TBI Study. *JAMA Netw Open*, 1(1), e180210. <https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2018.0210>
- [38] Faro, A. Confirmatory Factor Analysis and Standardization of the Hospital Anxiety and Depression Scale (HADS)/Análise Fatorial Confirmatória e Normalização da Hospital Anxiety and Depression Scale (HADS). *Psicologia: Teoria e Pesquisa*, vol. 31, no. 3, July-Sept. 2015, pp. 349+. Gale Academic OneFile, [link.gale.com/apps/doc/A535420586/AONE?u=anon~8631f264&sid=googleScholar&xid=5391e5c7](http://link.gale.com/apps/doc/A535420586/AONE?u=anon~8631f264&sid=googleScholar&xid=5391e5c7). Accessed 24 June 2022.
- [39] Van Rossum G, Drake Jr FL. *Manual de referência Python*. Centrum voor Wiskunde en Informatica Amsterdam; 1995.
- [40] Brownlee J., *Preparação de Dados para Aprendizado de Máquina: Limpeza de Dados, Seleção de Recursos e Transformações de Dados em Python, Masterização de Aprendizado de Máquina*, 2020.
- [41] Pedregosa F, Varoquaux, Gael, Gramfort A, Michel V, Thirion B, Grisel O, et al. Scikit-learn: Aprendizado de máquina em Python. *Jornal de pesquisa de aprendizado de máquina*. 2011;12(outubro):2825-30.

[42] McKinney W, et al. Estruturas de dados para computação estatística em python. Em: Anais da 9a Conferência Python in Science. 2010. p. 51–6.

[43] Seabold S, Perktold J. statsmodels: Modelagem econométrica e estatística com python. Em: 9a Conferência Python em Ciência. 2010.

[44] Spangler JB, Moraga I, Mendoza JL, Garcia KC. Insights into cytokine-receptor interactions from cytokine engineering. *Annu Rev Immunol.* (2015) 33:139–67. doi: 10.1146/annurev-immunol-032713-120211

[45] Lykouras L, Michopoulos J. Anxiety disorders and obesity. *Psychiatriki.* 2011;22:307–313. Bouayed J, Rammal H, Soulimani R. Oxidative stress and anxiety: relationship and cellular pathways. *Oxid Med Cell Longev.* 2009;2:63–67.

[46] Bouayed J, Rammal H, Soulimani R. Oxidative stress and anxiety: relationship and cellular pathways. *Oxid Med Cell Longev.* 2009 Apr-Jun;2(2):63-7.

[47] Pitsavos C, Panagiotakos DB, Papageorgiou C, Tsetsekou E, Soldatos C, Stefanadis C. Anxiety in relation to inflammation and coagulation markers, among healthy adults: the ATTICA study. *Atherosclerosis.* 2006;185:320–326.

[48] Maes M, Song C, Lin A, De Jongh R, Van Gastel A, Kenis G, Bosmans E, De Meester I, Benoy I, Neels H, Demedts P, Janca A, Scharpé S, Smith RS. The effects of psychological stress on humans: increased production of pro-inflammatory cytokines and a Th1-like response in stress-induced anxiety. *Cytokine.* 1998;10:313–318

[49] Vogelzangs N, Beekman AT, de Jonge P, Penninx BW. Anxiety disorders and inflammation in a large adult cohort. *Transl Psychiatry.* 2013;3:e249.

[50] Dantzer R, Kelley KW. Twenty years of research on cytokine-induced sickness behavior. *Brain Behav Immun.* 2007;21:153–160.

[51] Felger JC, Lotrich FE. Inflammatory cytokines in depression: Neurobiological mechanisms and therapeutic implications. *Neuroscience.* 2013;246:199–229.

[52] Yirmiya, R.; Goshem, I.. Immune modulation of learning, memory, neural plasticity and neurogenesis. *Brain, Behaviour, and Immunity*, v. 25, p. 181-213, 2011.

[53] Gosselin D, Rivest S. Role of IL-1 and TNF in the brain: Twenty years of progress on a Dr. Jekyll/Mr. Hyde duality of the innate immune system. *Brain Behav Immun.* 2007;21:281–289.

[54] McAfoose, J., Baune, BT. Evidence for a cytokine model of cognitive function. *Neurosci Biobehav Rev.* 2009 Mar;33(3):355-66. doi: 10.1016/j.neubiorev.2008.10.005.

- [55] Wang, C.X. & Shuaib, A. Involvement of inflammatory cytokines in central nervous system injury. *Prog. Neurobiol.* 67, 161-172. July 2002. *Progress in Neurobiology* 67(2):161-72. DOI:10.1016/S0301-0082(02)00010-2.
- [56] Rossi, S., Sacchetti, L., Napolitano, F., De Chiara, V., Motta, C., Studer, V., Musella, A. Interleukin-1 $\beta$  causes anxiety by interacting with the endocannabinoid system. PMID: 23035099. PMCID: PMC6704788. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.1515-12.2012.
- [57] Opal S, DePalo V. Anti-inflammatory cytokines. *Chest.* 2000;117:1162–1172.
- [58] Dinarello CA. Proinflammatory cytokines. *Chest.* 2000;118:503–508.
- [59] Gray, NA., Naude, PJ., Esterhuizen, TM., Khumalo, NP., Stein., DJ. 2020 Interleukin-4 and Anxiety in Adults with Atopic Dermatitis Running title: IL-4 and Anxiety in Adults with Atopic Dermatitis Authors: N.A. 2020 Oct;32(5):271-273. doi: 10.1017/neu.2020.23. Epub 2020 May 11.
- [60] Ernberg, M., et al. "Plasma cytokine levels in fibromyalgia and their response to 15 weeks of progressive resistance exercise or relaxation therapy." *Mediators of inflammation* 2018 (2018).
- [61] Turner JA, Padgett C, McDonald S, Ahuja KDK, Francis HM, Lim CK, Honan CA. Innate immunity impacts social-cognitive functioning in people with multiple sclerosis and healthy individuals: Implications for IL-1ra and urinary immune markers. *Brain Behav Immun Health.* 2021 Apr 14;14:100254. doi: 10.1016/j.bbih.2021.100254. PMID: 34589763; PMCID: PMC8474509.
- [62] Flower, DR.. The lipocalin protein family: structure and function. *The Biochemical Journal*, London, v. 318, pt. 1, p. 1-14, 1996.
- [63] Flower DR. North AC, Sansom CE. The lipocalin protein family: structural and sequence overview. *Biochim Biophys Acta.* 2000 Oct 18;1482(1-2):9-24. doi:10.1016/s0167-4838(00)00148-5. PMID: 11058743.
- [64] Kjeldsen,L., Cowland, JB., Borregaard, N. Human neutrophil gelatinase-associated lipocalin and homologous proteins in rat and mouse. *Biochim. Biophys. Acta*, 1482 (2000), pp. 272-283
- [65] Flo, T.H. et al. Lipocalin 2 mediates a novel innate immune response to bacterial infection by sequestering iron. *Nature*, 432 (2004), pp. 917-921.
- [66] Jaber SA, Cohen A, D'Souza C, Abdulrazzaq YM, Ojha S, Bastaki S, Adeghate EA. Lipocalin-2: Structure, function, distribution and role in metabolic disorders. *Biomed Pharmacother.* 2021 Oct;142:112002. doi: 10.1016/j.biopha.2021.112002. Epub 2021 Aug 27. PMID: 34463264.

- [67] Marques, F., Rodrigues, A. J., Sousa, J. C., Coppola, G., Geschwind, D. H., Sousa, N., et al. (2008). Lipocalin 2 is a choroid plexus acute-phase protein. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 28, 450–455. doi: 10.1038/sj.jcbfm.9600557
- [68] Berard, JL. et al. Lipocalin 2 is a novel immune mediator of experimental autoimmune encephalomyelitis pathogenesis and is modulated in multiple sclerosis *Glia.* (2012)
- [69] Olson B, Zhu X, Norgard MA, Levasseur PR, Butler JT, Buenafe A, Burfeind KG, Michaelis KA, Pelz KR, Mendez H, Edwards J, Krasnow SM, Grossberg AJ, Marks DL. Lipocalin 2 mediates appetite suppression during pancreatic cancer cachexia. *Nat Commun.* 2021 Apr 6;12(1):2057. doi: 10.1038/s41467-021-22361-3. PMID: 33824339; PMCID: PMC8024334.
- [70] Mucha M, Skrzypiec AE, Schiavon E, Attwood BK, Kucerova E, Pawlak R. Lipocalin-2 controls neuronal excitability and anxiety by regulating dendritic spine formation and maturation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2011 Nov 8;108(45):18436-41. doi: 10.1073/pnas.1107936108. Epub 2011 Oct 3. PMID: 21969573; PMCID: PMC3215032.
- [71] Skrzypiec, AE., et al. Stress-Induced Lipocalin-2 Controls Dendritic Spine Formation and Neuronal Activity in the Amygdala. Published: April 9, 2013.
- [72] Chen YH, Xie SY, Chen CW, Lu DY. Electroacupuncture improves repeated social defeat stress-elicited social avoidance and anxiety-like behaviors by reducing Lipocalin-2 in the hippocampus. *Mol Brain.* 2021 Sep 26;14(1):150. doi: 10.1186/s13041-021-00860-0. PMID: 34565419; PMCID: PMC8474847.
- [73] IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/7901>. Acesso em: 14 de junho, 2022.
- [74] Singh S, Anshita D, Ravichandiran V. MCP-1: Function, regulation, and involvement in disease. *Int Immunopharmacol.* 2021 Dec;101(Pt B):107598. doi: 10.1016/j.intimp.2021.107598. Epub 2021 May 20. PMID: 34233864; PMCID: PMC8135227.
- [75] Oh, DJ, et al. Association Between Plasma Monocyte Trafficking-Related Molecules and Future Risk of Depression in Older Adults." *The Journals of Gerontology. Series A, Biological Sciences and Medical Sciences* (2021): *The Journals of Gerontology. Series A, Biological Sciences and Medical Sciences*, 2021-07-06. Web.
- [76] Pae, CU., 2014. The potential role of monocyte chemoattractant protein-1 for major depressive disorder. *Psychiatry Investig* 11(3), 217–222. doi: 10.4306/pi.2014.11.3.217. CrossRefGoogle Scholar.