**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**
**Faculdade de Medicina**
**Programa de Pós-Graduação em Medicina Molecular**

Nathália Gualberto Souza e Silva

# ANÁLISE LONGITUDINAL DE PERFIL INFLAMATÓRIO E COMPROMETIMENTO COGNITIVO EM INDIVÍDUOS COM COVID-19 LEVE A MODERADO

Belo Horizonte
2024

Nathália Gualberto Souza e Silva

# ANÁLISE LONGITUDINAL DE PERFIL INFLAMATÓRIO E COMPROMETIMENTO COGNITIVO EM INDIVÍDUOS COM COVID-19 LEVE A MODERADO

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Molecular da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial à obtenção do título de Doutora em Medicina Molecular.

Orientador: Prof. Dr. Marco Aurélio Romano-Silva

Coorientadora: Profa. Dra. Débora Marques Miranda

Belo Horizonte
2024

Silva, Nathália Gualberto Souza e.
SI586a Análise longitudinal de Perfil Inflamatório e Comprometimento Cognitivo em indivíduos com COVID-19 leve a moderado [recurso eletrônico]. / Nathália Gualberto Souza e Silva. - - Belo Horizonte: 2024.
127f.: il.
Formato: PDF.
Requisitos do Sistema: Adobe Digital Editions.

Orientador (a): Marco Aurélio Romano-Silva.
Coorientador (a): Débora Marques Miranda.
Área de concentração: Medicina Molecular.
Tese (doutorado): Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina.

1. COVID-19. 2. Citocinas. 3. Disfunção Cognitiva. 4. Doenças Neuroinflamatórias. 5. Neuroproteção. 6. Dissertação Acadêmica. I. Romano-Silva, Marco Aurélio. II. Miranda, Débora Marques. III. Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina. IV. Título.

NLM: WC 506.6

Bibliotecário responsável: Fabian Rodrigo dos Santos CRB-6/2697

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA MOLECULAR

**ATA DE DEFESA DE TESE**

Realizou-se, no dia 11 de julho de 2024, às 09:00 horas, Online, Plataforma RNP -https://conferenciaweb.rnp.br/sala/nathalia-gualberto, da Universidade Federal de Minas Gerais, a defesa de tese intitulada "**Análise Longitudinal de Perfil Inflamatório e Comprometimento Cognitivo em Indivíduos com COVID-19 Leve a Moderado"**, apresentada por **NATHÁLIA GUALBERTO SOUZA E SILVA**, número de registro 2020711847, graduada no Curso de BIOMEDICINA, como requisito parcial para obtenção do grau Doutor em MEDICINA MOLECULAR, à seguinte Comissão Examinadora : Prof. Marco Aurélio Roma -Orientador(UFMG) ,Prof. Bernardo de Mattos Viana (UFMG), Prof. Jonas Jardim de Paula (UFMG), Prof. Roney Santos Coimbra (Fundação Oswaldo Cruz- René Rachou), Prof. André Luiz de Carvalho Braule Pinto (SES-AM) e Profa. Débora Marques de Miranda (UFMG) . Seguiu-se a arguição pelos examinadores e logo após, a Comissão reuniu-se, sem a presença do candidato e do público e decidiu considerar aprovada a Tese de Doutorado. O resultado final foi comunicado publicamente ao candidato pelo presidente da Comissão. Nada mais havendo a tratar, o presidente encerrou a sessão e lavrou a presente ata que, depois de lida, se aprovada, será assinada pela Comissão Examinadora.

Belo Horizonte, 11 de julho e 2024

Assinatura dos membros da banca examinadora:

---

Documento assinado eletronicamente por **Bernardo de Mattos Viana**, **Professor do Magistério Superior**, em 25/07/2024, às 09:35, 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 **Jonas Jardim de Paula**, **Servidor(a)**, em 29/07/2024, às 11:40, 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 **Marco Aurelio Romano Silva**, **Professor do Magistério Superior**, em 09/08/2024, às 12:31, 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 **Debora Marques de Miranda**, **Professora do Magistério Superior**, em 09/08/2024, às 15:26, 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 **André Luiz de Carvalho Braule Pinto**, **Usuário Externo**, em 03/09/2024, às 11:20, 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 **Roney Santos Coimbra**, **Usuário Externo**, em 05/09/2024, às 08:33, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.

A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **3357554** e o código CRC **F200350C**.

**Referência:** Processo nº 23072.236716/2024-81 SEI nº 3357554

## RESUMO

A síndrome pós-COVID manifesta-se como uma condição pós-infecção por SARS-CoV-2, caracterizada por sintomas persistentes e multifacetados que afetam pacientes independentemente da severidade inicial da infecção. Neste estudo de coorte observacional prospectivo de trinta meses, avaliamos os sintomas cognitivos de longo prazo das condições pós-COVID em indivíduos com casos leves de COVID-19 e examinamos os níveis de citocinas como um potencial biomarcador para neuroinflamação. A análise incluiu 216 participantes com uma média de 17 anos de escolaridade, sendo que 82,88% mantiveram desempenho cognitivo normal, enquanto 17,12% apresentaram comprometimento cognitivo persistente. Citocinas como IL-1 alpha, IP-10 (CXCL10) e NGF beta foram associadas a um aumento na chance de comprometimento cognitivo, enquanto IL-6, IL-21, VEGFD e PIGF-1 foram associadas a uma redução na chance de comprometimento. A análise de rede mostrou interações complexas entre essas citocinas, sugerindo um papel dual em suas funções inflamatórias e anti-inflamatórias. Os achados são consistentes com estudos anteriores que identificam a COVID-19 como um fator potencial de declínio cognitivo, mesmo em casos leves. A correlação positiva entre IL-6 e IL-1 alpha reforça a hipótese de um ciclo inflamatório amplificado. A análise de rede revela interações entre citocinas que podem atuar tanto como pró-inflamatórias quanto anti-inflamatórias, dependendo do contexto e da maturidade do sistema imunológico. A persistência de citocinas pró-inflamatórias pode estar associada ao comprometimento cognitivo em pacientes pós-COVID-19. A análise detalhada das interações sugere a necessidade de abordagens terapêuticas que modulam a resposta inflamatória para prevenir ou mitigar o comprometimento cognitivo. A pesquisa destaca a importância de um acompanhamento contínuo e multidimensional para entender completamente as ramificações neurocognitivas da COVID-19 e orientar futuras intervenções terapêuticas.



Palavras-chave: COVID-19; citocinas; disfunção cognitiva; doenças neuroinflamatórias; neuroproteção.

## ABSTRACT

Post-COVID syndrome manifests as a post-infection condition by SARS-CoV-2, characterized by persistent and multifaceted symptoms affecting patients regardless of the initial severity of the infection. In this thirty-month prospective observational cohort study, we evaluated the long-term cognitive symptoms of post-COVID conditions in individuals with mild COVID-19 cases and examined cytokine levels as potential biomarkers for neuroinflammation. The analysis included 216 participants with an average of 17 years of schooling, of which 82.88% maintained normal cognitive performance, while 17.12% showed persistent cognitive impairment. Cytokines such as IL-1 alpha, IP-10 (CXCL10), and NGF beta were associated with an increased chance of cognitive impairment, while IL-6, IL-21, VEGFD, and PIGF-1 were associated with a reduced chance of impairment. Network analysis revealed complex interactions among these cytokines, suggesting a dual role in their inflammatory and anti-inflammatory functions. The findings are consistent with previous studies identifying COVID-19 as a potential factor for cognitive decline, even in mild cases. The positive correlation between IL-6 and IL-1 alpha reinforces the hypothesis of an amplified inflammatory cycle. Network analysis reveals interactions among cytokines that can act as both pro-inflammatory and anti-inflammatory, depending on the context and maturity of the immune system. The persistence of pro-inflammatory cytokines may be associated with cognitive impairment in post-COVID-19 patients. Detailed analysis of interactions suggests the need for therapeutic approaches that modulate the inflammatory response to prevent or mitigate cognitive impairment. The research highlights the importance of continuous and multidimensional monitoring to fully understand the neurocognitive ramifications of COVID-19 and guide future therapeutic interventions.



Keywords: COVID-19; cytokines; cognitive dysfunction; neuroinflammatory diseases; neuroprotection.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 01. Estrutura esquemática do SARS-CoV-2..... 17
Figura 02. Desenho esquemático da entrada do SARS-CoV-2 mediada pela ECA2 e TMPRSS2 na célula..... 19
Figura 03. Fluxograma desenho do estudo.....30
Figura 04. Estímulo original da Figura Complexa de Rey-Osterrieth.....32
Figura 05. Exemplos de cópias alteradas da Figura Complexa de Rey obtidas no estudo De Paula et al. (2023).....33
Figura 06. Gráficos de média e desvio padrão das citocinas ao longo do tempo.....62
Figura 07. Gráficos de média e desvio padrão das citocinas ao longo do tempo.....63
Figura 08. Gráficos de média e desvio padrão das citocinas ao longo do tempo.....64
Figura 09. Quimiocinas com valores de p significativos no teste de Tukey na análise entre gênero e citocinas..... 68
Figura 10. Quimiocinas com valores de p significativos no teste de Tukey na análise de faixa etária e citocinas.....73
Figura 11. Quimiocinas com valores de p significativos no teste de Tukey na análise de faixa etária e citocinas.....74
Figura 12. Citocinas com valores de p significativos na análise pareada entre T0 e T1..... 79
Figura 13. Citocinas com valores de p significativos na análise pareada entre T0 e T1..... 80
Figura 14. Citocinas com valores de p significativos na análise pareada entre T0 e T2..... 84
Figura 15. Citocinas com valores de p significativos na análise pareada entre T0 e T4..... 88
Figura 16. Citocinas com valores de p significativos na análise pareada entre T0 e T4..... 89
Figura 17. Citocinas com valores de p significativos na análise pareada entre T0 e T4..... 90
Figura 18. Análise de rede das interações entre mediadores inflamatórios significativos no modelo de regressão logística..... 94

## LISTA DE TABELAS

Tabela 01. Painel de citocinas estudadas divididas por grupos..... 35
Tabela 02. Descrição dos resultados dos questionários online.....40
Tabela 03. Interleucinas (pg/mL) pró-inflamatórias e anti-inflamatórias ao longo do tempo.....43
Tabela 04. Quimiocinas (pg/mL) ao longo do tempo.....51
Tabela 05. Fatores de crescimento (pg/mL) ao longo do tempo..... 54
Tabela 06. Fator estimulante de colônias (pg/mL) ao longo do tempo.....59
Tabela 07. Interferons (pg/mL) ao longo do tempo..... 60
Tabela 08. Fatores de necrose (pg/mL) ao longo do tempo.....61
Tabela 09. Valores de p obtidos na análise two-way ANOVA na relação gênero e citocinas ao longo do tempo.....66
Tabela 10. Divisão de grupos de acordo com a faixa etária.....69
Tabela 11. Valores de p obtidos na análise two-way ANOVA na relação idade e citocinas ao longo do tempo.....70
Tabela 12. Análise de comparação dos níveis de citocinas entre os indivíduos que tiveram mudança no status cognitivo no tempo T0 e T1.....76
Tabela 13. Análise de comparação dos níveis de citocinas entre os indivíduos que tiveram mudança no status cognitivo no tempo T0 e T2.....81
Tabela 14. Análise de comparação dos níveis de citocinas entre os indivíduos que tiveram mudança no status cognitivo no tempo T0 e T4.....85
Tabela 15. Modelo de regressão logística das variáveis de perfil inflamatório sobre o desempenho cognitivo.....93

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BDNF: Brain-Derived Neurotrophic Factor
BHE: Barreira hematoencefálica
BRA: Bloqueador do Receptor de Angiotensina
CEP: Comitê de Ética em Pesquisa
COVID-19: Doença do Coronavírus 2019
CoVs: Coronavírus
CTMM: Centro de Tecnologia em Medicina Molecular
DA : Doença de Alzheimer
DAC: Doença arterial coronariana
DNDs: Doenças neurodegenerativas
DPOC: Doença pulmonar obstrutiva crônica
ECA2: Enzima conversora de angiotensina 2
EDTA: Ácido Etilenodiaminotetracético
EGF: Epidermal Growth Factor
EM/SFC: Encefalomielite miálgica/Síndrome da fadiga crônica
ESPII: Emergência de Saúde Pública de Importância Internacional
FGF-2: Fibroblast Growth Factor-2
FM-UFMG: Faculdade de Medicina da UFMG
GM-CSF: Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor (Fator estimulador de colônias de granulócitos e macrófagos)
GRO alpha (CXCL1): Growth-regulated oncogene alpha
HGF: Hepatocyte Growth Factor
HMOB: Hospital Municipal Odilon Behrens
HRTN: Hospital Risoleta Tolentino Neves
ICTV: International Committee on Taxonomy of Viruses
IECA: Inibidor da Enzima Conversor de Angiotensina
IFN: Interferon
IL: Interleucina
ILCs: Innate lymphoid cells
IMC: Índice de massa muscular
IP-10 (CXCL10): Interferon gamma-induced protein 10kDa
LCR: Líquido cefalorraquidiano

LGPD: Lei Geral de Proteção de Dados Pessoais
LIF: Leukemia Inhibitory Factor
MCP-1 (CCL2): Monocyte Chemoattractant Protein-1
MERS: Síndrome Respiratória do Oriente Médio
MHC: Complexo Maior de Histocompatibilidade
MIP-1 alpha: Macrophage Inflammatory Protein-1 alpha
nCoV: Novo Coronavírus
NGF beta: Nerve Growth Factor beta
NK: natural Killer
NUPAD: Núcleo de Ações e Pesquisa em Apoio Diagnóstico
OMS: Organização Mundial de Saúde
PAMPs: Padrões Moleculares Associados ao Patógeno Viral
PD: Programmed cell death protein 1
PDGF-BB: Platelet-Derived Growth Factor-BB
PET-CT: Tomografia Computadorizada por Emissão de Pósitrons
PlGF-1: Placental Growth Factor-1
PRRs: Receptores de Reconhecimento de Padrões
RANTES (CCL5): Regulated upon Activation, Normal T Cell Expressed and Secreted (quimiocina ligante do receptor de quimiocina C-C 5)
REDCap: Research Electronic Data Capture RIG-I: gene I induzido pelo ácido retinoico
RLRs: Receptores Semelhantes ao RIG-I (gene I induzido pelo ácido retinoico)
RNA: Ácido Ribonucléico
RT-PCR: Reação em Cadeia da Polimerase com Transcrição Reversa
SARS: Síndrome Respiratória Aguda Grave
SARS-CoV-2: Síndrome Respiratória Aguda Grave 2
SARSr-CoV: Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus
SCF: Stem Cell Factor
SDF-1 alpha: Stromal Cell-Derived Factor 1 alpha
SDRA: Síndrome do Desconforto Respiratório Agudo
SES-MG: Secretaria Estadual de Saúde de Minas Gerais
SNC: Sistema Nervoso Central
T CD4+: Células T auxiliares
T CD8+: Células T citotóxicas

TCLE: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TLRs: Receptores tipo Toll

TMPRSS2: Protease Serina Transmembrana tipo 2

TNF: Fator de Necrose Tumoral

Treg: Células T reguladoras

UFMG: Universidade Federal de Minas Gerais

VEGF-A: Vascular Endothelial Growth Factor A

VEGF-D: Vascular Endothelial Growth Factor D

β-CoV: Betacoronavírus

**SUMÁRIO**

**1. INTRODUÇÃO..... 14**
**2. REVISÃO DA LITERATURA..... 15**
2.1. COVID-19..... 15
2.2. Fisiopatologia da COVID-19..... 17
2.3. Resposta imunológica na COVID-19..... 20
2.3.1. Resposta imune inata..... 21
2.3.2. Resposta imune adaptativa..... 22
2.4. Neuroinflamação..... 23
2.5. Condições pós-COVID..... 25
**3. JUSTIFICATIVA..... 26**
**4. OBJETIVOS..... 27**
4.1. Geral..... 27
4.2. Específicos..... 27
**5. MATERIAIS E MÉTODOS..... 28**
5.1. Desenho do estudo..... 28
5.2. Seleção de participantes..... 28
5.3. Classificação dos participantes por grupos clínicos..... 31
5.4. Coleta e processamento do sangue periférico..... 33
5.5. Determinação dos níveis de citocinas com Luminex xMap..... 34
5.6. Análise estatística..... 37
**6. RESULTADOS..... 37**
6.1. Caracterização da amostra..... 37
6.1.1. Saúde mental e queixas cognitivas subjetivas..... 38
6.2. Classificação dos grupos..... 41
6.3. Análise descritiva das citocinas..... 42
6.4. Relação gênero versus citocinas ao longo do tempo..... 65
6.5. Relação idade versus citocinas ao longo do tempo..... 68
6.6. Análise pareada..... 75
6.6.1. Entrada (T0) versus Retorno 06 meses (T1)..... 75
6.6.2. Entrada (T0) versus Retorno de 12 meses (T2)..... 81
6.6.3. Entrada (T0) versus Retorno de 24 meses (T4)..... 85
6.7. Predição entre o perfil de citocinas e o desfecho desempenho cognitivo..... 91
**7. DISCUSSÃO..... 94**
**8. CONCLUSÃO..... 103**
**REFERÊNCIAS..... 105**
**ANEXOS..... 119**

# 1. INTRODUÇÃO

As pandemias são conhecidas como epidemias globais que resultam em um número significativo de doenças e mortes em todo o mundo, causando perturbações na situação socioeconômica dos países afetados. Como resultado da globalização, das mudanças nos estilos de vida e do progresso social e econômico, ocorre o surgimento de novas infecções e a aceleração da ocorrência e circulação de novos agentes microbianos (Baker et al., 2022). Além disso, a globalização facilitou o compartilhamento de informações e experiências no combate a esses desafios globais de saúde (Akin & Gözel, 2020).

Muitas pandemias ocorreram ao longo da história da humanidade. As pandemias de peste negra, cólera e gripe espanhola foram as mais duradouras, recorrentes e causaram um grande número de mortes (Potter, 2001). Examinando pandemias históricas, observamos que eventos como a peste negra e a gripe espanhola não foram apenas catástrofes de saúde, mas também pontos de inflexão que remodelaram a organização social e a infraestrutura de saúde pública (O'Donnell et al., 2020). Esses eventos passados lançaram as bases para os sistemas de vigilância e resposta a doenças que foram cruciais no combate à COVID-19.

Ao longo das últimas duas décadas, os coronavírus (CoVs) têm sido associados a surtos significativos de doenças no leste da Ásia e no Oriente Médio. A síndrome respiratória aguda grave (SARS) e a síndrome respiratória do Oriente Médio (MERS) começaram a surgir em 2002 e 2012, respectivamente. No final de 2019, surgiu um novo coronavírus (nCoV), chamado coronavírus da síndrome respiratória aguda grave 2 (SARS-CoV-2), causador da doença do coronavírus 2019 (COVID-19). Este novo vírus se tornou uma ameaça global à saúde, desencadeando uma pandemia (Dhama et al., 2020).

A COVID-19 teve um impacto significativo na sociedade, afetando diversos aspectos, como as redes de serviços de saúde, a economia, a educação, as relações sociais e a saúde mental. Em termos de saúde mental, a pandemia de COVID-19 resultou em um aumento substancial nos casos de depressão e ansiedade, agravados pelo isolamento social e incerteza econômica (Pires Brito et al., 2020). No âmbito econômico, a crise acelerou o desemprego e a recessão global, embora também tenha estimulado a inovação, como o aumento do *home*

*office* e do comércio eletrônico (Naseer et al., 2022). Essa pandemia trouxe consigo uma série de desafios e mudanças que ainda estamos enfrentando. No entanto, apesar dos desafios, a pandemia também trouxe desfechos positivos. A rápida resposta científica permitiu o desenvolvimento de vacinas eficazes em tempo recorde. A colaboração global entre cientistas, governos e organizações levou a avanços significativos no conhecimento sobre o vírus e nas estratégias de combate à pandemia.

Enquanto muitos desses impactos são visíveis e amplamente discutidos, este trabalho busca explorar uma consequência menos óbvia, mas igualmente importante da COVID-19: os efeitos prolongados e persistentes da doença, particularmente o comprometimento cognitivo. Investigaremos a possível relação dessa condição com o perfil imunológico de indivíduos que se recuperaram da infecção leve a moderada, acompanhados por um período de trinta meses.

## 2. REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1. COVID-19

Em dezembro de 2019, um surto de pneumonia de etiologia desconhecida foi registrado na cidade de Wuhan, província de Hubei, China. No início de janeiro de 2020, as autoridades chinesas confirmaram a identificação de um novo tipo de coronavírus. Até ao final do mês, um total de 1.975 casos foram confirmados como infectados com o nCoV na China continental, resultando em 56 mortes (W. Wang et al., 2020).

Em 30 de janeiro de 2020, a Organização Mundial de Saúde (OMS) declarou o surto do novo coronavírus como uma Emergência de Saúde Pública de Importância Internacional (ESPII). Em 11 de março de 2020, a COVID-19 foi caracterizada pela OMS como uma pandemia. O novo coronavírus se espalhou rapidamente por diversos países e, até junho de 2023, foram confirmados 767.518.723 casos de COVID-19, incluindo 6.947.192 mortes, conforme relatório da OMS (OMS, 2023). No Brasil, até junho de 2023, foram registrados 37.671.420 casos e 703.964 mortes (Ministério da Saúde, 2023).

Com base no amplo número de indivíduos infectados que tiveram contato com o mercado de animais vivos em Wuhan, onde ocorre a venda rotineira de

animais, sugere-se que essa seja a provável origem zoonótica da COVID-19. A análise do sequenciamento genômico do vírus revelou uma semelhança de 88% com dois coronavírus encontrados em morcegos, semelhantes ao coronavírus da síndrome respiratória aguda grave (SARS), o que indica que os mamíferos são o elo mais provável entre o SARS-CoV-2 e os seres humanos (Lu et al., 2020; Rothan & Byrareddy, 2020). A transmissão de pessoa para pessoa ocorre principalmente por contato direto ou por gotículas espalhadas pela tosse ou espirro de um indivíduo infectado (Shi et al., 2020).

Os principais sintomas iniciais do COVID-19 incluem febre, tosse seca, dor muscular, dispnéia, fadiga e perda de paladar ou olfato. Alguns pacientes apresentaram sintomas atípicos, como diarreia e vômitos. Os sintomas podem variar de leves a graves, e algumas pessoas podem ser assintomáticas. Além dos sintomas respiratórios, a COVID-19 também pode afetar outros órgãos, como o coração, os rins e o sistema nervoso (Huang et al., 2020).

A gravidade da doença varia amplamente. A maioria dos casos é leve a moderada, com recuperação completa em algumas semanas. No entanto, em alguns casos, a COVID-19 pode progredir para uma forma grave, com complicações respiratórias, pneumonia e insuficiência respiratória aguda. Pessoas idosas e aquelas com condições médicas subjacentes, como doenças cardíacas, diabetes e doenças pulmonares crônicas, correm maior risco de desenvolver complicações graves (Ochani et al., 2021). A COVID-19 tem sido frequentemente relacionada a sintomas mentais e neurológicos, que podem incluir delírio ou encefalopatia, agitação, acidente vascular cerebral, meningoencefalite, ansiedade, depressão e distúrbios do sono (Mao et al., 2020). É importante observar que essas manifestações neurológicas foram relatadas em alguns casos, mesmo em pacientes que não apresentavam sintomas respiratórios (Johansson et al., 2021).

O manejo dos pacientes com COVID-19 é baseado nos sintomas e na gravidade da doença. Os cuidados de suporte, como a administração de analgésicos, antitérmicos e hidratação adequada, são fundamentais. Em casos graves, podem ser necessários suporte ventilatório e terapias específicas, como o uso de corticosteróides, agentes antivirais e terapias direcionadas para prevenção de complicações (Yuan et al., 2023).

## 2.2. Fisiopatologia da COVID-19

Os coronavírus são vírus envelopados com aproximadamente 80 a 220 nm de diâmetro que contém um genoma de RNA de fita simples cercado por uma membrana extracelular contendo um invólucro de glicoproteínas, denominadas spikes (proteína S) (Bosch et al., 2003). Quatro proteínas estruturais principais compõem o SARS-CoV-2, a saber, as proteínas *spike* (S), de membrana (M), envelope (E) e nucleocapsídeo (N) (Figura 01). O SARS-CoV-2 possui um diâmetro que varia de 60 nm a 140 nm e apresenta espículas características, que variam de 9 nm a 12 nm. Essas espículas conferem às partículas virais a aparência de uma coroa solar (Goldsmith et al., 2004).

Com base na filogenia e taxonomia, o SARS-CoV-2 foi classificado pelo *International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV)* como um vírus da espécie *Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus (SARSr-CoV)*, pertencente ao gênero *Betacoronavirus*, subfamília *Coronavirinae*, família *Coronaviridae*, ordem *Nidovirales*, reino *Riboviria (Coronaviridae Study Group of the International Committee on Taxonomy of Viruses, 2020)*.

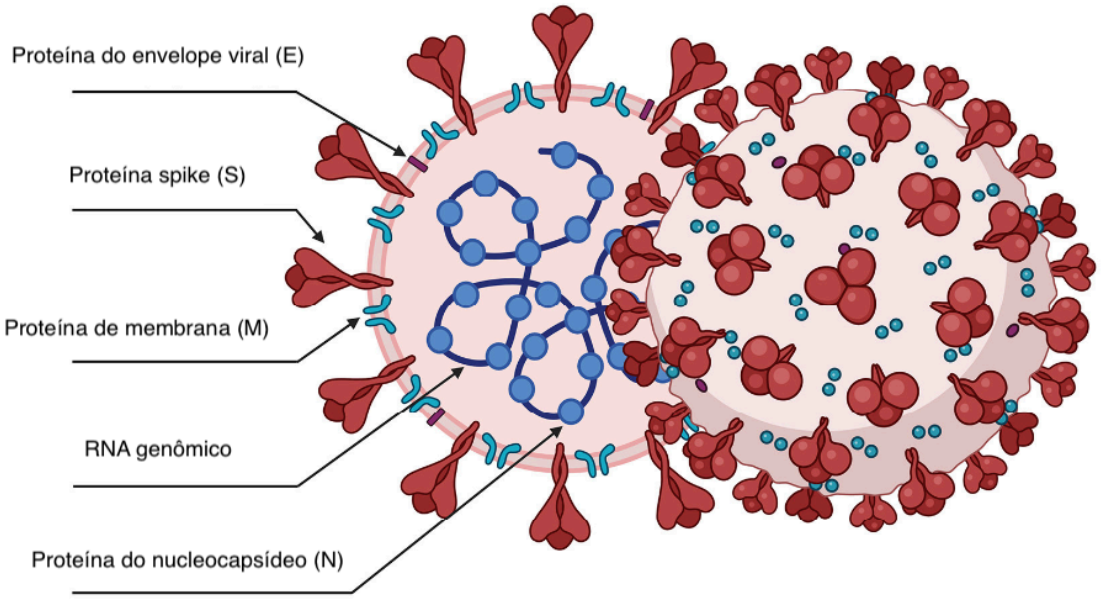


**Figura 01.** Estrutura esquemática do SARS-CoV-2.
Fonte: Adaptado de Pizzato et al., 2022.

No início da infecção, o SARS-CoV-2 atinge células, como células epiteliais nasais, brônquicas e pneumócitos, por meio da proteína viral estrutural *spike* (S) que se liga ao receptor da enzima conversora de angiotensina 2 (ECA2) (Figura 02). A ECA2 é uma carboxipeptidase transmembrana, com homologia à ECA, presente em diversas células do corpo humano, especialmente nas células epiteliais dos pulmões, rins, intestinos e outros tecidos (Gheware et al., 2022). Durante a interação virus-célula hospedeira, a protease serina transmembrana tipo 2 (TMPRSS2), presente na célula hospedeira, promove a fusão da membrana por meio da proteólise da proteína viral S nas subunidades S1 e S2, permitindo a entrada do vírus no citosol (Hoffmann et al., 2020).

Nas fases posteriores da infecção, quando a replicação viral se acelera, a integridade da barreira epitelial-endotelial é comprometida. Além das células epiteliais, o SARS-CoV-2 infecta as células endoteliais dos capilares pulmonares, acentuando a resposta inflamatória e desencadeando um influxo de monócitos e neutrófilos. Estudos de autópsia revelaram um espessamento difuso da parede alveolar com a presença de células mononucleares e macrófagos infiltrando os espaços aéreos, juntamente com a presença de endotelite (Xu et al., 2020).

Após a fusão com a membrana, o vírus entra nas células epiteliais e o conteúdo viral é liberado internamente. Dentro da célula hospedeira, o vírus passa por replicação e formação de uma fita de RNA negativa a partir do RNA de fita positiva pré-existente por meio da atividade da RNA polimerase (transcrição). Essa nova fita de RNA negativa é responsável por produzir novas fitas de RNA positivas, que, por sua vez, são usadas para sintetizar novas proteínas no citoplasma celular (tradução). A proteína viral N se liga ao novo RNA genômico e a proteína M facilita a integração com o retículo endoplasmático celular. Esses novos nucleocapsídeos são então envoltos pela membrana do retículo endoplasmático e transportados para o lúmen, de onde são levados por meio de vesículas do complexo de Golgi até a membrana celular e, por fim, liberados para o espaço extracelular por exocitose. As novas partículas virais estão agora prontas para invadir as células epiteliais adjacentes e também para fornecer material infeccioso para a transmissão comunitária por meio de gotículas respiratórias (Lai & Cavanagh, 1997; Parasher, 2021).

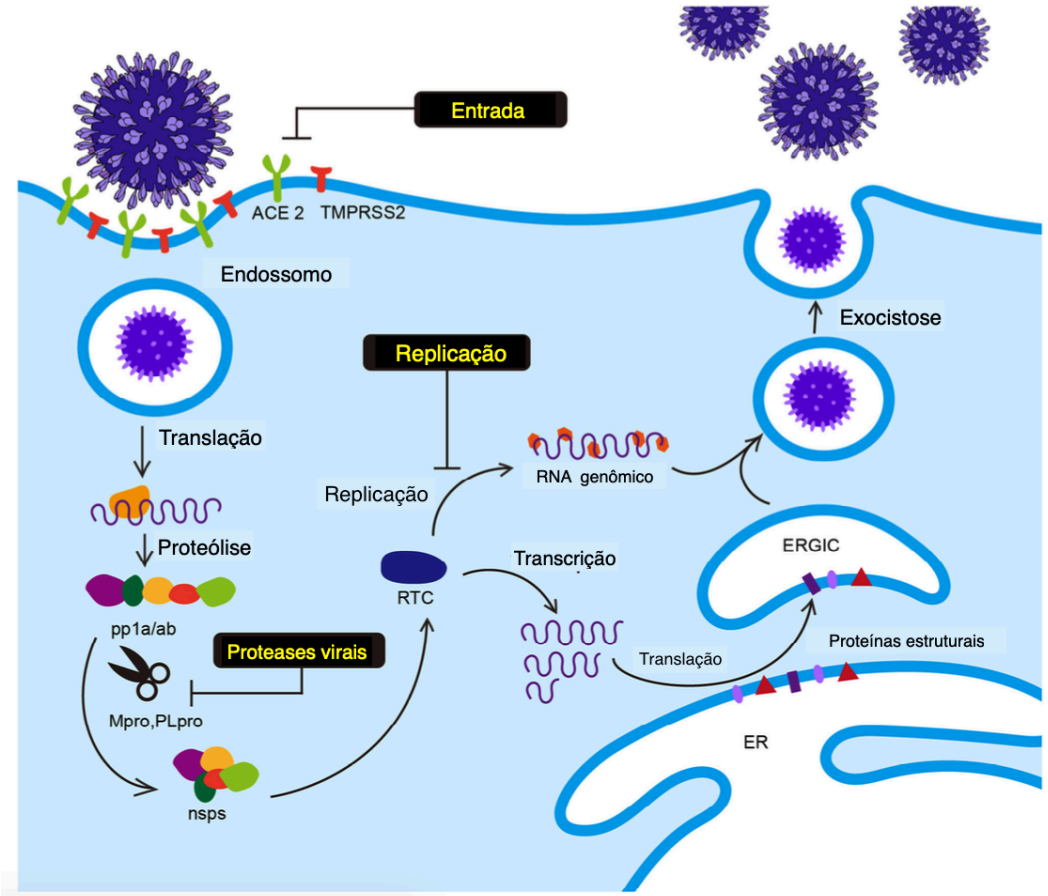


**Figura 02.** Desenho esquemático da entrada do SARS-CoV-2 mediada pela ECA2 e TMPRSS2 na célula.

Fonte: Adaptado de (Jeong et al., 2020).

Embora tenha sido sugerido que o aumento dos receptores ECA2 causado pelo uso de medicamentos para tratar hipertensão, como inibidores da enzima conversor de angiotensina (IECA) e bloqueadores dos receptores de angiotensina (BRA) possa aumentar a suscetibilidade à infecção pelo SARS-CoV-2, grandes coortes observacionais não encontraram associação entre esses medicamentos e o risco de infecção ou mortalidade hospitalar devido à COVID-19 (Mancia et al., 2020). Em um estudo com 4.480 pacientes com COVID-19 da Dinamarca, o tratamento anterior com inibidores da ECA ou bloqueadores dos receptores da angiotensina não foi associado à mortalidade (Fosbøl et al., 2020).

A patogênese da COVID-19 é complexa, mas pode ser descrita conceitualmente usando modelos típicos para processos patológicos associados à inflamação: as manifestações locais de inflamação geral clássica - inflamação sistêmica aguda e, inflamação sistêmica crônica de baixa intensidade. É importante

ressaltar que a probabilidade desse último processo aumenta com o envelhecimento, especialmente em indivíduos com síndrome metabólica, diabetes mellitus tipo 2 e outras doenças crônicas graves (Gusev, Sarapultsev, et al., 2021; Gusev, Solomatina, et al., 2021).

Além disso, estudos sobre a patogênese da COVID-19 têm se concentrado nos fatores de virulência e patogenicidade específicos para os betacoronavírus (β-CoV) em geral, bem como aqueles exclusivos do SARS-CoV-2. Esses fatores são determinantes para a especificidade da doença. Assim, o SARS-CoV-2 utiliza três conjuntos distintos de estratégias patogênicas virais convencionais: reconhecimento do vírus pelos receptores celulares; supressão da resposta antiviral, tanto das células-alvo infectadas quanto do sistema imunológico do organismo hospedeiro e, a capacidade do vírus de desencadear uma agressão do sistema imunológico contra seus próprios tecidos, na forma de um processo autoimune e autoinflamatório, como uma estratégia adicional para garantir sua sobrevivência no corpo do hospedeiro (Gusev et al., 2022).

### 2.3. Resposta imunológica na COVID-19

A resposta imunológica desempenha um papel fundamental na defesa do organismo contra infecções virais. Quando um vírus invade o corpo, o sistema imunológico é ativado e inicia uma série de mecanismos complexos para combater a infecção. A resposta imunológica à infecção viral envolve a ativação de diferentes componentes do sistema imunológico, incluindo células especializadas e moléculas de sinalização (Hilleman, 2004).

Ao abordar os mecanismos de defesa do hospedeiro, é importante considerar todos os parâmetros que podem ser relevantes para a interação inicial de um novo vírus com uma espécie. Levando em consideração que a maioria das etapas da interação entre o vírus e o hospedeiro seguirá uma distribuição normal de atributos ou parâmetros necessários para descrever o resultado da interação, não é totalmente surpreendente que os cursos clínicos observados da doença apresentem uma grande heterogeneidade. Por exemplo, a indução de uma resposta de interferon (IFN) por uma célula infectada pode variar na população, com indivíduos de baixa, média e alta resposta, desencadeando assim diferentes magnitudes de

respostas celulares e, consequentemente, efeitos distintos em cascata (Berlin et al., 2020; Gandhi et al., 2020).

O SARS-CoV-2 é um patógeno novo para os seres humanos, portanto, é esperado que uma resposta imune adaptativa eficaz, capaz de neutralizar novos antígenos, se desenvolva aproximadamente, duas a três semanas após o contato com o vírus (Okba et al., 2020). Considerando essa cronologia rápida, o controle da infecção em pacientes assintomáticos ou com doença leve provavelmente ocorre devido à resposta imune inata, na qual a ativação não depende do reconhecimento por anticorpos e/ou células T. Por sua vez, as formas graves da doença podem ser resultado da falha dos mecanismos de defesa não específicos de primeira linha e/ou do desenvolvimento de uma resposta imune adquirida, que, se amplificada, poderia se tornar patogênica para o hospedeiro, especialmente na presença de comorbidades relevantes (Boechat et al., 2021).

### 2.3.1. Resposta imune inata

A resposta imunológica inata é a primeira linha de defesa contra qualquer patógeno invasor, incluindo o SARS-CoV-2. Uma ampla variedade de células imunes inatas, incluindo macrófagos, neutrófilos, células dendríticas, células *natural killer* (NK), eosinófilos, basófilos e células linfóides inatas (ILCs - *innate lymphoid cells*), são ativadas durante a infecção pelo SARS-CoV-2 na COVID-19 (Karki & Kanneganti, 2022). A resposta celular à infecção é mediada pelo reconhecimento dos padrões moleculares associados ao patógeno viral (PAMPs) pelos múltiplos receptores de reconhecimento de padrões (PRRs), levando à produção de citocinas, incluindo interferons (IFNs) e quimiocinas. Os PRRs do hospedeiro incluem receptores de membrana, como os receptores tipo *Toll* (TLRs), os receptores semelhantes ao RIG-I (gene I induzido pelo ácido retinoico) (RLRs) e o receptor do tipo NOD, que são expressos pelas células epiteliais das vias respiratórias e pelas células imunes inatas, incluindo os macrófagos alveolares e teciduais. (Karki & Kanneganti, 2021; Streicher & Jouvenet, 2019). Estudos recentes têm mostrado que durante a infecção pelo SARS-CoV-2, esses receptores induzem a produção de citocinas mediada pela imunidade inata e a morte celular. Por exemplo, o SARS-CoV-2 estimula diretamente células epiteliais infectadas e células mielóides circulantes a liberar várias citocinas pró-inflamatórias (Qin et al., 2021). Embora as

respostas inflamatórias precoces sejam cruciais para limitar a replicação viral, os coronavírus evoluíram estratégias para escapar do reconhecimento pela imunidade inata, evitando a ativação dos PRRs e interferindo nas respostas imunes que ocorrem após a ativação do interferon (IFN) em uma via de sinalização.

Em contraste, casos graves de COVID-19 são caracterizados por uma resposta inflamatória excessiva tanto nos pulmões quanto na corrente sanguínea. Nesses casos, a combinação de citocinas, especialmente o fator de necrose tumoral (TNF) e o interferon gama (IFN-gamma), desencadeia a morte celular inflamatória chamada PANoptose e, consequentemente, resulta em uma tempestade de citocinas (Karki et al., 2021; Karki & Kanneganti, 2021). A tempestade de citocinas leva a uma resposta inflamatória sistêmica descontrolada que pode desencadear um ataque severo do próprio sistema imunológico do corpo. Esse fenômeno pode causar a Síndrome do Desconforto Respiratório Agudo (SDRA), falência de múltiplos órgãos e até mesmo resultar em óbito (Mortaz et al., 2020). Em geral, embora as respostas inflamatórias mediadas pela imunidade inata sejam essenciais para a defesa do hospedeiro contra a infecção viral, respostas inflamatórias tardias, se não controladas, podem levar a danos teciduais e falência de órgãos (Karki et al., 2022). Portanto, estratégias para modular a ativação da imunidade inata têm um forte potencial terapêutico na COVID-19.

### 2.3.2. Resposta imune adaptativa

A resposta imune adaptativa é uma fase avançada da resposta imune mediada por células T e células B, componentes-chave do sistema imunológico adaptativo. Após o reconhecimento de antígenos específicos do patógeno pelo sistema imunológico inato, as células apresentadoras de antígenos, como as células dendríticas, processam e apresentam esses antígenos aos linfócitos T CD4+ (células T auxiliares) e T CD8+ (células T citotóxicas) na região de reconhecimento do complexo maior de histocompatibilidade (MHC) de classe II e classe I, respectivamente (Abbas & Lichtman, 2009).

Após o reconhecimento e apresentação do antígeno, as células T CD4+ auxiliam na ativação das células B, enquanto as células T CD8+ direcionam a destruição de células infectadas pelo vírus. As células B, por sua vez, diferenciam-se em células plasmáticas que produzem anticorpos específicos contra o SARS-CoV-2.

Estes anticorpos podem neutralizar o vírus, impedindo sua entrada nas células hospedeiras e facilitando sua eliminação pelo sistema imunológico (Tortora, Funke & Case, 2019).

Estudos sobre a COVID-19 demonstraram que a resposta de anticorpos contra o SARS-CoV-2 é variável, com alguns pacientes desenvolvendo níveis robustos de anticorpos neutralizantes, enquanto outros apresentam uma resposta mais modesta. A presença de anticorpos neutralizantes está associada a um prognóstico melhor e menor risco de reinfecção. Além disso, a memória imunológica, mediada por células T e B de memória, desempenha um papel crucial na proteção contra reinfecções pelo mesmo patógeno (Sette & Crotty, 2021).

A variabilidade na resposta imune adaptativa entre indivíduos tem sido um desafio na compreensão completa da patogênese e na resposta à COVID-19. Fatores como idade, comorbidades e genética podem influenciar a magnitude e eficácia da resposta imune. Além disso, as variantes do SARS-CoV-2 apresentam um desafio adicional, pois mudanças na estrutura do vírus podem afetar a eficácia dos anticorpos neutralizantes previamente gerados (Krammer, 2020). A compreensão da resposta imune adaptativa é fundamental para o desenvolvimento de vacinas e terapias contra a COVID-19.

### 2.4. Neuroinflamação

A neuroinflamação tem sido identificada como um componente crítico nas manifestações neurológicas da COVID-19. Estudos recentes têm relatado que a infecção por SARS-CoV-2 pode levar à neuroinflamação através da ativação de respostas inflamatórias sistêmicas que afetam o SNC (Cron et al., 2021; Frank et al., 2022; P. Wang et al., 2023).

A COVID-19 pode causar uma "tempestade de citocinas" sistêmica, caracterizada pela produção exagerada de citocinas proinflamatórias. Essas citocinas podem atravessar a BHE comprometida ou afetar o SNC através de mecanismos circulatórios, contribuindo para a neuroinflamação (Frank et al., 2022). A ativação de micróglia e astrócitos, células residentes do cérebro responsáveis pela manutenção da homeostase e resposta imune, tem sido observada em pacientes com COVID-19. Essa ativação resulta na liberação de citocinas pró-inflamatórias, como IL-6 e TNF-alpha, que podem exacerbar a neuroinflamação e contribuir para o

dano neuronal (Loeb & Mei, 2020). A neuroinflamação pode estar associada a uma variedade de manifestações neurológicas em pacientes com COVID-19, incluindo encefalopatia, acidentes vasculares cerebrais, convulsões e sintomas neuropsiquiátricos, como confusão, alterações no humor e comprometimento cognitivo (Helms et al., 2020; Josephson & Kamel, 2020).

A resposta imune adaptativa, especificamente envolvendo linfócitos T, desempenha um papel significativo na neuroinflamação associada à COVID-19. Pesquisas indicam que a presença de linfocitopenia aguda, a perda de até 80% das células T juntamente com a proliferação intensa de cerca de 20% da população de células T CD8+, é um fenômeno observado em pacientes com SARS-CoV-2 e está correlacionada com resultados clínicos graves (Kuri-Cervantes et al., 2020; Laing et al., 2020). Ainda que os mecanismos subjacentes à linfocitopenia sejam incertos, especula-se que possam envolver desde a falha na proliferação linfocítica e apoptose até a extravasação para tecidos. A resolução da linfocitopenia está associada à recuperação, embora possa levar semanas. Além disso, altos níveis de expressão de moléculas efetoras por células T CD8+ na COVID-19 aguda estão associados a melhores resultados clínicos, enquanto a ativação excessiva pode ser prejudicial. A expressão de marcadores de possível exaustão, como PD-1 (Programmed cell death protein 1), está associada à progressão da doença. Este panorama sugere que a resposta imune adaptativa, embora crítica para o controle viral, pode também contribuir para a patologia através da indução de inflamação e dano ao tecido neural (Moss, 2022)

Os linfócitos T são, portanto, atores centrais tanto na defesa do hospedeiro contra a infecção por SARS-CoV-2 quanto na patogênese da COVID-19, incluindo as manifestações neurológicas da doença. A resposta imune exuberante, particularmente em casos graves, pode levar a uma "tempestade de citocinas" e dano tecidual, sublinhando a complexidade da resposta imune ao SARS-CoV-2 e a necessidade de abordagens terapêuticas que possam modulá-la eficazmente (Chowdhury et al., 2020; Q. Li et al., 2022; Louveau et al., 2015; Luo et al., 2021).

A disfunção da barreira hematoencefálica (BHE) é outra consequência potencial da neuroinflamação induzida por COVID-19. A inflamação pode comprometer a integridade da BHE, facilitando a entrada de células imunes e citocinas no SNC e potencializando os efeitos neuroinflamatórios e neurotóxicos (Buzhdygan et al., 2020).

## 2.5. Condições pós-COVID

A síndrome pós-COVID também conhecida como COVID longa, COVID-19 pós-aguda ou COVID persistente, é uma condição em que os pacientes continuam a experimentar sintomas da COVID-19 por semanas ou meses após a fase aguda da infecção, mesmo que já tenham se recuperado da doença inicial. Devido às diversas nomenclaturas para esse fenômeno, o Ministério da Saúde optou pelo termo como “condições pós-COVID” a fim de padronizar documentos técnicos e orientar profissionais de saúde sobre o tema (Ministério da Saúde, 2022). A Organização Mundial da Saúde (OMS) definiu a síndrome pós-COVID como a persistência dos sintomas ou desenvolvimento de novos sintomas três meses após a infecção pelo SARS-CoV-2 com duração de pelo menos dois meses sem que sejam explicados por outros fatores biológicos (OMS, 2022). Esses sintomas podem ser diversos e variados, e não se limitam apenas aos sintomas respiratórios típicos da infecção inicial. Pessoas com condições pós-COVID podem apresentar fadiga persistente, falta de ar, dores musculares e articulares, dores de cabeça, dificuldade de concentração (*brain fog*) e comprometimento cognitivo, palpitações cardíacas e outros sintomas que afetam significativamente a qualidade de vida (Iqbal et al., 2021).

Essas condições podem afetar qualquer pessoa, independentemente da gravidade da infecção inicial. Ela pode ocorrer em pessoas que tiveram COVID-19 leve a moderada ou assintomática, bem como em pessoas que foram hospitalizadas. A incidência é estimada em 10-30% dos casos não hospitalizados e 50-70% dos casos hospitalizados (Davis et al., 2023).

Em uma meta-análise desenvolvida por (Tsampasian et al., 2023) em que incluíram 860.783 pacientes demonstraram que existem fatores de risco clínicos e epidemiológicos que estão associados a um maior risco de desenvolver a síndrome pós-COVID. Dentre os fatores encontrados, sexo feminino, idade avançada, índice de massa muscular (IMC) elevado e tabagismo foram significativamente associados a um maior risco de sintomas persistentes por três meses ou mais após a fase aguda da infecção por COVID-19. Além disso, comorbidades pré-existentes, incluindo ansiedade e/ou depressão, asma, doença pulmonar obstrutiva crônica

(DPOC), diabetes, doença arterial coronariana (DAC) e imunossupressão também foram significativamente associadas a um maior risco de síndrome pós-COVID.

As condições pós-COVID são manifestações multissistêmicas que apresentam múltiplas causas, potencialmente sobrepostas. Várias hipóteses para sua patogênese têm sido sugeridas, incluindo reservatórios persistentes do SARS-CoV-2 em tecidos; desregulação imunológica; disfunção endotelial; e sinalização disfuncional (Davis et al., 2023).

Estudos que investigaram a desregulação imunológica em indivíduos que apresentaram sintomas referentes às condições pós-COVID que tiveram COVID-19 agudo leve identificaram alterações nas células T, incluindo células T exaustas, redução do número de células de memória efetoras CD4+ e CD8+, e elevada expressão de PD-1 em células de memória central, persistindo por pelo menos treze meses (Glynne et al., 2022; J. Klein et al., 2022). Além disso, foram relatadas células imunes inatas altamente ativadas, ausência de células T e B naïve e elevada expressão de interferons alfa e beta, persistindo por pelo menos oito meses (Phetsouphanh et al., 2022). Estudos adicionais encontraram níveis elevados de citocinas, particularmente IL-1 beta, IL-6, TNF e IP-10 (Peluso et al., 2021; Schultheiß et al., 2021), e um pré-print (Fernández-Castañeda, Lu, Geraghty, Song, Lee, Wood, Yalçın, et al., 2022) relatou elevação persistente do nível de eotaxina (CCL11), associada a disfunção cognitiva. Ainda não se sabe se o padrão de citocinas em encefalomielite miálgica/síndrome da fadiga crônica (EM/SFC), onde os níveis de certas citocinas são elevados nos primeiros 2-3 anos da doença, mas diminuem ao longo do tempo sem uma diminuição correspondente nos sintomas, é similar nas condições pós-COVID (Davis et al., 2023).

## 3. JUSTIFICATIVA

Revisões sistemáticas e estudos de coorte na literatura científica têm apontado para uma realidade preocupante: muitos indivíduos que contraíram COVID-19, inclusive em suas formas mais leves, desenvolvem sintomas duradouros e persistentes, fenômeno este conhecido como condições pós-COVID. A síndrome pós-COVID é uma condição complexa, associada a mais de 200 sintomas, variando em severidade. Notavelmente, um dos sintomas mais impactantes é o comprometimento cognitivo, que pode afetar de maneira expressiva a qualidade de

vida e a capacidade funcional dos pacientes. Observa-se também que a continuidade de níveis elevados de citocinas inflamatórias pode estar ligada a processos inflamatórios crônicos e à disfunção imunológica.

No entanto, ainda existe uma lacuna significativa no entendimento dos mecanismos que conduzem a essas manifestações clínicas. Há desafios adicionais no estudo das condições pós-COVID, particularmente em países de baixa e média renda, uma vez que a escassez de informações sobre a prevalência e fatores de risco dificulta o reconhecimento da condição por médicos e profissionais da área da saúde. Essa deficiência de dados também impede esforços para investigar mecanismos da condição e desenvolver tratamentos específicos (Ledford, 2024).

Diante disso, este estudo busca investigar a correlação entre a resposta imunológica do indivíduo, com enfoque especificamente no perfil de citocinas inflamatórias, e a persistência de alterações cognitivas em pacientes que apresentaram sintomas referente às condições pós-COVID que passaram por infecções leves por SARS-CoV-2. Além disso, visa-se analisar a influência de variáveis como idade e sexo, sobre estas manifestações clínicas.

## 4. OBJETIVOS

### 4.1. Geral

Investigar a relação entre a resposta imunológica do hospedeiro, incluindo o perfil de citocinas inflamatórias, e o comprometimento cognitivo persistente em indivíduos com condições pós-COVID que tiveram infecção inicial leve a moderada.

### 4.2. Específicos

Avaliar o perfil de citocinas inflamatórias em indivíduos com condições pós-COVID e verificar se existe uma correlação entre a persistência dessas citocinas e o comprometimento cognitivo.

Investigar a influência de variáveis demográficas, especificamente idade e gênero, nos níveis de citocinas e sua associação com o comprometimento cognitivo em pacientes com condições pós-COVID.

Avaliar o perfil inflamatório em indivíduos com mudanças no status cognitivo ao longo do tempo para identificar marcadores inflamatórios associados a alterações cognitivas em pacientes com condições pós-COVID.

## 5. MATERIAIS E MÉTODOS

### 5.1. Desenho do estudo

Este estudo representa uma coorte observacional prospectiva, cujo objetivo primordial é examinar o perfil das citocinas inflamatórias no sangue periférico de indivíduos, com faixa etária de 18 a 60 anos, que experimentaram uma infecção leve a moderada pelo SARS-CoV-2, confirmada através de teste RT-PCR. A amostra de participantes foi categorizada em dois grupos distintos: o primeiro composto por aqueles que manifestaram comprometimento cognitivo subsequente à recuperação da infecção inicial e o segundo formado por indivíduos que não exibiram sinais de comprometimento cognitivo pós-recuperação da mesma.

### 5.2. Seleção de participantes

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) sob o protocolo CAAE 3768820.1.0000.5149 (Anexo A). Os pacientes voluntários foram inicialmente recrutados por meio do Núcleo de Ações e Pesquisa em Apoio Diagnóstico (NUPAD) da Faculdade de Medicina da UFMG (FM-UFMG). Em parceria com a Secretaria Estadual de Saúde de Minas Gerais (SES-MG), o NUPAD realizou exames RT-PCR para diagnóstico da COVID-19 no Estado.

A amostra deste estudo foi composta predominantemente por pacientes atendidos nos hospitais Risoleta Tolentino Neves (HRTN) e Municipal Odilon Behrens (HMOB). A seleção de participantes foi baseada nos registros hospitalares, o que garantiu a inclusão de indivíduos com diagnóstico confirmado de COVID-19.

Entre outubro de 2020 e abril de 2021, recebemos de maneira periódica, listas das instituições coparticipantes HRTN e HMOB com informações dos pacientes que receberam atendimento nesses hospitais e realizaram exame para confirmação do diagnóstico de COVID-19. É importante ressaltar que todas as

etapas de coleta, armazenamento e utilização dos dados dos pacientes foram estritamente conduzidas em conformidade com a Lei Geral de Proteção de Dados Pessoais (LGPD) - Lei nº 13.853, de 8 de julho de 2019.

A partir das listas encaminhadas pelo NUPAD entramos em contato via telefone convidando os participantes que possuíam idade entre 18 e 60 anos, que não haviam sido hospitalizados ou receberam suporte ventilatório durante a infecção inicial. Aos pacientes que se mostraram interessados em participar da pesquisa foi encaminhado, via whatsapp, link para acesso e leitura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) disponível na plataforma *Research Electronic Data Capture* (REDCap). Após o aceite em participar do estudo e assinatura digital do TCLE, o voluntário teve acesso à primeira etapa online do estudo em que respondeu uma série de questionários e escalas sobre diferentes aspectos da saúde mental, dados sociodemográficos, algumas medidas psicológicas relacionadas à personalidade e qualidade de vida. Os critérios de exclusão utilizados foram: transtornos mentais crônicos anteriores ou diagnóstico atual de transtorno mental, história de cirurgias cerebrais prévias, intubação endotraqueal ou orotraqueal durante hospitalização ou tratamento para COVID-19, história de infecções recorrentes não relacionadas ao SARS-CoV-2, história de abuso de drogas lícitas e ilícitas, presença de doenças autoimunes autorrelatadas.

Após a finalização da etapa online, os voluntários foram convidados a participarem da etapa presencial, que consistiu da realização de exames de neuroimagem: ressonância magnética e tomografia computadorizada por emissão de pósitrons (PET-CT), e avaliação neuropsicológica. A coleta de material biológico foi realizada no momento da realização do PET-CT. Após a etapa inicial presencial, os participantes foram convidados a retornar para avaliações neuropsicológicas adicionais e coletas sanguíneas em intervalos de seis meses, estendendo-se por um período total de trinta meses. Os momentos de coleta de dados foram designados como segue: entrada (T0), retorno de seis meses (T1), retorno de doze meses (T2), retorno de dezoito meses (T3), retorno de vinte e quatro meses (T4) e retorno de trinta meses (T5). O fluxograma do estudo está representado na figura 03.

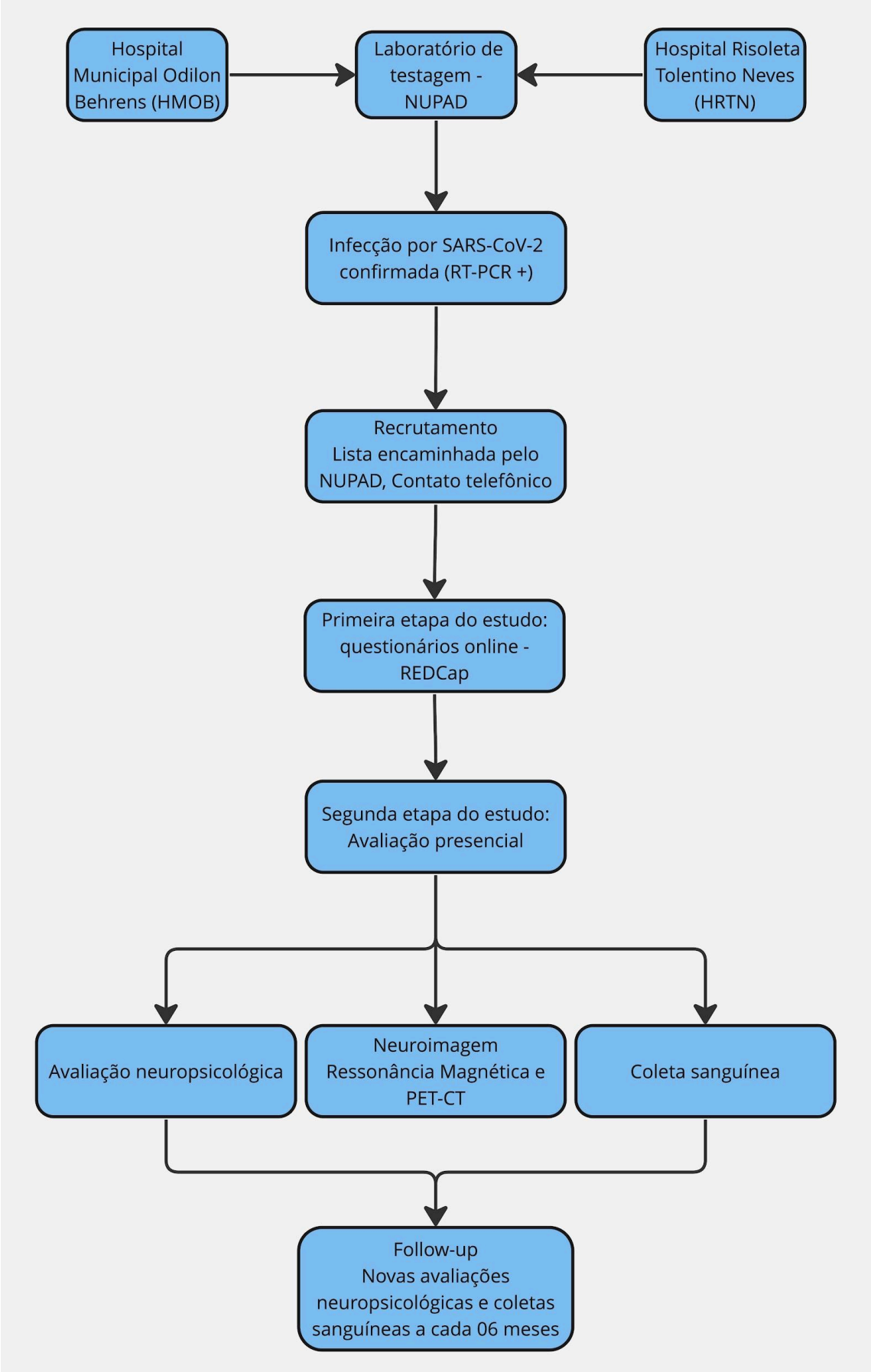


**Figura 03.** Fluxograma desenho do estudo.

### 5.3. Classificação dos participantes por grupos clínicos

Os participantes do estudo foram classificados e divididos em dois grupos de acordo com o score obtido no teste cópia da Figura Complexa de Rey. Os participantes que obtiveram nota abaixo da média esperada (33,73) corrigida para idade e escolaridade foram classificados como comprometimento cognitivo (*impaired*) e alocados no grupo alteração cognitiva e os participantes que obtiveram nota acima da média esperada foram classificados como normal e alocados no grupo sem alteração cognitiva (Oliveira; Rigoni, 2010).

O Teste da Figura Complexa de Rey é uma avaliação neuropsicológica amplamente utilizada para medir a percepção visual, a memória visual, a capacidade de organização e a habilidade de reconstrução. O teste é composto por duas partes principais: uma tarefa de cópia e outra de reprodução de memória (Shin et al., 2006; Zhang et al., 2021).

Na tarefa de cópia, o indivíduo é solicitado a copiar uma figura complexa e detalhada (Figura 04), que é apresentada em um papel. Esta parte do teste avalia as habilidades visuoespaciais e motoras, bem como a capacidade do indivíduo de planejar e organizar uma tarefa complexa. A performance é avaliada com base na precisão e completude da cópia. Após um intervalo, que pode variar conforme o protocolo específico do teste (geralmente após um intervalo de 3 a 30 minutos), solicita-se ao indivíduo que reproduza a figura de memória, sem ter a imagem original à vista. Esta parte do teste avalia a memória visual de curto prazo e a capacidade de reter e reproduzir informações visuais complexas. A avaliação é feita observando-se a precisão e quantidade de detalhes reproduzidos.

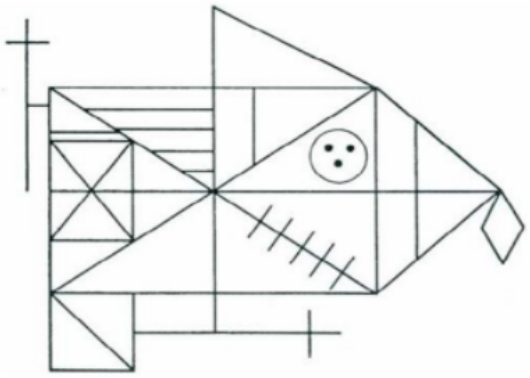

**Figura 04.** Estímulo original da Figura Complexa de Rey-Osterrieth.
Fonte: Adaptado de Oliveira; Rigoni, 2010.

O Teste da Figura Complexa de Rey é frequentemente utilizado em avaliações neuropsicológicas para identificar danos ou disfunções em áreas cerebrais relacionadas ao processamento visual, memória visual e habilidades organizacionais. É útil em uma variedade de contextos clínicos, incluindo a avaliação de condições neurodegenerativas, lesões cerebrais traumáticas e transtornos do desenvolvimento (Shin et al., 2006).

O teste é considerado uma ferramenta valiosa não só por sua aplicabilidade na detecção de anormalidades neurológicas, mas também por fornecer percepções sobre as estratégias cognitivas que o indivíduo utiliza para processar e recordar informações visuais complexas. Por ser tanto quantitativo quanto qualitativo, o Teste da Figura Complexa de Rey oferece uma rica fonte de informações sobre o funcionamento cognitivo de um indivíduo, contribuindo significativamente para diagnósticos clínicos, planejamento terapêutico e avaliações de reabilitação (Zhang et al., 2021).

No estudo inicial publicado pela equipe envolvida neste trabalho, em que avaliamos 192 pacientes que tiveram COVID-19 leve, foi evidenciado um padrão de déficits neuropsicológicos relacionados à visuoconstrução, com aproximadamente 24% dos participantes apresentando alteração na execução da cópia da Figura Complexa de Rey (Figura 05). Considerando que a amostra foi composta por indivíduos jovens (média de 38,17 ± 9,82 anos), essas alterações são incomuns, o que justifica o interesse científico em compreender melhor esses resultados (de

Paula et al., 2023). Essa evidência apoia o estudo longitudinal dos dados utilizados no presente trabalho.

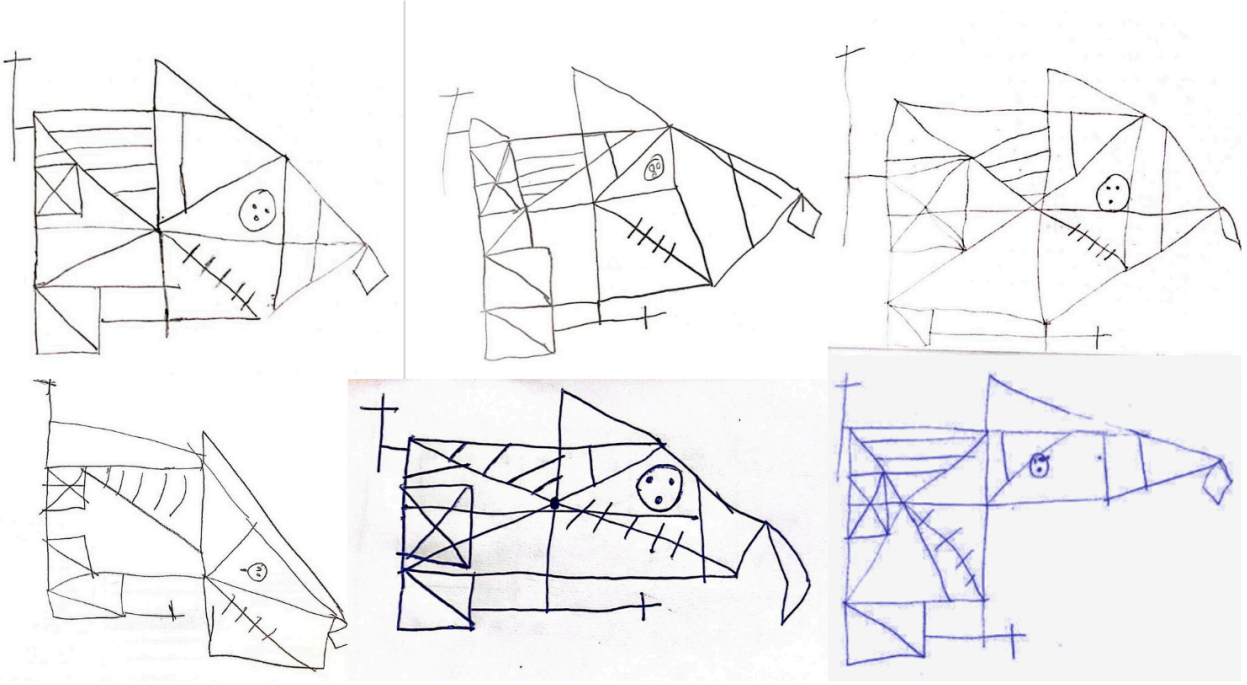

**Figura 05.** Exemplos de cópias alteradas da Figura Complexa de Rey obtidas no estudo De Paula et al. (2023).

Fonte: Reprodução autorizada (de Paula et al., 2023).

### 5.4. Coleta e processamento do sangue periférico

A coleta de sangue periférico foi conduzida utilizando uma técnica estéril, empregando um sistema a vácuo de uso único. O material biológico foi coletado em três tubos contendo EDTA e, imediatamente, transferido para uma caixa de transporte com compressas de gelo, visando preservar os níveis representativos das citocinas no plasma após a coleta. Posteriormente, as amostras foram encaminhadas ao laboratório do Centro de Tecnologia em Medicina Molecular (CTMM) para a obtenção do plasma.

Todas as amostras foram processadas seguindo o protocolo a seguir: realizou-se uma centrifugação a 3000 g, a uma temperatura de 4ºC, por um período de 15 minutos, com aceleração e desaceleração na configuração 1. A partir desse

processo, foram preparadas cinco alíquotas de 500µL em tubos Eppendorf, devidamente identificados com os códigos de cada participante, e posteriormente armazenados em freezer a -80°C.

### 5.5. Determinação dos níveis de citocinas com Luminex xMap

Para as quantificações das citocinas plasmáticas utilizou-se a tecnologia Luminex Milliplex xMap®. O Luminex é uma plataforma de multiplexação baseada em microesferas fluorescentes que permite a detecção simultânea e quantificação de múltiplos analitos em uma única amostra. Esses analitos podem ser diferentes tipos de moléculas, como proteínas, ácidos nucleicos ou outras substâncias biológicas. As microesferas são codificadas com diferentes combinações de cores e intensidades de fluorescência, o que permite a identificação única de cada tipo de microesfera. Cada microesfera é conjugada com um anticorpo específico ou outro tipo de sonda que se liga ao analito de interesse. A amostra biológica contendo os analitos é incubada com as microesferas conjugadas, permitindo que as reações de ligação ocorram. Em seguida, a amostra é analisada em um instrumento Luminex, que utiliza lasers para excitar as microesferas fluorescentes. A fluorescência emitida por cada microesfera é medida e quantificada, o que permite determinar a concentração dos analitos presentes na amostra (Guarene et al., 2018).

Para a realização dos ensaios Luminex, utilizou-se o kit *Cytokine/Chemokine/Growth Factor Convenience 45-Plex Human ProcartaPlex™ Panel 1* (ThermoFisher Scientific, Waltham, MA, USA), seguindo as recomendações do fabricante. Este kit permitiu analisar as seguintes citocinas plasmáticas: GM-CSF, IFN gamma, IL-1 beta, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-12p70, IL-13, IL-18, TNF alpha, IL-9, IL-10, IL-17A (CTLA-8), IL-21, IL-22, IL-23, IL-27, IFN alpha, IL-1 alpha, IL-1RA, IL-7, IL-15, IL-31, TNF beta, Eotaxin (CCL11), GRO alpha (CXCL1), IP-10 (CXCL10), MCP-1 (CCL2), MIP-1 alpha (CCL3), MIP-1 beta (CCL4), RANTES (CCL5), SDF-1 alpha, BDNF, EGF, FGF-2, HGF, NGF beta, PDGF-BB, PlGF-1, SCF, VEGF-A, VEGF-D, LIF.

Para as análises, as citocinas foram agrupadas de acordo com a Tabela 01, seguindo a classificação descrita por (Taipa et al., 2019).

**Tabela 01.** Painel de citocinas estudadas divididas por grupos.

| Grupo de citocina | Citocina | Função | Pró-inflamatória | Anti-inflamatória |
|---|---|---|---|---|
| **Interleucinas** | IL-1 alpha, IL-1 beta, IL-1RA, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-12p70, IL-13, IL-15, IL-17A (CTLA-8), IL-18, IL-21, IL-22, IL-23, IL-27, IL-31 | Moléculas envolvidas no controle da proliferação, divisão e diferenciação celular. Desempenham um papel na ativação/ supressão imunológica. | Il-1 beta, IL-1 alpha, IL-6, IL-8, IL-12p-70, IL-18, IL-17A, IL-22, IL-23, Il-31 | IL-4, IL-10, IL-1RA, IL-13, IL-27 |
| **Interferons** | IFN-alpha, IFN-gamma | Atividade antiviral, imunomodulação | IFN-alpha, IFN-gamma | |
| **Fatores de necrose tumoral** | TNF-alpha, TNF-beta | Moléculas pró-inflamatórias, envolvidas no processo de apoptose | TNF-alpha, TNF-beta | |
| **Quimiocinas** | Eotaxin (CCL11), IP-10 (CXCL10), MCP-1 (CCL2), MIP-1 | Quimiotaxia, angiogênese, polarização da resposta imune adaptativa | | |

| Grupo de citocina | Citocina | Função | Pró-inflamatória | Anti-inflamatória |
|---|---|---|---|---|
| | alpha (CCL3), MIP-1 beta (CCL4), RANTES (CCL5), GRO-alpha (CXCL1), SDF-1 alpha | | | |
| **Fatores estimulantes de colônias** | GM-CSF | Proliferação e diferenciação de células hematopoiéticas multipotentes | GM-CSF | |
| **Fatores de crescimento** | BDNF, EGF, FGF-2, HGF, LIF, NGF beta, PDGF-BB, PIGF-1, SCF, VEGF-A, VEGF-D | Estimulam o crescimento celular | | |

IL: interleukin, IL-1RA: interleukin-1 receptor antagonist, IFN: interferon, TNF: tumor necrosis factor, MCP-1: monocyte chemoattractant protein-1, MIP-1: macrophage inflammatory protein-1, GRO-alpha: growth-regulated oncogene-alpha, SDF-1 alpha: stromal cell-derived factor-1, GM-CSF: granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, BDNF: brain-derived neurotrophic factor, EGF: epidermal growth factor, FGF-2: fibroblast growth factor-2, HGF: hepatocyte growth factor, LIF: leukemia inhibitory factor, NGF beta: nerve growth factor beta, PDGF-BB: platelet-derived growth factor-BB, PIGF-1: placenta growth factor-1, SCF: stem cell factor, VEGF: vascular endothelial growth factor.

Determinou-se as intensidades médias de fluorescência por aquisição das amostras no equipamento Bio-Plex 200 (Bio-Rad Laboratories, California, EUA), utilizando-se o software Bio-Plex Manager™ versão 6.1 (Bio-Rad Laboratories, California, EUA). As concentrações das citocinas foram obtidas a partir da construção de curvas-padrão dos analitos, utilizando uma curva logística de ajuste de 5 parâmetros para transformar as intensidades médias de fluorescência em concentrações (pg/mL).

### 5.6. Análise estatística

Os dados foram avaliados quanto à sua normalidade utilizando o teste de Kolmogorov-Smirnov. Para examinar a influência de variáveis demográficas, tais como idade e sexo, sobre os níveis de citocinas, empregou-se o teste ANOVA de dois fatores (two-way ANOVA) seguido pelo teste post-hoc de Tukey. Os níveis de citocinas e quimiocinas plasmáticas foram comparados entre grupos com e sem alteração cognitiva mediante o uso do teste T, adotando um p-valor < 0,05 como critério para significância estatística. A avaliação da predição entre o perfil inflamatório e o desempenho cognitivo, foi realizado uma regressão logística binária. Utilizou-se os softwares SPSS 22.0 e GraphPad Prism 10 para as análises. A análise de rede foi realizada utilizando o software JASP.

## 6. RESULTADOS

### 6.1. Caracterização da amostra

No início do estudo (T0), a amostra consistia em 216 participantes, com uma média de 14 anos de estudo (± 3,56). Entre as profissões relatadas no questionário online (REDCap), os profissionais da saúde compunham cerca de 36,5% da amostra inicial. Dentre eles, enfermeiros e técnicos de enfermagem representavam 22,95% e psicólogos 6,56%. Assim como os psicólogos, os estudantes também representaram 6,56% da amostra inicial. Os dados mostram uma forte representação de profissionais diretamente envolvidos no cuidado e suporte aos pacientes, como enfermeiros e técnicos de enfermagem, fato que os expunha sobremaneira ao vírus

SARS-CoV-2, aumentando o risco de contaminação. A grande participação de profissionais da saúde pode estar relacionada com o fato de que a lista para contato com os participantes foi fornecida pelos hospitais Risoleta Tolentino Neves e Odilon Behrens. Essa origem dos contatos pode ter contribuído significativamente para a maior participação deste grupo na amostra.

Ao longo das fases subsequentes da pesquisa, o número de participantes foi se alterando. No retorno de seis meses (T1), observou-se uma diminuição, totalizando 102 participantes. Acompanhando a progressão do estudo, no retorno de doze meses (T2), registramos a participação de 101 indivíduos, indicando uma estabilidade na taxa de retenção dos participantes. No entanto, no retorno de dezoito meses (T3), houve uma redução mais acentuada, com a participação de apenas 41 indivíduos. No penúltimo retorno, que ocorreu aos vinte e quatro meses (T4), houve um ligeiro aumento na participação, alcançando 45 participantes. No último retorno, aos trinta meses (T5), houve a participação de apenas 05 participantes. Esta trajetória de participação ao longo do estudo reflete os desafios comuns em pesquisas longitudinais, onde a manutenção do engajamento dos participantes ao longo do tempo pode ser um fator crítico.

Quanto à composição demográfica, na entrada, a maioria era feminina (76,39%, n=165) e a idade média era de 39,02 anos (±10,48). Aos seis meses, a predominância feminina (76,5%, n=78) e a média de idade similar (38,70 anos ± 9,90) foram mantidas. Aos doze meses, as mulheres representavam 80,2% (n=81) da amostra, com uma média de idade ligeiramente superior, 41,69 anos (±9,93). Aos dezoito meses, a tendência se manteve, com 70,7% (n=29) dos participantes sendo mulheres e uma idade média de 39,51 anos (±9,80). No retorno de vinte e quatro meses, a composição feminina ainda era predominante (75,6%, n=34), com uma média de idade de 40,04 anos (±10,37). No retorno final, a maioria era feminina (80%, n=4) e a idade média era de 33 anos (±8,89).

### 6.1.1. Saúde mental e queixas cognitivas subjetivas

Na primeira etapa online do estudo, os participantes responderam a uma série de questionários e escalas sobre diferentes aspectos da saúde mental, personalidade e qualidade de vida, relatando como se sentiram nos últimos 30 dias.

Foi possível identificar uma prevalência significativa de diversos sintomas e condições psicológicas entre os participantes.

O uso de questionários baseados no DSM-5 é amplamente adotado para avaliar diversas condições de saúde mental. O manual do DSM-5 fornece diretrizes detalhadas e critérios diagnósticos para transtornos mentais, o que auxilia na padronização dos diagnósticos e na realização de estudos epidemiológicos e clínicos (American Psychiatric Association, 2021). Cerca de 59,7% dos participantes relataram sintomas de depressão, refletindo uma prevalência significativa de sentimentos de tristeza, desesperança e desmotivação. A ansiedade foi o sintoma mais frequentemente relatado, com 69,9% dos participantes experimentando nervosismo, preocupação excessiva ou pânico. Problemas relacionados ao sono foram mencionados por 54,7% dos participantes, indicando dificuldades como insônia inicial e de manutenção. Déficits de memória foram relatados por cerca de 36% dos participantes, o que pode estar associado ao estresse e a outras condições psicológicas. Os demais achados do questionário DSM-5 estão detalhados na Tabela 02.

Além do questionário DSM-5, os participantes responderam a outros questionários de saúde mental e cognitiva. O Self-Reporting Questionnaire (SRQ-20), desenvolvido pela OMS, é um questionário de auto-relato composto por 20 itens, utilizado para identificar sintomas comuns em indivíduos com transtornos mentais. A confiabilidade e a validade do SRQ-20 tornam-no uma ferramenta valiosa para pesquisadores e clínicos interessados na triagem e avaliação de transtornos mentais (Beusenberg, Orley, & WHO, 1994). No SRQ-20, 53,24% dos participantes apresentaram desfecho clínico, indicando uma prevalência significativa de problemas de saúde mental.

O Cognitive Failures Questionnaire (CFQ) é um instrumento de auto-relato que mede falhas cognitivas em tarefas diárias, como percepção, memória e função motora. Estudos mostram que o CFQ é uma ferramenta válida e confiável para avaliar déficits cognitivos subjetivos, sendo útil em diversas populações, incluindo pacientes com condições neuropsiquiátricas (de Paula et al., 2018). No CFQ, 21,8% dos participantes apresentaram desfecho clínico, refletindo dificuldades cognitivas.

O questionário Eight-item Informant Interview to Differentiate Aging and Dementia (AD8) é uma ferramenta de triagem para o comprometimento cognitivo, composta por oito perguntas que avaliam o desempenho cognitivo das pessoas na

vida diária (julgamento, interesse, repetição, aplicação, orientação, finanças, compromissos e consistência). Uma pontuação do AD8 maior que 2 sugere comprometimento cognitivo (desfecho clínico) (Wei et al., 2021). Neste estudo, o questionário AD8 foi adaptado para auto-relato de sintomas que surgiram no pós-COVID (Galvin et al., 2005), sendo que 53,24% dos participantes apresentaram desfecho clínico, sugerindo um impacto duradouro da COVID-19 na saúde mental e cognitiva dos indivíduos.

Esses questionários foram utilizados como testes de triagem projetados para detectar sintomas de transtornos mentais comuns e oferecer uma estimativa da intensidade e do impacto de cada queixa (de Paula et al., 2015).

**Tabela 02.** Descrição dos resultados dos questionários online.

| **Questionários** | **n (n=216)** | **%** |
|---|---|---|
| **Educação** | | |
| Ensino Fundamental Completo | 2 | 0,93% |
| Ensino Médio Completo | 3 | 1,39% |
| Ensino Superior Completo | 126 | 58,33% |
| Pós-Graduação | 85 | 39,35% |
| **DSM-5** | | |
| Depressão | 129 | 59,72% |
| Ansiedade | 151 | 69,91% |
| Raiva | 104 | 48,15% |
| Sintomas somáticos | 133 | 61,78% |
| Distúrbio do sono | 118 | 54,67% |
| Uso de substâncias | 96 | 44,44% |

| **Questionários** | **n (n=216)** | **%** |
|---|---|---|
| Déficit de memória | 78 | 36,11% |
| Transtorno de personalidade | 72 | 33,33% |
| Dissociação | 70 | 32,41% |
| Mania | 68 | 31,48% |
| Transtorno Obsessivo-Compulsivo | 64 | 29,63% |
| Auto-mutilação | 30 | 13,89% |
| Psicose | 28 | 12,96% |
| **SRQ-20** | | |
| Desfecho clínico | 115 | 53,24% |
| **CFQ** | | |
| Desfecho clínico | 47 | 21,76% |
| **AD8** | | |
| Desfecho clínico | 115 | 53,24% |

DSM-5: Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders; SRQ: Self-Reporting Questionnaire; CFQ: Cognitive Failures Questionnaire; AD8: Eight-item Informant Interview to Differentiate Aging and Dementia.

### 6.2. Classificação dos grupos

Baseando-se nos resultados do teste de cópia da Figura Complexa de Rey, os participantes foram categorizados em dois grupos: normal (aqueles com pontuação acima da média esperada) e com alteração cognitiva (aqueles com pontuação abaixo da média esperada). Observou-se uma evolução na composição desses grupos ao longo do estudo, influenciada pela perda de participantes e pelas

mudanças nas pontuações dos testes ao longo do tempo, como evidenciado na análise pareada detalhada posteriormente.

No início do estudo (T0), o grupo normal consistia em 172 participantes (79,6%), enquanto o grupo com alteração cognitiva incluía 44 participantes (20,4%). Na avaliação de seis meses (T1), o grupo normal contava com 87 participantes (85,3%) e o grupo com alteração cognitiva com 15 (14,7%). Aos doze meses (T2), a proporção se manteve praticamente inalterada: 86 participantes (85,1%) no grupo normal e 15 (14,9%) no grupo com alteração cognitiva. Entretanto, aos dezoito meses (T3), houve uma perda significativa de participantes, impactando a análise; apenas membros do grupo normal (41 participantes) permaneceram. No penúltimo ponto de coleta de dados, aos vinte e quatro meses (T4), o grupo normal era composto por 38 participantes (84,4%), enquanto o grupo com alteração cognitiva contava com 7 participantes (15,6%). No último momento de coleta, aos trinta meses (T5), o grupo normal era composto por 04 participantes (80%), enquanto o grupo com alteração cognitiva era composto por 01 participante (20%).

### 6.3. Análise descritiva das citocinas

Nas tabelas abaixo foram descritas as médias e desvio padrão, mediana, percentil 25 e percentil 75, valores mínimos e máximos (pg/mL) das 45 citocinas analisadas em todos os indivíduos ao longo do tempo de estudo.

**Tabela 03.** Interleucinas (pg/mL) pró-inflamatórias e anti-inflamatórias ao longo do tempo.

| **CITOCINA** | **TEMPO** | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Entrada (T0) | Retorno 06 meses (T1) | Retorno 12 meses (T2) | Retorno 18 meses (T3) | Retorno 24 meses (T4) | Retorno 30 meses (T5) |
| **IL-1 alpha** | | | | | | |
| Média (desvio padrão) | 0,48 (±3,05) | 0,37 (±0,51) | 0,27 (±0,49) | 0,29 (±0,28) | 0,04 (±0,09) | 0,03 (±0,04) |
| Mediana (P25-P75) | 0,06 (0,01-0,22) | 0,18 (0,10-0,42) | 0,16 (0,03-0,34) | 0,12 (0,10-0,43) | 0,01 (0,01-0,03) | 0,01 (0,01-0,06) |
| Mínimo | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,07 | 0,00 | 0,00 |
| Máximo | 42,13 | 3,05 | 4,24 | 1,03 | 0,46 | 0,10 |
| **IL-1 beta** | | | | | | |
| Média (desvio padrão) | 20,69 (±233,90) | 5,35 (±7,85) | 3,95 (±4,43) | 4,94 (±8,23) | 2,76 (±5,69) | 0,69 (±0,29) |
| Mediana (P25-P75) | 2,26 (1,25-4,70) | 2,42 (1,01-5,61) | 2,44 (1,25-4,82) | 1,31 (0,70-4,38) | 0,97 (0,56-1,77) | 0,82 (0,38-0,94) |
| Mínimo | 0,00 | 0,00 | 0,14 | 0,29 | 0,14 | 0,31 |
| Máximo | 3439,00 | 49,44 | 22,39 | 34,82 | 33,94 | 0,97 |
| **IL-1RA** | | | | | | |
| Média (desvio padrão) | 56,34 (±188,90) | 55,10 (±120,70) | 54,62 (±53,51) | 76,50 (±90,44) | 70,13 (±100,60) | 30,40 (±21,91) |
| Mediana (P25-P75) | 21,63 (0-60,54) | 21,53 (0-65,39) | 40,5 (24,32-68,26) | 63,57 (44,02-77,70) | 42,86 (9,29-79,99) | 21,91 (18,24-17) |
| Mínimo | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 19,27 | 0,00 | 17,00 |

| CITOCINA | TEMPO | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Entrada (T0) | Retorno 06 meses (T1) | Retorno 12 meses (T2) | Retorno 18 meses (T3) | Retorno 24 meses (T4) | Retorno 30 meses (T5) |
| Máximo | 2596,00 | 1065,00 | 428,90 | 618,70 | 533,80 | 69,29 |
| **IL-2** | | | | | | |
| Média (desvio padrão) | 66,58 (±236,20) | 96,77 (±336,10) | 32,21 (±43,12) | 35,11 (±35,69) | 45,54 (82,84) | 51,08 (±74,69) |
| Mediana (P25-P75) | 21,4 (9,94-57,17) | 22,77 (10,29-57,93) | 18,19 (10,11-34,28) | 24,21 (10,61-48,11) | 21,8 (6,85-49,43) | 22,86 (8,44-107,80) |
| Mínimo | 0,00 | 1,72 | 0,00 | 4,64 | 0,00 | 1,65 |
| Máximo | 2393,00 | 2393,00 | 300,60 | 152,00 | 515,20 | 183,20 |
| **IL-4** | | | | | | |
| Média (desvio padrão) | 47,77 (±302,50) | 16,76 (±29,99) | 10,30 (±11,28) | 9,144 (±14,72) | 10,07 (±11,01) | 5,0 (±3,40) |
| Mediana (P25-P75) | 9,1 (5,35-18,75) | 7,76 (3,33-18,02) | 6,42 (4,47-12,03) | 3,17 (2,01-11,25) | 5,93 (4,52-10,30) | 3,56 (2,97-7,75) |
| Mínimo | 0,00 | 0,63 | 1,66 | 0,64 | 1,93 | 2,86 |
| Máximo | 3288,00 | 222,80 | 69,32 | 84,09 | 65,05 | 10,97 |
| **IL-5** | | | | | | |
| Média (desvio padrão) | 106,4 (±1021,0) | 27,99 (±43,11) | 15,09 (±22,86) | 16,77 (±23,71) | 15,35 (±19,85) | 8,96 (±10,12) |
| Mediana (P25-P75) | 12,42 (7,30-23,70) | 16,02 (7,84-31,72) | 8,21 (5,05-16,37) | 6,58 (3,53-16,42) | 7,48 (4,72-15,15) | 5,44 (3,43-16,26) |

| CITOCINA | TEMPO | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Entrada (T0) | Retorno 06 meses (T1) | Retorno 12 meses (T2) | Retorno 18 meses (T3) | Retorno 24 meses (T4) | Retorno 30 meses (T5) |
| Mínimo | 0,59 | 2,00 | 0,87 | 1,80 | 0,31 | 3,14 |
| Máximo | 14442,00 | 311,30 | 192,10 | 103,40 | 92,73 | 26,96 |
| **IL-6** | | | | | | |
| Média (desvio padrão) | 68,7 (±240,20) | 227,2 (±1140,0) | 99,59 (±282,80) | 102,2 (±180,30) | 33,36 (±65,47) | 45,05 (±70,83) |
| Mediana (P25-P75) | 17,68 (1,66-61,04) | 49,98 (12,06-146,60) | 21,39 (11,01-58,98) | 27,04 (6,06-90,78) | 17,3 (4,57-33,94) | 15,93 (5,23-99,43) |
| Mínimo | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,65 |
| Máximo | 3224,00 | 11473,00 | 2113,00 | 788,50 | 424,40 | 170,50 |
| **IL-7** | | | | | | |
| Média (desvio padrão) | 2,14 (±19,22) | 1,10 (±2,70) | 0,70 (±0,83) | 0,73 (±0,91) | 0,87 (±1,25) | 0,47 (±0,48) |
| Mediana (P25-P75) | 0,51 (0,33-0,83) | 0,58 (0,34-0,99) | 0,48 (0,27-0,80) | 0,37 (0,22-0,87) | 0,44 (0,20-0,83) | 0,29 (0,21-0,83) |
| Mínimo | 0,03 | 0,18 | 0,04 | 0,07 | 0,05 | 0,17 |
| Máximo | 282,60 | 26,80 | 5,74 | 4,87 | 6,93 | 1,33 |
| **IL-8** | | | | | | |
| Média (desvio padrão) | 11,4 (±66,92) | 16,36 (±38,86) | 8,33 (±21,03) | 8,28 (±14,58) | 1,18 (±1,75) | 1,81 (±2,69) |
| Mediana (P25-P75) | 1,76 (0,74-6,40) | 4,97 (1,70-14,15) | 1,08 (0,50-5,39) | 1,31 (0,31-12,01) | 0,64 (0,22-1,24) | 0,5 (0,27-4,02) |

| CITOCINA | TEMPO | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Entrada (T0) | Retorno 06 meses (T1) | Retorno 12 meses (T2) | Retorno 18 meses (T3) | Retorno 24 meses (T4) | Retorno 30 meses (T5) |
| Mínimo | 0,01 | 0,14 | 0,10 | 0,13 | 0,01 | 0,22 |
| Máximo | 946,70 | 262,60 | 146,30 | 58,56 | 10,85 | 6,54 |
| **IL-9** | | | | | | |
| Média (desvio padrão) | 43,68 (±201,10) | 45,53 (±111,10) | 22,13 (±47,18) | 26,74 (±44,36) | 20,28 (±55,17) | 33,05 (±64,12) |
| Mediana (P25-P75) | 7,0 (2,76-25,79) | 10,3 (2,40-36,73) | 5,94 (2,05-16,31) | 6,47 (0,75-23,43) | 8,05 (1,63-15,31) | 4,79 (1,58-78,66) |
| Mínimo | 0,00 | 0,00 | 0,33 | 0,06 | 0,59 | 1,01 |
| Máximo | 2588,00 | 751,80 | 307,30 | 177,70 | 365,90 | 147,60 |
| **IL-10** | | | | | | |
| Média (desvio padrão) | 9,86 (±119,60) | 2,33 (±8,99) | 1,59 (±2,66) | 1,12 (±1,52) | 1,89 (±2,20) | 1,68 (2,09) |
| Mediana (P25-P75) | 0,89 (0,47-1,53) | 0,69 (0,41-1,68) | 0,86 (0,44-1,63) | 0,52 (0,31-1,34) | 1,06 (0,70-2,0) | 0,76 (0,57-3,25) |
| Mínimo | 0,00 | 0,05 | 0,11 | 0,11 | 0,36 | 0,48 |
| Máximo | 1759,00 | 88,35 | 20,71 | 7,44 | 9,71 | 5,39 |
| **IL-12p70** | | | | | | |
| Média (desvio padrão) | 18,25 (±144,20) | 8,20 (±61,86) | 0,96 (±1,13) | 1,24 (±1,31) | 0,91 (±1,23) | 0,55 (±0,14) |
| Mediana (P25-P75) | 0,82 (0,52-1,60) | 0,79 (0,52-1,20) | 0,57 (0,44-1,02) | 0,67 (0,50-1,22) | 0,48 (0,35-0,88) | 0,57 (0,42-0,68) |

| **CITOCINA** | **TEMPO** | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Entrada (T0) | Retorno 06 meses (T1) | Retorno 12 meses (T2) | Retorno 18 meses (T3) | Retorno 24 meses (T4) | Retorno 30 meses (T5) |
| Mínimo | 0,21 | 0,25 | 0,21 | 0,33 | 0,21 | 0,40 |
| Máximo | 1796,00 | 623,40 | 8,09 | 5,63 | 7,26 | 0,75 |
| **IL-13** | | | | | | |
| Média (desvio padrão) | 595,1 (±7137,0) | 33,77 (±65,61) | 21,89 (±34,33) | 27,62 (±56,80) | 6,60 (±6,81) | 4,4 (±2,61) |
| Mediana (P25-P75) | 10,03 (5,05-28,27) | 13,44 (5,66-34,60) | 9,65 (4,43-19,78) | 7,07 (3,56-30,87) | 3,62 (2,81-7,85) | 4,02 (2,20-6,83) |
| Mínimo | 0,00 | 0,00 | 1,17 | 1,26 | 1,58 | 1,58 |
| Máximo | 103531,00 | 537,70 | 188,90 | 341,40 | 32,95 | 8,42 |
| **IL-15** | | | | | | |
| Média (desvio padrão) | 45,28 (±82,55) | 81,36 (±144,70) | 34,69 (±82,72) | 38,1 (±50,22) | 27,66 (±45,80) | 51,71 (±80,38) |
| Mediana (P25-P75) | 18,3 (6,07-55,61) | 40,32 (13,34-87,88) | 11,46 (5,30-29,11) | 14,46 (7,84-49,32) | 15,41 (4,11-35,20) | 15,07 (5,32-116,40) |
| Mínimo | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 1,57 |
| Máximo | 926,30 | 981,60 | 624,10 | 211,70 | 281,70 | 193,20 |
| **IL-17A** | | | | | | |
| Média (±desvio padrão) | 26,05 (±188,90) | 20,83 (±38,61) | 14,63 (±22,29) | 13,46 (±19,69) | 13,03 (±21,45) | 5,37 (±5,22) |

| CITOCINA | TEMPO | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Entrada (T0) | Retorno 06 meses (T1) | Retorno 12 meses (T2) | Retorno 18 meses (T3) | Retorno 24 meses (T4) | Retorno 30 meses (T5) |
| Mediana (P25-P75) | 7,20 (2,57-16,24) | 8,97 (3,28-19,83) | 6,95 (3,09-15,20) | 5,64 (2,58-15,97) | 5,88 (3,19-10,65) | 3,84 (2,15-9,36) |
| Mínimo | 0,00 | 0,00 | 0,31 | 0,14 | 0,81 | 1,73 |
| Máximo | 2775,00 | 307,30 | 117,20 | 90,09 | 119,10 | 14,54 |
| **IL-18** | | | | | | |
| Média (desvio padrão) | 26,31 (±181,80) | 13,04 (±10,78) | 9,77 (±13,49) | 10,69 (±7,76) | 10,76 (±10,79) | 5,74 (±4,69) |
| Mediana (P25-P75) | 8,53 (2,14-15,68) | 9,98 (7,04-16,92) | 6,35 (3,47-9,42) | 7,51 (5,56-14,0) | 6,86 (3,34-16,41) | 3,34 (2,51-10,17) |
| Mínimo | 0,00 | 0,00 | 0,11 | 1,16 | 0,22 | 2,16 |
| Máximo | 2668,00 | 80,37 | 92,15 | 33,69 | 55,49 | 13,47 |
| **IL-21** | | | | | | |
| Média (desvio padrão) | 35,40 (±245,0) | 11,31 (±17,84) | 11,60 (±20,22) | 7,30 (±6,63) | 16,60 (±19,30) | 25,63 (±39,95) |
| Mediana (P25-P75) | 6,85 (1,42-15,83) | 4,32 (0-14,01) | 5,62 (3,34-12,05) | 4,84 (2,33-9,63) | 11,37 (4,35-18,65) | 8,33 (5,60-54,32) |
| Mínimo | 0,00 | 0,00 | 0,77 | 0,54 | 2,33 | 4,35 |
| Máximo | 3528,00 | 94,83 | 171,60 | 23,83 | 117,10 | 96,94 |
| **IL-22** | | | | | | |
| Média (desvio padrão) | 161,70 (±874,40) | 118,30 (±784,10) | 12,19 (±38,37) | 7,91 (±10,16) | 9,48 (±10,69) | 4,43 (±4,88) |

| CITOCINA | TEMPO | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Entrada (T0) | Retorno 06 meses (T1) | Retorno 12 meses (T2) | Retorno 18 meses (T3) | Retorno 24 meses (T4) | Retorno 30 meses (T5) |
| Mediana (P25-P75) | 10,41 (3,82-27,20) | 14,20 (8,08-24,65) | 4,84 (2,01-9,97) | 3,57 (22,56-6,12) | 5,89 (3,39-11,90) | 2,61 (1,35-8,42) |
| Mínimo | 0,00 | 0,00 | 0,09 | 0,94 | 0,57 | 0,57 |
| Máximo | 7851,00 | 7851,00 | 369,90 | 38,05 | 56,96 | 12,88 |
| **IL-23** | | | | | | |
| Média (desvio padrão) | 475,10 (±4727,0) | 220,60 (±999,60) | 62,04 (±106,10) | 76,22 (±131,90) | 54,73 (±150,90) | 138,50 (±276,90) |
| Mediana (P25-P75) | 39,67 (11,16-146,10) | 26,54 (9,53-108,30) | 17,66 (6,72-58,19) | 16,27 (4,76-93,38) | 16,22 (2,80-61,24) | 14,51 (2,98-335,90) |
| Mínimo | 0,00 | 0,00 | 0,95 | 1,70 | 0,00 | 1,17 |
| Máximo | 69012,00 | 9838,00 | 742,20 | 638,20 | 1004,00 | 633,20 |
| **IL-27** | | | | | | |
| Média (desvio padrão) | 230,20 (±1626,0) | 93,23 (±211,40) | 40,23 (±54,13) | 46,86 (±62,73) | 34,46 (±55,22) | 22,65 (±23,99) |
| Mediana (P25-P75) | 37,31 (13,73-101,20) | 20,42 (9,30-65,85) | 22,43 (12,27-46,61) | 23,86 (12,12-63,26) | 18,08 (8,05-31,29) | 14,86 (2,61-46,60) |
| Mínimo | 0,00 | 1,36 | 0,71 | 0,72 | 0,71 | 0,71 |
| Máximo | 23481,00 | 1383,00 | 379,00 | 347,10 | 338,70 | 58,53 |
| **IL-31** | | | | | | |

| CITOCINA | TEMPO | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Entrada (T0) | Retorno 06 meses (T1) | Retorno 12 meses (T2) | Retorno 18 meses (T3) | Retorno 24 meses (T4) | Retorno 30 meses (T5) |
| Média (desvio padrão) | 66,55 (±285,30) | 73,92 (±210,80) | 29,11 (±67,21) | 45,70 (±91,08) | 25,45 (±67,13) | 81,92 (±159,10) |
| Mediana (P25-P75) | 9,77 (0-35,40) | 16,04 (4,96-51,93) | 7,13 (1,44-26,31) | 10,81 (0-46,03) | 3,39 (0-32,36) | 0 (0-204,80) |
| Mínimo | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| Máximo | 3041,00 | 1818,00 | 510,30 | 491,60 | 430,30 | 364,30 |

**Tabela 04.** Quimiocinas (pg/mL) ao longo do tempo.

| **QUIMIOCINAS** | **TEMPO** | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Entrada (T0) | Retorno 06 meses (T1) | Retorno 12 meses (T2) | Retorno 18 meses (T3) | Retorno 24 meses (T4) | Retorno 30 meses (T5) |
| **Eotaxin (CCL11)** | | | | | | |
| Média (desvio padrão) | 1,92 (±3,10) | 2,88 (±2,28) | 1,47 (±0,82) | 1,23 (±0,60) | 1,54 (±1,41) | 1,41 (±1,55) |
| Mediana (P25-P75) | 1,40 (0,95-1,99) | 2,04 (1,50-4,0) | 1,21 (0,90-1,80) | 1,06 (0,83-1,45) | 1,20 (0,64-1,84) | 0,84 (0,46-2,66) |
| Mínimo | 0,03 | 0,19 | 0,26 | 0,38 | 0,06 | 0,32 |
| Máximo | 42,97 | 12,02 | 4,01 | 3,36 | 7,70 | 4,12 |
| **IP-10** | | | | | | |
| Média (desvio padrão) | 106,4 (±1021,0) | 27,99 (±43,11) | 15,09 (±22,86) | 16,77 (±23,71) | 15,35 (±19,85) | 8,96 (±10,12) |
| Mediana (P25-P75) | 12,42 (7,30-23,70) | 16,02 (7,84-31,72) | 8,21 (5,05-16,37) | 6,58 (3,53-16,42) | 7,48 (4,72-15,15) | 5,44 (3,43-16,26) |
| Mínimo | 0,59 | 2,00 | 0,87 | 1,80 | 0,31 | 3,14 |
| Máximo | 14442,00 | 311,30 | 192,10 | 103,40 | 92,73 | 26,96 |
| **MCP-1** | | | | | | |
| Mediana (P25-P75) | 5,02 (3,35-6,98) | 7,99 (4,92-12,15) | 3,76 (2,76-6,16) | 3,78 (2,68-5,27) | 4,28 (2,06-6,81) | 2,76 (1,80-5,36) |
| Mínimo | 0,08 | 2,15 | 0,88 | 1,25 | 0,25 | 1,07 |
| Máximo | 195,20 | 161,90 | 15,74 | 26,43 | 12,33 | 7,14 |

| QUIMIOCINAS | TEMPO | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Entrada (T0) | Retorno 06 meses (T1) | Retorno 12 meses (T2) | Retorno 18 meses (T3) | Retorno 24 meses (T4) | Retorno 30 meses (T5) |
| Média (desvio padrão) | 7,03 (±14,34) | 11,81 (±18,21) | 4,90 (±3,21) | 4,98 (±4,41) | 4,49 (±3,06) | 3,42 (±2,27) |
| **MIP-1 alpha** | | | | | | |
| Mediana (P25-P75) | 0,46 (0,14-2,60) | 2,90 (1,10-7,30) | 0,43 (0,20-1,90) | 0,16 (0,12-1,90) | 0,17 (0,14-0,27) | 0,12 (0,10-0,17) |
| Média (desvio padrão) | 5,5 (±43,0) | 6,60 (±13,0) | 3,10 (±9,50) | 2,80 (±5,90) | 0,28 (±0,28) | 0,13 (±0,04) |
| Mínimo | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,06 | 0,07 | 0,09 |
| Máximo | 632,00 | 90,00 | 71,00 | 25,00 | 1,40 | 0,18 |
| **MIP-1 beta** | | | | | | |
| Média (desvio padrão) | 7,73 (±14,88) | 7,0 (±6,96) | 5,52 (±4,53) | 4,91 (±1,68) | 6,22 (±3,20) | 4,06 (±1,01) |
| Mediana (P25-P75) | 5,49 (3,12-8,04) | 5,79 (3,35-8,02) | 4,55 (3,57-6,44) | 4,81 (3,36-6,38) | 5,46 (4,19-7,77) | 3,73 (3,15-5,13) |
| Mínimo | 0,00 | 0,00 | 1,02 | 2,03 | 0,61 | 3,02 |
| Máximo | 180,00 | 61,41 | 42,80 | 8,29 | 16,78 | 5,23 |
| **RANTES** | | | | | | |
| Média (desvio padrão) | 22,74 (±28,91) | 49,90 (±74,56) | 12,21 (±8,32) | 9,32 (±5,29) | 10,03 (±3,94) | 8,22 (±1,72) |
| Mediana (P25-P75) | 14,28 (10,24-24,11) | 30,17 (18,22-49,66) | 10,35 (7,75-14,62) | 8,04 (5,15-10,49) | 9,95 (7,20-12,51) | 8,40 (6,88-9,47) |
| Mínimo | 0,00 | 7,56 | 1,03 | 3,63 | 0,00 | 5,42 |

| QUIMIOCINAS | TEMPO | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Entrada (T0) | Retorno 06 meses (T1) | Retorno 12 meses (T2) | Retorno 18 meses (T3) | Retorno 24 meses (T4) | Retorno 30 meses (T5) |
| Máximo | 341,30 | 442,10 | 65,44 | 25,27 | 19,13 | 10,11 |
| **GRO alpha** | | | | | | |
| Média (desvio padrão) | 7,90 (±48,20) | 7,01 (±24,78) | 2,21 (±2,70) | 2,62 (±4,07) | 1,92 (±2,77) | 2,27 (±3,06) |
| Mediana (P25-P75) | 1,79 (0,73-4,02) | 2,37 (0,84-6,26) | 1,27 (0,82-2,22) | 1,31 (0,57-2,54) | 1,17 (0,50-2,14) | 1,03 (0,47-4,68) |
| Mínimo | 0,00 | 0,00 | 0,28 | 0,33 | 0,28 | 0,33 |
| Máximo | 690,10 | 240,00 | 13,83 | 20,25 | 17,42 | 7,66 |
| **SDF-1 alpha** | | | | | | |
| Mediana (P25-P75) | 38,0 (18,24-73,92) | 77,19 (26,70-133,40) | 32,15 (18,96-51,88) | 24,42 (11,07-61,16) | 27,97 (15,78-47,91) | 17,63 (1,13-26,70) |
| Mínimo | 0,00 | 0,00 | 0,72 | 0,00 | 2,41 | 0,20 |
| Máximo | 5496,00 | 382,30 | 3003,00 | 159,10 | 134,30 | 32,85 |
| Média (desvio padrão) | 105,80 (±432,10) | 98,02 (±83,93) | 69,04 (±296,20) | 35,53 (±34,15) | 36,59 (±32,04) | 14,66 (±13,62) |

**Tabela 05.** Fatores de crescimento (pg/mL) ao longo do tempo.

| FATORES DE CRESCIMENTO | TEMPO | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Entrada (T0) | Retorno 06 meses (T1) | Retorno 12 meses (T2) | Retorno 18 meses (T3) | Retorno 24 meses (T4) | Retorno 30 meses (T5) |
| **BDNF** | | | | | | |
| Média (desvio padrão) | 7,13 (±62,28) | 2,65 (±8,05) | 1,11 (±1,67) | 1,27 (±1,83) | 0,56 (±0,86) | 0,26 (±0,39) |
| Mediana (P25-P75) | 0,72 (0,23-2,12) | 0,90 (0,29-2,31) | 0,54 (0,30-1,39) | 0,38 (0,24-1,61) | 0,19 (0,09-0,79) | 0,10 (0,03-0,56) |
| Mínimo | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,11 | 0,00 | 0,00 |
| Máximo | 910,20 | 74,22 | 14,15 | 7,26 | 4,19 | 0,94 |
| **EGF** | | | | | | |
| Média (desvio padrão) | 30,23 (±75,22) | 29,17 (±68,69) | 14,69 (±19,49) | 21,30 (±38,71) | 15,16 (±22,99) | 16,43 (±26,19) |
| Mediana (P25-P75) | 9,58 (4,23-25,71) | 8,97 (2,48-27,05) | 7,38 (4,52-14,33) | 8,84 (3,99-27,46) | 6,65 (4,13-18,05) | 5,93 (3,13-34,97) |
| Mínimo | 0,00 | 0,00 | 1,01 | 1,98 | 2,12 | 3,13 |
| Máximo | 536,10 | 496,20 | 105,70 | 215,50 | 140,30 | 63,19 |
| **FGF-2** | | | | | | |
| Média (desvio padrão) | 28,36 (±184,10) | 23,66 (±131,90) | 8,17 (±9,27) | 8,99 (±19,39) | 7,32 (±4,36) | 6,23 (±2,49) |
| Mediana (P25-P75) | 5,59 (2,16-10,84) | 2,84 (0,72-7,17) | 5,24 (3,60-7,83) | 3,45 (2,70-6,71) | 6,01 (4,78-7,30) | 5,24 (4,61-8,24) |

| FATORES DE CRESCIMENTO | TEMPO | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Entrada (T0) | Retorno 06 meses (T1) | Retorno 12 meses (T2) | Retorno 18 meses (T3) | Retorno 24 meses (T4) | Retorno 30 meses (T5) |
| Mínimo | 0,00 | 0,00 | 1,34 | 1,80 | 3,68 | 4,31 |
| Máximo | 2608,00 | 1292,00 | 60,27 | 123,40 | 23,44 | 10,52 |
| **HGF** | | | | | | |
| Média (desvio padrão) | 18,63 (±74,87) | 16,58 (±10,60) | 11,34 (±10,70) | 8,99 (±8,75) | 10,64 (±12,77) | 3,69 (±1,48) |
| Mediana (P25-P75) | 9,97 (6,59-16,69) | 13,03 (8,87-21,23) | 8,37 (6,06-13,26) | 6,27 (2,98-10,63) | 7,29 (3,43-10,78) | 3,71 (2,28-5,10) |
| Mínimo | 0,00 | 3,25 | 0,48 | 1,41 | 0,00 | 1,70 |
| Máximo | 1093,00 | 54,05 | 70,53 | 35,58 | 67,30 | 5,36 |
| **LIF** | | | | | | |
| Média (desvio padrão) | 14,61 (±61,68) | 9,72 (±18,03) | 9,59 (±10,99) | 7,01 (±7,01) | 17,70 (±25,05) | 12,40 (±19,27) |
| Mediana (P25-P75) | 6,61 (3,08-11,39) | 4,26 (2,34-9,54) | 6,27 (3,17-11,27) | 4,28 (2,73-8,78) | 9,64 (4,75-20,21) | 4,02 (3,27-25,73) |
| Mínimo | 0,00 | 0,86 | 0,89 | 1,44 | 0,89 | 3,12 |
| Máximo | 885,20 | 117,20 | 70,56 | 31,74 | 139,40 | 46,85 |
| **NGF beta** | | | | | | |
| Média (desvio padrão) | 23,93 (±150,30) | 10,97 (±36,81) | 9,04 (±18,13) | 7,89 (±8,91) | 24,61 (56,93) | 40,47 (±75,27) |

| FATORES DE CRESCIMENTO | TEMPO | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Entrada (T0) | Retorno 06 meses (T1) | Retorno 12 meses (T2) | Retorno 18 meses (T3) | Retorno 24 meses (T4) | Retorno 30 meses (T5) |
| Mediana (P25-P75) | 2,94 (1,49-10,21) | 3,38 (1,21-7,87) | 4,18 (1,52-8,54) | 3,04 (1,16-12,01) | 8,29 (1,48-22,66) | 5,72 (1,79-96,54) |
| Mínimo | 0,37 | 0,49 | 0,35 | 0,26 | 0,42 | 0,42 |
| Máximo | 2151,00 | 342,90 | 151,70 | 33,21 | 354,70 | 174,60 |
| **PDGF-BB** | | | | | | |
| Média (desvio padrão) | 188,70 (±1656,0) | 50,63 (±178,30) | 19,36 (±30,93) | 20,90 (±50,25) | 7,33 (±10,30) | 2,95 (±1,51) |
| Mediana (P25-P75) | 12,29 (5,74-44,03) | 9,54 (4,26-33,59) | 7,13 (3,48-22,31) | 4,32 (2,12-18,16) | 3,51 (2,39-6,86) | 3,26 (1,39-4,35) |
| Mínimo | 0,00 | 0,00 | 0,66 | 1,17 | 0,66 | 1,25 |
| Máximo | 23901,00 | 1572,00 | 166,30 | 303,60 | 48,68 | 4,63 |
| **PIGF-1** | | | | | | |
| Média (desvio padrão) | 5,20 (±32,05) | 3,14 (±3,23) | 3,20 (±3,21) | 2,41 (±2,85) | 1,63 (±1,27) | 1,11 (±0,35) |
| Mediana (P25-P75) | 2,12 (1,29-3,47) | 2,45 (1,62-3,43) | 1,93 (1,39-3,51) | 1,09 (0,48-3,92) | 1,22 (0,97-1,95) | 1,05 (0,80-1,44) |
| Mínimo | 0,00 | 0,63 | 0,61 | 0,29 | 0,56 | 0,61 |
| Máximo | 471,40 | 25,21 | 23,80 | 12,71 | 8,19 | 1,45 |

| FATORES DE CRESCIMENTO | TEMPO | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Entrada (T0) | Retorno 06 meses (T1) | Retorno 12 meses (T2) | Retorno 18 meses (T3) | Retorno 24 meses (T4) | Retorno 30 meses (T5) |
| **SCF** | | | | | | |
| Média (desvio padrão) | 13,69 (±171,30) | 3,12 (±2,38) | 1,62 (±1,29) | 1,44 (±2,11) | 1,56 (±1,83) | 0,33 (±0,21) |
| Mediana (P25-P75) | 1,41 (0,91-2,34) | 2,42 (1,36-4,14) | 1,39 (0,71-2,15) | 0,81 (0,45-1,44) | 0,99 (0,78-1,56) | 0,35 (0,16-0,50) |
| Mínimo | 0,00 | 0,21 | 0,11 | 0,13 | 0,00 | 0,00 |
| Máximo | 2519,00 | 11,65 | 7,37 | 12,13 | 9,52 | 0,58 |
| **VEGF-A** | | | | | | |
| Média (desvio padrão) | 56,83 (±384,90) | 35,17 (±30,88) | 20,92 (±34,98) | 13,78 (±11,90) | 21,88 (±13,43) | 14,85 (±8,13) |
| Mediana (P25-P75) | 17,98 (8,64-35,09) | 26,57 (13,28-49,78) | 12,71 (8,10-24,61) | 9,79 (5,16-22,19) | 17,63 (12,80-30,15) | 13,25 (7,20-23,30) |
| Mínimo | 0,00 | 1,00 | 2,99 | 0,29 | 2,69 | 6,89 |
| Máximo | 5615,00 | 176,10 | 340,00 | 57,65 | 69,97 | 24,31 |
| **VEGF-D** | | | | | | |
| Média (desvio padrão) | 16,20 (±126,20) | 20,26 (±25,16) | 4,50 (±7,21) | 3,06 (±4,37) | 2,88 (±5,04) | 1,76 (±1,93) |
| Mediana (P25-P75) | 2,54 (1,28-6,82) | 9,30 (2,36-31,83) | 1,69 (0,77-5,42) | 1,53 (0,55-3,10) | 1,10 (0,48-2,33) | 1,04 (0,44-3,44) |
| Mínimo | 0,00 | 0,00 | 0,16 | 0,27 | 0,14 | 0,42 |

| FATORES DE CRESCIMENTO | TEMPO | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Entrada (T0) | Retorno 06 meses (T1) | Retorno 12 meses (T2) | Retorno 18 meses (T3) | Retorno 24 meses (T4) | Retorno 30 meses (T5) |
| Máximo | 1850,00 | 138,10 | 55,66 | 21,41 | 25,88 | 5,07 |

**Tabela 06.** Fator estimulante de colônias (pg/mL) ao longo do tempo.

| **FATORES ESTIMULANTE DE COLÔNIAS** | **TEMPO** | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Entrada (T0) | Retorno 06 meses (T1) | Retorno 12 meses (T2) | Retorno 18 meses (T3) | Retorno 24 meses (T4) | Retorno 30 meses (T5) |
| **GM-CSF** | | | | | | |
| Média (desvio padrão) | 113,70 (±389,60) | 122,20 (±238,20) | 49,71 (±52,96) | 57,75 (±64,03) | 36,78 (±42,15) | 32,27 (±28,32) |
| Mediana (P25-P75) | 43,78 (18,42-91,65) | 63,28 (26,93-124,80) | 30,24 (17,83-60,42) | 37,51 (14,43-83,92) | 22,56 (11,92-48,06) | 25,03 (13,53-54,63) |
| Mínimo | 0,00 | 1,00 | 7,65 | 0,00 | 3,42 | 10,15 |
| Máximo | 4713,00 | 2067,00 | 360,30 | 230,50 | 218,50 | 81,37 |

**Tabela 07.** Interferons (pg/mL) ao longo do tempo.

| **INTERFERONS** | **TEMPO** | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Entrada (T0) | Retorno 06 meses (T1) | Retorno 12 meses (T2) | Retorno 18 meses (T3) | Retorno 24 meses (T4) | Retorno 30 meses (T5) |
| **IFN alpha** | | | | | | |
| Média (desvio padrão) | 1,18 (±7,47) | 1,14 (±1,86) | 0,76 (±1,24) | 0,85 (±1,41) | 0,69 (±0,88) | 0,61 (±0,79) |
| Mediana (P25-P75) | 0,34 (0,16-0,83) | 0,50 (0,28-1,21) | 0,39 (0,21-0,74) | 0,32 (0,19-0,78) | 0,33 (0,15-0,86) | 0,34 (0,16-1,19) |
| Mínimo | 0,01 | 0,00 | 0,05 | 0,11 | 0,06 | 0,08 |
| Máximo | 109,60 | 13,79 | 9,15 | 7,09 | 3,83 | 2,01 |
| **IFN gamma** | | | | | | |
| Média (desvio padrão) | 7981 (±117167,0) | 15,23 (±54,37) | 6,02 (±8,82) | 8,33 (±17,83) | 2,32 (±4,72) | 0,57 (±0,67) |
| Mediana (P25-P75) | 4,17 (1,49-8,65) | 5,95 (3,62-10,55) | 3,09 (1,40-7,73) | 2,12 (1,20-8,17) | 0,77 (0,04-1,88) | 0,31 (0-1,27) |
| Mínimo | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,73 | 0,00 | 0,00 |
| Máximo | 1722000,00 | 543,80 | 53,36 | 107,70 | 27,87 | 1,48 |

**Tabela 08.** Fatores de necrose (pg/mL) ao longo do tempo.

| **FATORES DE NECROSE** | **TEMPO** | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Entrada (T0) | Retorno 06 meses (T1) | Retorno 12 meses (T2) | Retorno 18 meses (T3) | Retorno 24 meses (T4) | Retorno 30 meses (T5) |
| **TNF alpha** | | | | | | |
| Média (desvio padrão) | 37,32 (±199,80) | 24,49 (±73,46) | 8,76 (±15,13) | 8,85 (±15,58) | 3,06 (±3,65) | 2,13 (±2,17) |
| Mediana (P25-P75) | 5,19 (2,32-16,67) | 7,62 (3,54-19,24) | 3,45 (1,83-9,09) | 1,89 (1,12-9,37) | 1,96 (1,24-3,09) | 0,95 (0,87-3,98) |
| Mínimo | 0,32 | 0,53 | 0,63 | 0,65 | 0,63 | 0,79 |
| Máximo | 2285,00 | 699,10 | 101,60 | 76,19 | 19,33 | 5,91 |
| **TNF beta** | | | | | | |
| Média (desvio padrão) | 152,80 (±1711,0) | 64,86 (±269,30 | 24,38 (±45,17) | 37,07 (±85,56) | 5,54 (±5,71) | 6,85 (±6,36) |
| Mediana (P25-P75) | 8,18 (3,19-26,74) | 13,95 (3,70-45,92) | 8,16 (3,91-18,31) | 5,16 (4,06-41,18) | 4,24 (2,23-6,28) | 3,71 (2,71-12,57) |
| Mínimo | 0,00 | 0,00 | 0,75 | 1,61 | 0,75 | 2,14 |
| Máximo | 25087,00 | 2550,00 | 284,60 | 451,20 | 31,34 | 17,65 |

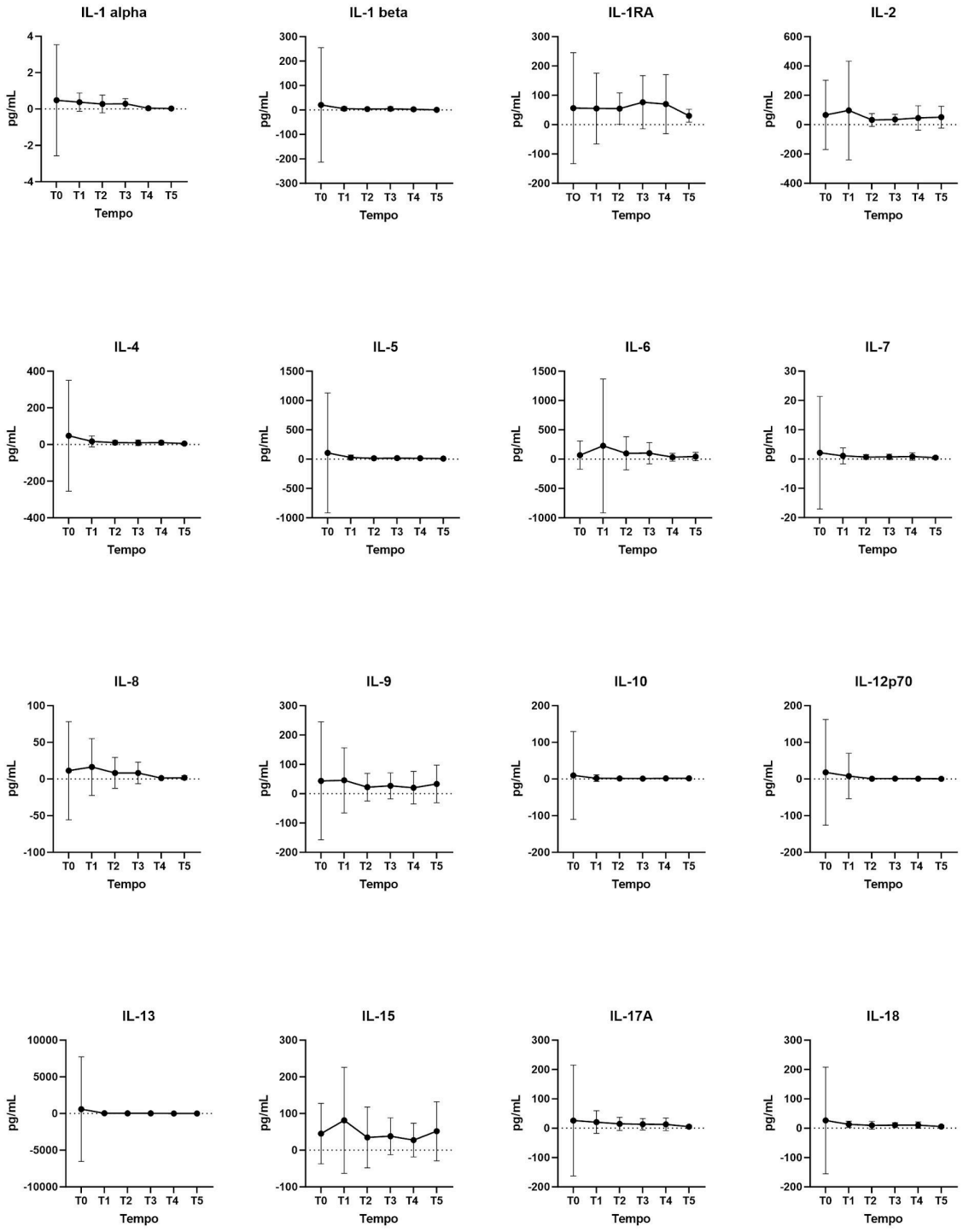


**Figura 06.** Gráficos de média e desvio padrão das citocinas ao longo do tempo.

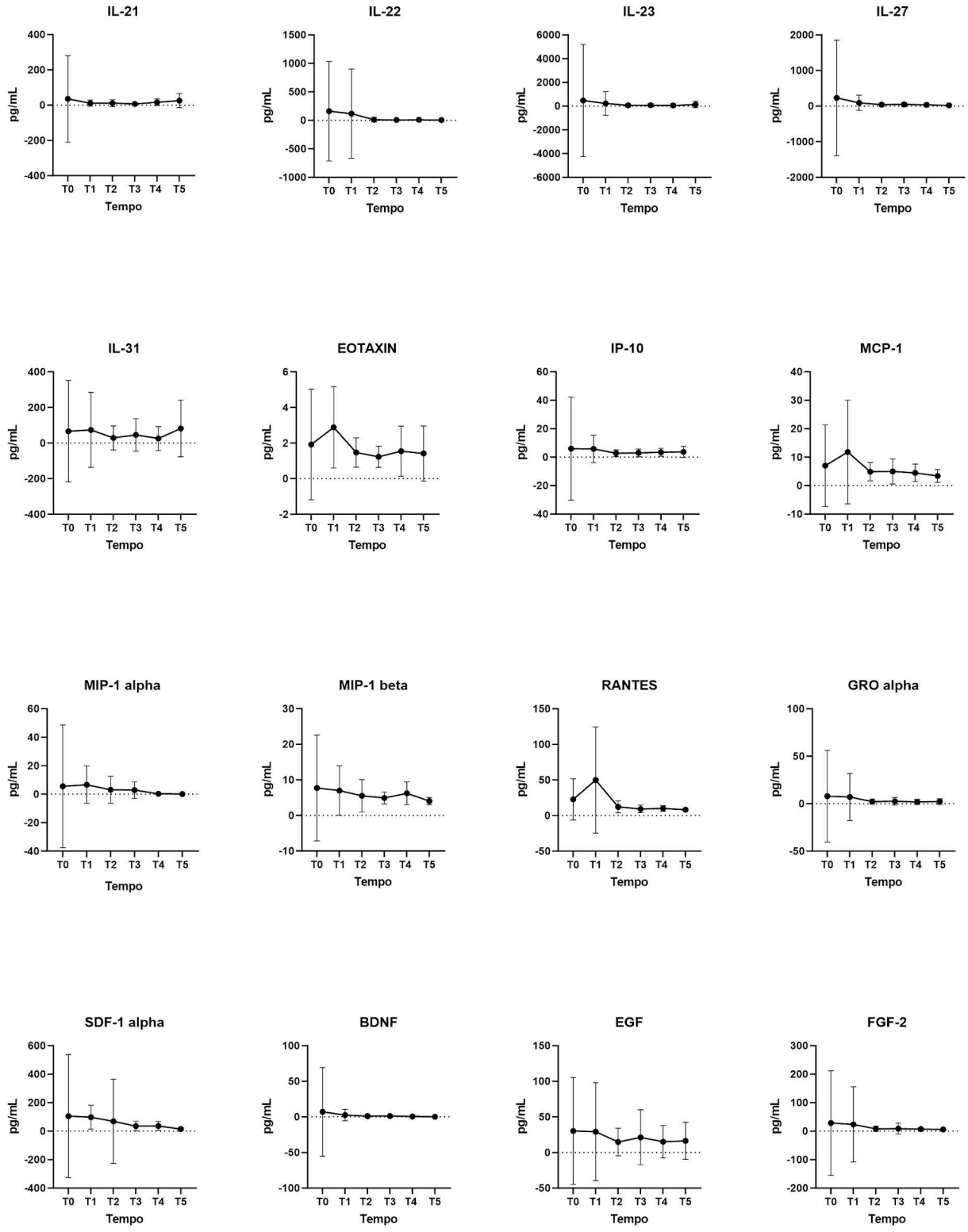


**Figura 07.** Gráficos de média e desvio padrão das citocinas ao longo do tempo.

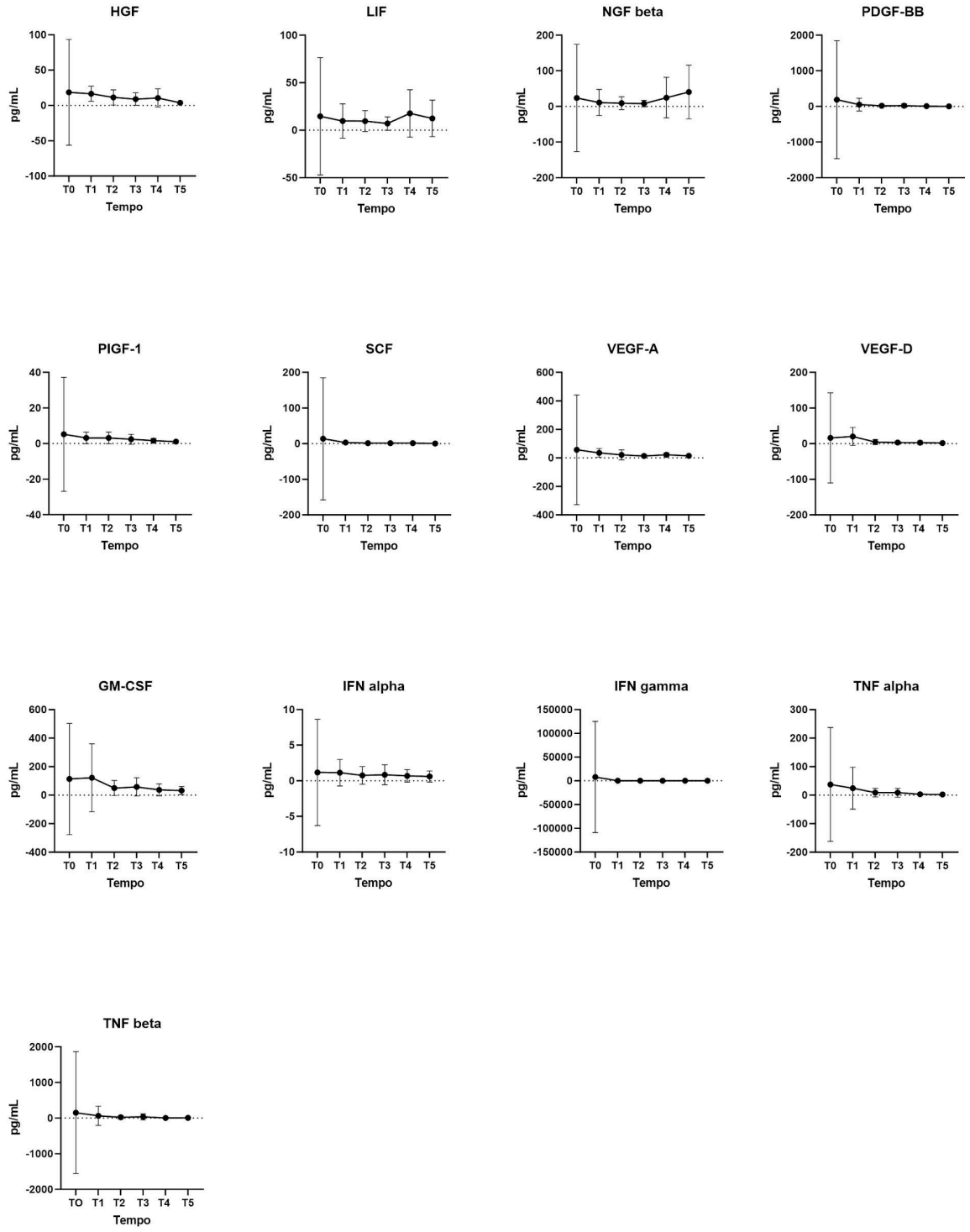


**Figura 08.** Gráficos de média e desvio padrão das citocinas ao longo do tempo.

### 6.4. Relação gênero *versus* citocinas ao longo do tempo

Para investigar a relação entre gênero e os níveis de citocinas ao longo do tempo, empregou-se uma análise ANOVA de dois fatores (two-way ANOVA). A escolha do two-way ANOVA para esta análise estatística foi baseada na necessidade de avaliar a interação entre duas variáveis independentes: tempo e sexo. Este método é apropriado para investigar se as variações nos níveis de citocinas ao longo do tempo diferem entre homens e mulheres. O two-way ANOVA permite uma análise robusta dessas interações, identificando se cada fator isoladamente ou suas interações contribuem significativamente para as mudanças nos níveis de citocinas. Aplicou-se o teste post-hoc de Tukey para identificar os intervalos de tempo entre os quais as diferenças eram significativas.

Os resultados do two-way ANOVA revelaram diferenças significativas nos níveis de citocinas entre os sexos ao longo do tempo, particularmente para a quimiocina RANTES ($p=0,0226$) no tempo T1. Além disso, na comparação intragrupo entre os intervalos de coleta, RANTES apresentou os seguintes resultados: T0 vs T1 ($p<0,0001$), T1 vs T2 ($p<0,0001$), T1 vs T3 ($p<0,0001$), e T1 vs T4 ($p<0,0001$) no grupo feminino. Adicionalmente, Eotaxin mostrou variações significativas ao longo do tempo apenas no grupo feminino: T0 vs T1 ($p=0,0316$), T1 vs T2 ($p=0,0005$), e T1 vs T3 ($p=0,0104$). MCP-1 também apresentou diferença significativa entre T1 e T2 ($p=0,0178$) no grupo feminino. Esses achados indicam que a resposta imunológica pós-COVID-19 pode ser modulada pelo sexo, influenciando potencialmente os desfechos inflamatórios e cognitivos.

A Tabela 09 apresenta os valores de p obtidos na análise ANOVA de dois fatores, enquanto os gráficos a seguir (Figura 09) destacam os valores de p significativos encontrados no teste de Tukey para as citocinas que apresentaram variações estatísticas relevantes.

**Tabela 09.** Valores de p obtidos na análise two-way ANOVA na relação gênero e citocinas ao longo do tempo.

| Citocinas | Interação Sexo x Tempo | Tempo | Sexo |
|---|---|---|---|
| **BDNF** | p=0,9912 | p=0,9643 | p=0,9403 |
| **EGF** | p=0,4274 | p=0,3548 | p=0,7325 |
| **EOTAXIN (CCL11)** | p=0,9148 | p=0,0057 | p=0,4099 |
| **FGF-2** | p=0,6017 | p=0,8201 | p=0,8218 |
| **GM-CSF** | p=0,9667 | p=0,2984 | p=0,7192 |
| **GRO alpha (CXCL1)** | p=0,7866 | p=0,8390 | p=0,9322 |
| **HGF** | p=0,9901 | p=0,9018 | p=0,9784 |
| **IFN alpha** | p=0,9937 | p=0,9981 | p=0,9544 |
| **IFN gamma** | p=0,9951 | p=0,9951 | p=0,9154 |
| **IL-1 alpha** | p=0,9980 | p=0,9081 | p=0,9409 |
| **IL-1 beta** | p=0,9958 | p=0,9933 | p=0,8952 |
| **IL-10** | p=0,9962 | p=0,9947 | p=0,9074 |
| **IL-12p70** | p=0,9805 | p=0,9553 | p=0,8222 |
| **IL-13** | p=0,5711 | p=0,4317 | p=0,7346 |
| **IL-15** | p=0,8791 | p=0,1024 | p=0,7258 |
| **IL-17A** | p=0,9964 | p=0,9942 | p=0,9660 |
| **IL-18** | p=0,9991 | p=0,9603 | p=0,9312 |
| **IL-1RA** | p=0,9041 | p=0,9612 | p=0,4943 |
| **IL-2** | p=0,7505 | p=0,3028 | p=0,8939 |
| **IL-21** | p=0,9970 | p=0,9336 | p=0,8605 |
| **IL-22** | p=0,9574 | p=0,4108 | p=0,9464 |
| **IL-23** | p=0,9603 | p=0,9858 | p=0,9732 |

| Citocinas | Interação Sexo x Tempo | Tempo | Sexo |
|---|---|---|---|
| **IL-27** | p=0,9948 | p=0,8980 | p=0,9676 |
| **IL-31** | p=0,9865 | p=0,8154 | p=0,8118 |
| **IL-4** | p=0,9875 | p=0,8919 | p=0,8861 |
| **IL-5** | p=0,9870 | p=0,9852 | p=0,8955 |
| **IL-6** | p=0,9109 | p=0,7012 | p=0,9416 |
| **IL-7** | p=0,9953 | p=0,9949 | p=0,8933 |
| **IL-8** | p=0,9930 | p=0,7626 | p=0,8875 |
| **IL-9** | p=0,9920 | p=0,8518 | p=0,8988 |
| **IP-10** | p=0,9965 | p=0,9821 | p=0,8973 |
| **LIF** | p=0,9832 | p=0,9312 | p=0,7793 |
| **MCP-1** | p=0,9776 | p=0,0038 | p=0,6948 |
| **MIP-1 alpha** | p=0,9952 | p=0,9627 | p=0,8500 |
| **MIP-1 beta** | p=0,8260 | p=0,7332 | p=0,9498 |
| **NGF beta** | p=0,9968 | p=0,9274 | p=0,9580 |
| **PDGF-BB** | p=0,9957 | p=0,9370 | p=0,9951 |
| **PlGF-1** | p=0,9991 | p=0,9597 | p=0,9943 |
| **RANTES** | p=0,5460 | p<0,0001 | p=0,6673 |
| **SCF** | p=0,9953 | p=0,9948 | p=0,9167 |
| **SDF-1 alpha** | p=0,5445 | p=0,7004 | p=0,8595 |
| **TNF alpha** | p=0,9919 | p=0,4586 | p=0,7642 |
| **TNF beta** | p=0,6301 | p=0,5460 | p=0,6563 |
| **VEGF-A** | p=0,9964 | p=0,9587 | p=0,9257 |
| **VEGF-D** | p=0,9947 | p=0,8944 | p=0,7720 |

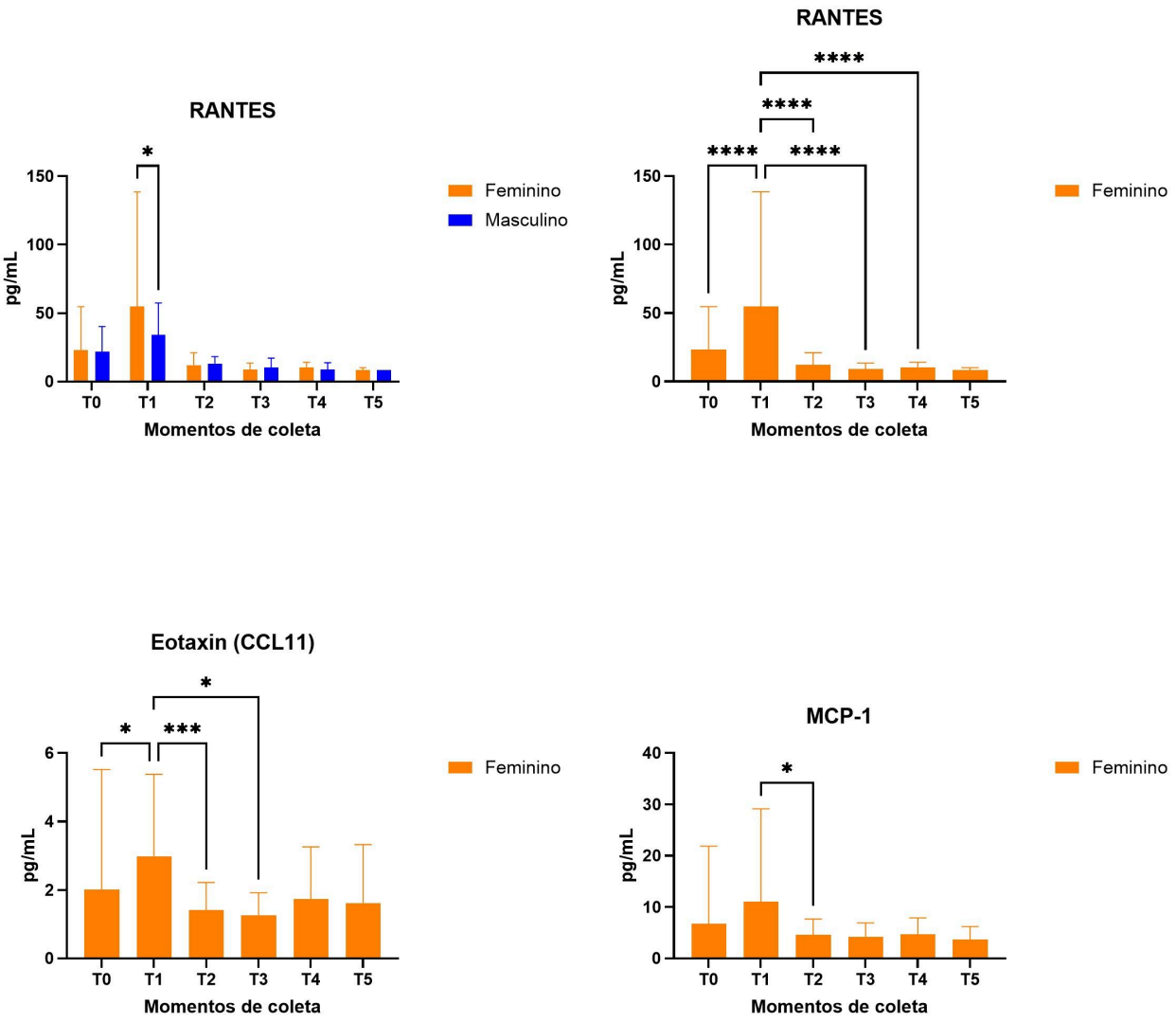


**Figura 09.** Quimiocinas com valores de p significativos no teste de Tukey na análise entre gênero e citocinas.

### 6.5. Relação idade *versus* citocinas ao longo do tempo

Para examinar a relação entre a idade dos participantes e os níveis de citocinas ao longo do tempo, utilizou-se um teste ANOVA de dois fatores, transformando a variável independente “idade” em categórica. Para essa categorização, estabeleceu-se um ponto de corte de 40 anos, com base em

evidências científicas que associam idade e resposta inflamatória em infecções virais, incluindo COVID-19. Estudos demonstraram que a idade pode influenciar significativamente os níveis de marcadores inflamatórios, com mudanças notáveis observadas em indivíduos acima dos 40 anos (Greene et al., 2024). Dessa forma, os participantes foram divididos em dois grupos: o Grupo 01, incluindo aqueles com idade abaixo de 40 anos, e o Grupo 02, composto por aqueles com idade maior ou igual a 40 anos. A tabela a seguir (Tabela 10) mostra o número de participantes em cada grupo, em cada momento de coleta de dados.

**Tabela 10.** Divisão de grupos de acordo com a faixa etária.

| Ponto de corte (anos) | Grupo 01 Faixa etária | Grupo 02 Faixa etária | Tempo | Grupo 01 - N | Grupo 02 - N |
|---|---|---|---|---|---|
| 40 | 20-40 | 41-60 | T0 | 118 | 98 |
| | 20-40 | 41-60 | T1 | 61 | 41 |
| | 23-40 | 41-59 | T2 | 49 | 52 |
| | 24-40 | 41-59 | T3 | 22 | 19 |
| | 24-40 | 41-59 | T4 | 24 | 21 |
| | 31-40 | 41-50 | T5 | 3 | 2 |

Ao analisar a relação entre o tempo e os níveis de citocinas baseados na idade dos participantes, seis citocinas apresentaram valores significativos: Eotaxin ($p=0,0249$), GM-CSF ($p=0,0051$), IL-31 ($p=0,0490$), IL-4 ($p=0,0172$), IL-6 ($p=0,0399$) e TNF alpha ($p=0,0078$). Observou-se que GM-CSF, IL-31, IL-4 e TNF alpha apresentaram valores mais altos no grupo 01 (<40 anos) no início do estudo (T0), período em que os participantes estavam entre três e seis meses após a recuperação da infecção aguda de COVID-19. A quimiocina Eotaxin foi mais alta no grupo 02 (>41 anos) na avaliação de seis meses (T1), aproximadamente 12 meses após a recuperação inicial da COVID-19. Já a citocina IL-6 foi maior no grupo 01, também no tempo T1.

Ao analisar a relação do tempo intragrupo, quatro citocinas apresentaram valores de p significativos em função do tempo: Eotaxin ($p<0,0001$), IL-15 ($p=0,0097$), MCP-1 ($p=0,0004$) e RANTES ($p<0,0001$). Após a análise two-way

ANOVA, realizou-se o teste post-hoc de Tukey para identificar os intervalos de tempo nos quais as diferenças eram significativas.

No grupo 02 (>41 anos), o teste de Tukey revelou diferenças significativas para a quimiocina Eotaxin entre T0 e T1 (p<0,0001), T1 e T2 (p<0,0001), T1 e T3 (p=0,0001) e T1 e T4 (p=0,0036). Para a quimiocina MCP-1, as diferenças significativas foram observadas entre T0 e T1 (p=0,0075), T1 e T2 (p=0,0047) e T1 e T4 (p=0,0330) também no grupo 02.

Para a quimiocina RANTES, o teste de Tukey indicou diferenças significativas no grupo 01 nos intervalos T0 e T1 (p<0,0001), T1 e T2 (p<0,0001), T1 e T3 (p=0,0008) e T1 e T4 (p=0,0004). No grupo 02, as diferenças significativas foram encontradas nos tempos T0 e T1 (p=0,0048), T1 e T2 (p<0,0001), T1 e T3 (p=0,0018) e T1 e T4 (p=0,0021). Para a citocina IL-15, o teste de Tukey identificou diferenças significativas em relação ao tempo no grupo 01 entre T1 e T2 (p=0,0419).

A Tabela 11 apresenta os valores de p obtidos na análise, enquanto os gráficos na Figura 08 ilustram as citocinas que exibiram valores de p significativos no teste de Tukey.

**Tabela 11.** Valores de p obtidos na análise two-way ANOVA na relação idade e citocinas ao longo do tempo.

| Citocinas | Interação Idade x Tempo | Tempo | Idade |
|---|---|---|---|
| **BDNF** | p=0,9212 | p=0,8374 | p=0,7735 |
| **EGF** | p=0,7287 | p=0,3284 | p=0,6288 |
| **EOTAXIN (CCL11)** | p=0,0249 | p<0,0001 | p=0,1712 |
| **FGF-2** | p=0,9314 | p=0,8456 | p=0,6149 |
| **GM-CSF** | p=0,0051* | p=0,2860 | p=0,3960 |
| **GRO alpha (CXCL1)** | p=0,9343 | p=0,7486 | p=0,6983 |
| **HGF** | p=0,9519 | p=0,7369 | p=0,6273 |
| **IFN alpha** | p=0,9795 | p=0,9828 | p=0,7675 |
| **IFN gamma** | p=0,9529 | p=0,9530 | p=0,8575 |
| **IL-1 alpha** | p=0,9861 | p=0,8269 | p=0,8541 |

| Citocinas | Interação Idade x Tempo | Tempo | Idade |
|---|---|---|---|
| **IL-1 beta** | p=0,9433 | p=0,9463 | p=0,7959 |
| **IL-10** | p=0,9580 | p=0,9543 | p=0,8467 |
| **IL-12p70** | p=0,9432 | p=0,7292 | p=0,7299 |
| **IL-13** | p=0,9167 | p=0,9076 | p=0,8294 |
| **IL-15** | p=0,7706 | p=0,0097 | p=0,9928 |
| **IL-17A** | p=0,9784 | p=0,9751 | p=0,6756 |
| **IL-18** | p=0,9637 | p=0,8747 | p=0,8622 |
| **IL-1RA** | p=0,7211 | p=0,9402 | p=0,5432 |
| **IL-2** | p=0,6450 | p=0,560 | p=0,6107 |
| **IL-21** | p=0,9397 | p=0,7862 | p=0,9180 |
| **IL-22** | p=0,9673 | p=0,4279 | p=0,7520 |
| **IL-23** | p=0,9435 | p=0,9111 | p=0,8275 |
| **IL-27** | p=0,9291 | p=0,7016 | p=0,7135 |
| **IL-31** | p=0,0490* | p=0,6118 | p=0,9622 |
| **IL-4** | p=0,0172* | p=0,6292 | p=0,6921 |
| **IL-5** | p=0,8924 | p=0,8809 | p=0,7881 |
| **IL-6** | p=0,0399* | p=0,4221 | p=0,5569 |
| **IL-7** | p=0,9753 | p=0,9518 | p=0,8048 |
| **IL-8** | p=0,9883 | p=0,6679 | p=0,5541 |
| **IL-9** | p=0,8755 | p=0,8144 | p=0,8786 |
| **IP-10** | p=0,9088 | p=0,8993 | p=0,9878 |
| **LIF** | p=0,9517 | p=0,7456 | p=0,9807 |
| **MCP-1** | p=0,5615 | p=0,0004 | p=0,8009 |
| **MIP-1 alpha** | p=0,9863 | p=0,8478 | p=0,662 |
| **MIP-1 beta** | p=0,8338 | p=0,4112 | p=0,8593 |

| Citocinas | Interação Idade x Tempo | Tempo | Idade |
|---|---|---|---|
| **NGF beta** | p=0,8424 | p=0,7154 | p=0,5169 |
| **PDGF-BB** | p=0,9094 | p=0,7911 | p=0,7627 |
| **PIGF-1** | p=0,9925 | p=0,8907 | p=0,7055 |
| **RANTES** | p=0,9996 | p=<0,0001 | p=0,8288 |
| **SCF** | p=0,9495 | p=0,9529 | p=0,8430 |
| **SDF-1 alpha** | p=0,8981 | p=0,6017 | p=0,9338 |
| **TNF alpha** | p=0,0078* | p=0,4960 | p=0,5540 |
| **TNF beta** | p=0,9584 | p=0,9446 | p=0,7651 |
| **VEGF-A** | p=0,9318 | p=0,8477 | p=0,9492 |
| **VEGF-D** | p=0,8861 | p=0,6083 | p=0,9773 |

p* = p valor ajustado pelo Teste de Tukey

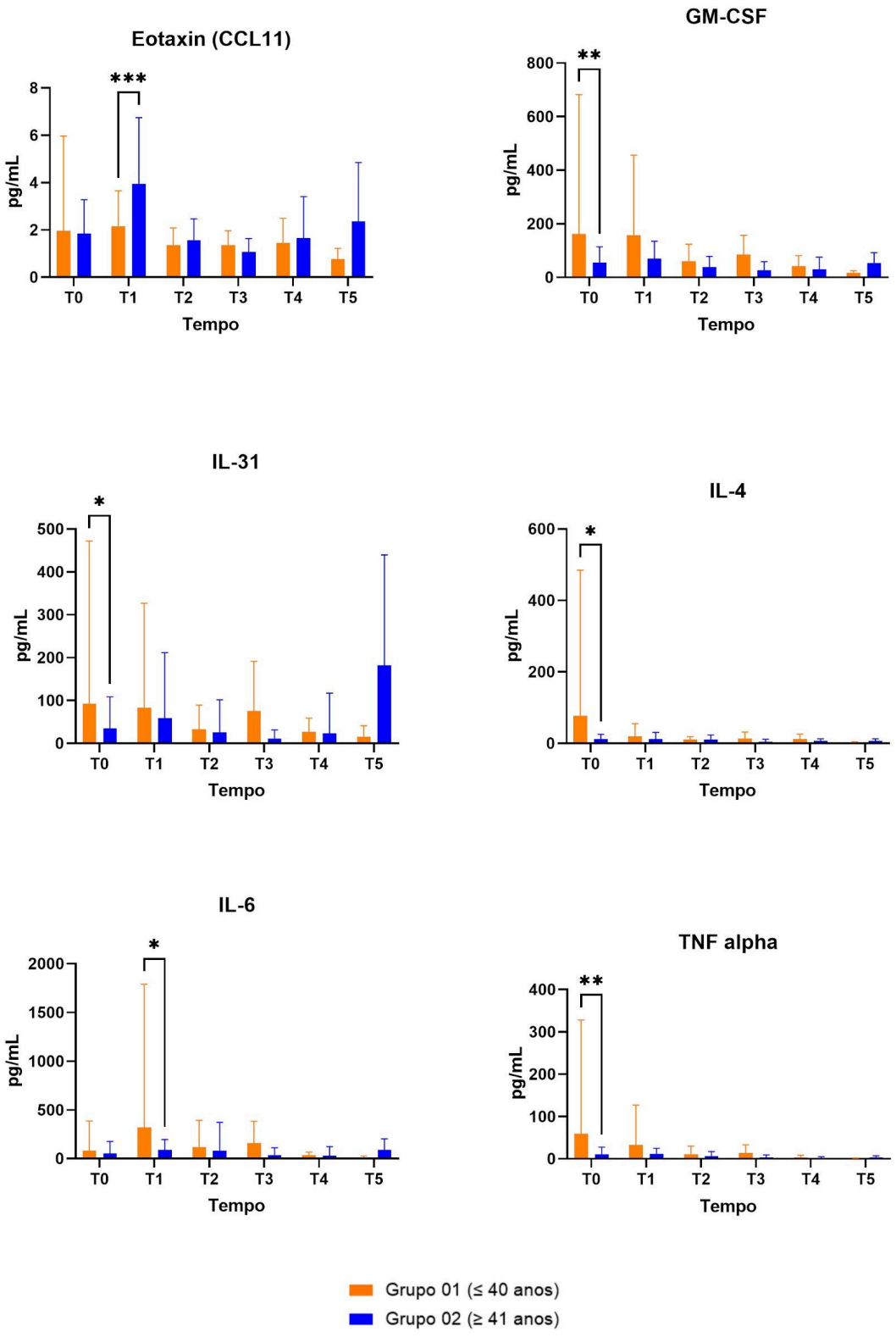


**Figura 10.** Quimiocinas com valores de p significativos no teste de Tukey na análise de faixa etária e citocinas.

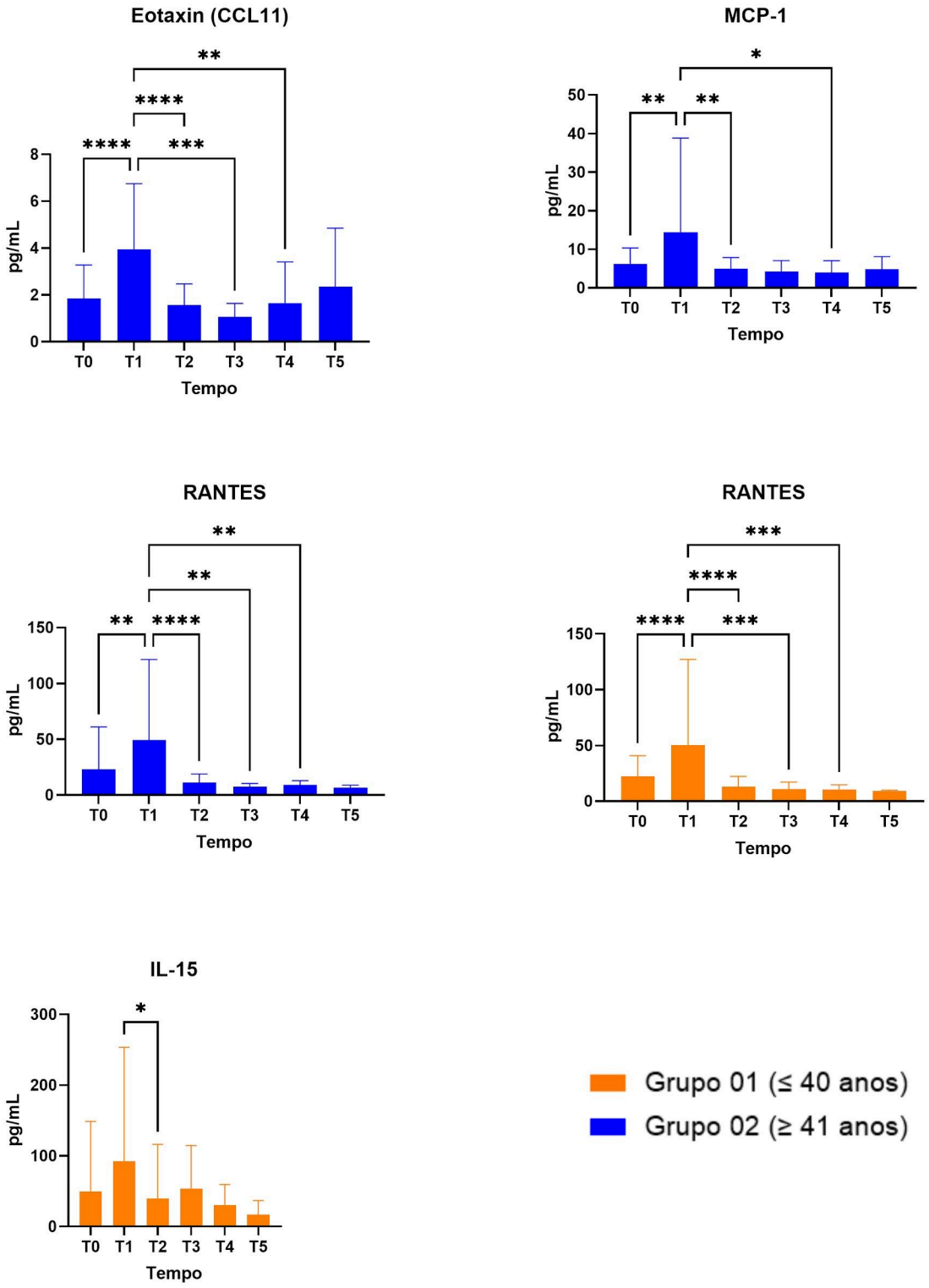


**Figura 11.** Quimiocinas com valores de p significativos no teste de Tukey na análise de faixa etária e citocinas.

## 6.6. Análise pareada

### 6.6.1. Entrada (T0) *versus* Retorno 06 meses (T1)

Para esta análise, selecionamos participantes que, no início do estudo (entrada - T0), exibiram um desempenho cognitivo dentro dos parâmetros normais, mas que, no retorno de seis meses (T1), apresentaram um desempenho abaixo do esperado, sendo assim classificados como com comprometimento cognitivo ("impaired") (n=5). Analogamente, incluímos indivíduos inicialmente classificados com comprometimento cognitivo no T0 que, no retorno de seis meses, mostraram uma melhoria no desempenho, atingindo ou superando a média esperada, e foram, portanto, reclassificados como normais (n=14). A fim de identificar diferenças estatisticamente significativas nos níveis de citocinas entre esses dois grupos, que exibiram mudanças em seu perfil cognitivo, procedeu-se à análise estatística utilizando o teste T, de acordo com a distribuição e características dos dados coletados. Os resultados dessa análise são apresentados na Tabela 12, enquanto as citocinas que exibiram variações significativas são detalhadas nos gráficos das Figuras 07 e 08.

**Tabela 12.** Análise de comparação dos níveis de citocinas entre os indivíduos que tiveram mudança no *status* cognitivo no tempo T0 e T1.

| Citocinas | Média (desvio padrão) (pg/mL) | | Valor estatística T (grau de liberdade - df) | p valor |
|---|---|---|---|---|
| | normal -> impaired | impaired -> normal | | |
| **Interleucinas** | | | | |
| **IL-1 alpha** | 0,32 (±0,29) | 0,29 (±0,24) | t=0,1993, df=17 | 0,4222 |
| **IL-1 beta** | 8,62 (±10,29) | 2,17 (±1,76) | t=2,098, df=14 | 0,0273 |
| **IL-1RA** | 59,65 (±46,32) | 43,54 (±35,37) | t=0,7971, df=16 | 0,2185 |
| **IL-2** | 73,65 (±89,30) | 23,98 (±17,86) | t=1,921, df=15 | 0,037 |
| **IL-4** | 21,19 (±24,36) | 7,85 (±6,93) | t=1,866, df=16 | 0,0402 |
| **IL-5** | 31,01 (±29,13) | 22,15 (±16,28) | t=0,8477, df=17 | 0,2042 |
| **IL-6** | 69,23 (±75,27) | 44,21 (±36,10) | t=0,9463, df=15 | 0,1795 |
| **IL-7** | 1,01 (±0,69) | 0,67 (±0,41) | t=1,291, df=17 | 0,107 |
| **IL-8** | 4,73 (±5,72) | 6,67 (±7,53) | t=0,5172, df=16 | 0,3061 |
| **IL-9** | 35,13 (±48,46) | 7,85 (±8,28) | t=1,885, df=14 | 0,0402 |
| **IL-10** | 1,47 (±1,03) | 0,55 (±0,16) | t=2,843, df=13 | 0,0069 |
| **IL-12p70** | 2,10 (±2,21) | 0,88 (±0,41) | t=2,066, df=17 | 0,0272 |
| **IL-13** | 11,40 (±7,71) | 9,53 (±7,87) | t=0,4084, df=13 | 0,3448 |
| **IL-15** | 52,35 (±56,66) | 32,43 (±26,07) | t=1,045, df=16 | 0,1558 |
| **IL-17A** | 12,78 (±11,80) | 7,48 (±5,49) | t=1,292, df=15 | 0,108 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| **IL-18** | 19,31 (±12,219) | 12,38 (±8,03) | t=1,447, df=17 | 0,083 |
| **IL-21** | 13,72 (±11,59) | 6,67 (±6,72) | t=1,663, df=17 | 0,0574 |
| **IL-22** | 12,27 (±8,50) | 16,51 (±12,81) | t=0,6142, df=15 | 0,2742 |
| **IL-23** | 143,3 (±182,2) | 30,21 (±33,93) | t=2,064, df=14 | 0,029 |
| **IL-27** | 211,6 (±287,4) | 17,34 (±15,87) | t=2,335, df=14 | 0,0175 |
| **IL-31** | 28,46 (±32,10) | 14,02 (±13,28) | t=1,350, df=15 | 0,0986 |
| **Interferons** | | | | |
| **IFN alpha** | 0,87 (±0,68) | 0,45 (±0,34) | t=1,756, df=16 | 0,0491 |
| **IFN gamma** | 14,67 (±16,74) | 3,93 (±2,11) | t=2,184, df=14 | 0,0233 |
| **Fatores de necrose tumoral** | | | | |
| **TNF alpha** | 25,25 (±33,94) | 7,76 (±7,70) | t=1,820, df=16 | 0,0438 |
| **TNF beta** | 34,50 (±47,16) | 20,05 (±19,41) | t=0,9483, df=16 | 0,1785 |
| **Quimiocinas** | | | | |
| **Eotaxin (CCL11)** | 3,87 (±1,97) | 2,22 (±0,57) | t=2,397, df=11 | 0,0177 |
| **IP-10** | 5,39 (±2,71) | 3,42 (±1,43) | t=2,037, df=16 | 0,0293 |
| **MCP-1** | 7,95 (±3,58) | 10,81 (±5,23) | t=1,116, df=16 | 0,1405 |
| **MIP-1 alpha** | 4,16 (±3,69) | 3,97 (±3,93) | t=0,08970, df=17 | 0,4648 |
| **MIP-1 beta** | 5,78 (±3,55) | 6,28 (±2,72) | t=0,3252, df=17 | 0,3745 |
| **RANTES** | 23,35 (±8,74) | 32,66 (±21,12) | t=0,9429, df=17 | 0,1795 |
| **GRO alpha** | 4,79 (±6,41) | 2,78 (±2,94) | t=0,9031, df=15 | 0,1904 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| **SDF-1 alpha** | 103,1 (±104,7) | 74,69 (±52,40) | t=0,7973, df=17 | 0,2181 |
| **Fatores estimulantes de colônias e de crescimento** | | | | |
| **BDNF** | 1,66 (±1,60) | 0,70 (±0,70) | t=1,750, df=15 | 0,0503 |
| **EGF** | 46,32 (±72,66) | 6,60 (±6,35) | t=1,878, df=14 | 0,0407 |
| **FGF-2** | 3,66 (±3,23) | 2,71 (±2,02) | t=0,7123, df=14 | 0,244 |
| **GM-CSF** | 102,2 (±111,9) | 55,22 (±43,67) | t=1,321, df=16 | 0,1025 |
| **HGF** | 27,30 (±15,52) | 16,16 (±7,95) | t=2,087, df=17 | 0,0261 |
| **LIF** | 10,95 (±10,11) | 4,44 (±2,44) | t=2,174, df=15 | 0,0231 |
| **NGF beta** | 12,03 (±14,89) | 2,86 (±2,52) | t=2,061, df=14 | 0,0292 |
| **PDGF-BB** | 5,85 (±2,20) | 7,48 (±6,32) | t=0,4954, df=12 | 0,3146 |
| **PIGF-1** | 2,70 (±2,18) | 2,30 (±1,55) | t=0,4332, df=16 | 0,3353 |
| **SCF** | 2,27 (±1,96) | 2,64 (±1,73) | t=0,3855, df=16 | 0,3525 |
| **VEGF-A** | 25,85 (±21,54) | 25,05 (±18,62) | t=0,07979, df=17 | 0,4687 |
| **VEGF-D** | 24,84 (±32,61) | 17,81 (±16,17) | t=0,6361, df=17 | 0,2666 |

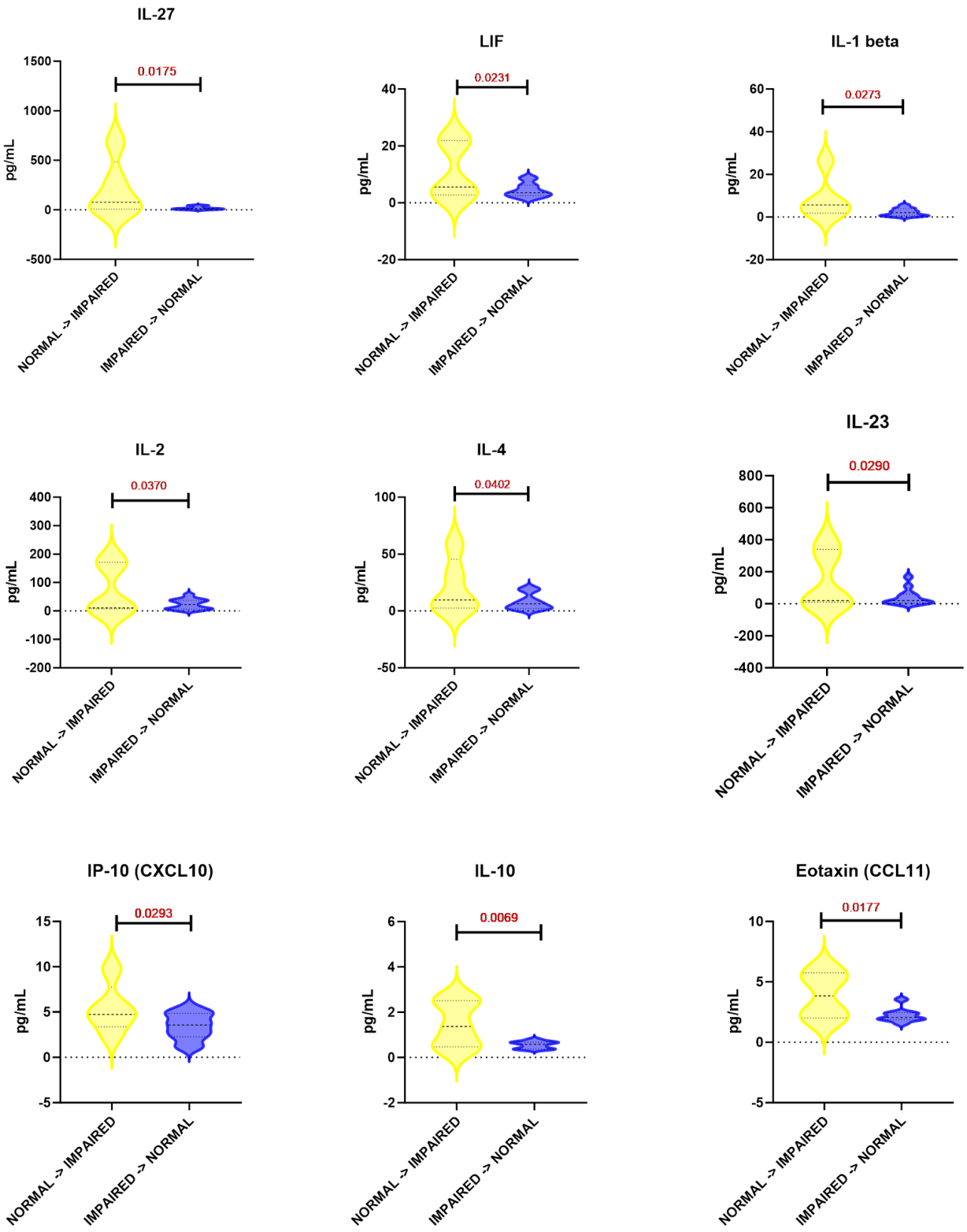


**Figura 12.** Citocinas com valores de p significativos na análise pareada entre T0 e T1.

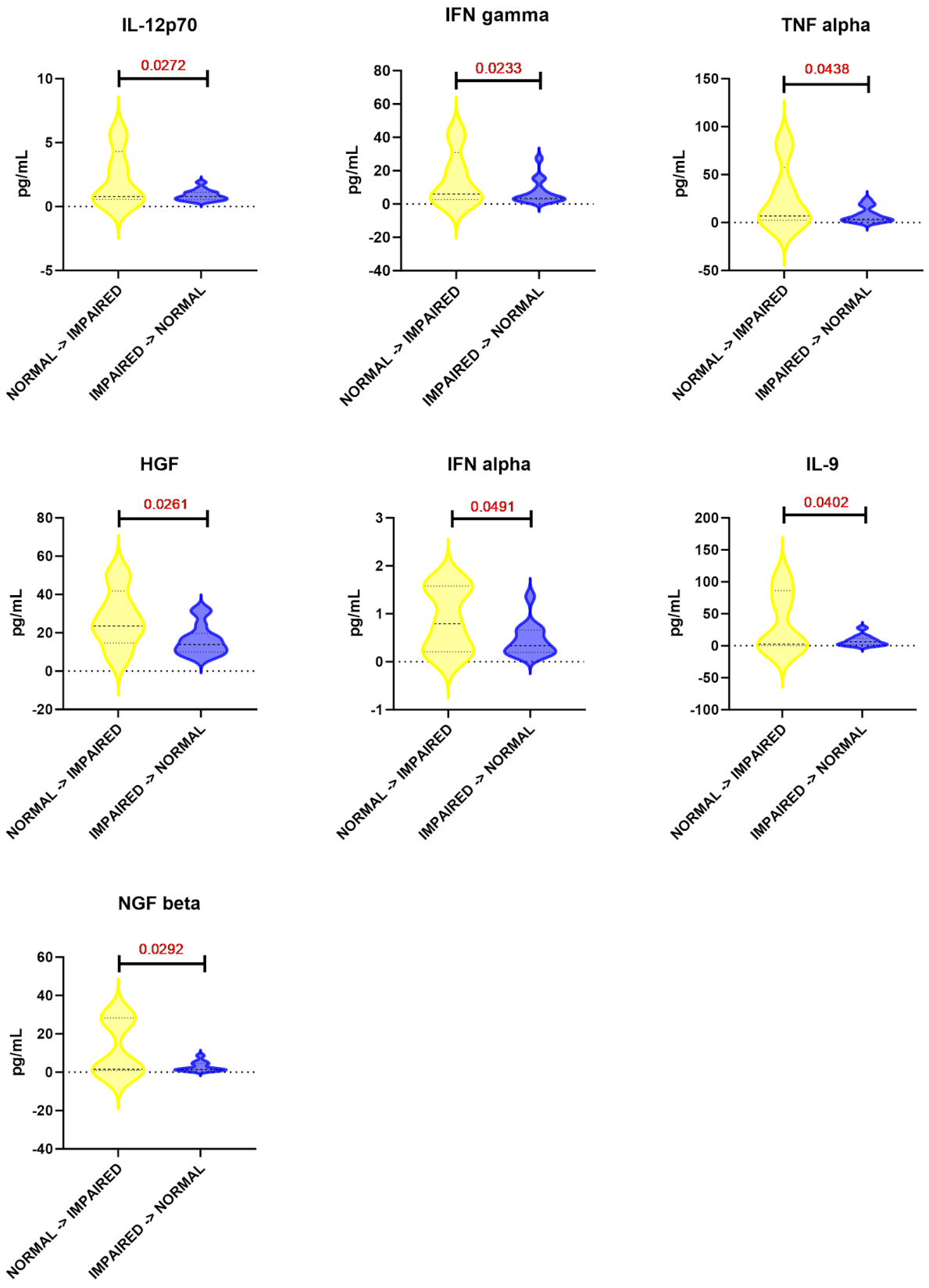


**Figura 13.** Citocinas com valores de p significativos na análise pareada entre T0 e T1.

### 6.6.2. Entrada (T0) versus Retorno de 12 meses (T2)

De forma análoga, conduziu-se uma análise comparativa entre os participantes que, na entrada, apresentaram um desempenho cognitivo dentro dos limites considerados normais, e aqueles que, após doze meses, exibiram comprometimento cognitivo (n=7). Além disso, a análise englobou indivíduos cujo estado cognitivo melhorou de comprometido no início do estudo para normal ao fim de doze meses (n=15). Para identificar diferenças estatisticamente significativas nos níveis de citocinas entre estes grupos, que manifestaram variações no desempenho cognitivo, optou-se por utilizar o teste T, conforme a natureza dos dados coletados. Esta escolha metodológica baseou-se nas propriedades específicas dos dados, visando a máxima precisão analítica. Os resultados dessa análise são apresentados na Tabela 13, enquanto as citocinas que exibiram variações significativas são detalhadas nos gráficos da Figura 14.

**Tabela 13.** Análise de comparação dos níveis de citocinas entre os indivíduos que tiveram mudança no *status* cognitivo no tempo T0 e T2.

| Citocinas | Média (desvio padrão) (pg/mL) | | Valor estatística T (grau de liberdade - df) | p valor |
|---|---|---|---|---|
| | normal -> impaired | impaired -> normal | | |
| **Interleucinas** | | | | |
| **IL-1 alpha** | 0,21 (±0,17) | 0,32 (±0,20) | t=1,139, df=20 | 0,1341 |
| **IL-1 beta** | 2,82 (±1,33) | 2,93 (±1,97) | t=0,1252, df=18 | 0,4509 |
| **IL-1RA** | 44,49 (±28,65) | 26,56 (±15,62) | t=1,831, df=18 | 0,0418 |
| **IL-2** | 11,43 (±4,44) | 26,03 (±23,81) | t=1,470, df=19 | 0,079 |
| **IL-4** | 6,31 (±1,32) | 6,47 (±4,27) | t=0,09831, df=19 | 0,4614 |
| **IL-5** | 10,27 (±6,66) | 9,31 (±7,89) | t=0,2728, df=18 | 0,394 |
| **IL-6** | 18,92 (±11,16) | 77,64 (±85,65) | t=1,648, df=19 | 0,0579 |
| **IL-7** | 0,43 (±0,26) | 0,43 (±0,26) | t=0,02566, df=18 | 0,4899 |
| **IL-8** | 2,06 (±2,04) | 7,35 (±8,49) | t=1,607, df=20 | 0,0619 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| **IL-9** | 3,29 (±2,31) | 16,48 (±18,62) | t=1,702, df=19 | 0,0525 |
| **IL-10** | 1,09 (±0,51) | 0,46 (±0,26) | t=3,497, df=17 | 0,0014 |
| **IL-12p70** | 0,52 (±0,13) | 0,52 (±0,37) | t=0,01387, df=17 | 0,4945 |
| **IL-13** | 12,72 (±10,63) | 14,65 (±8,60) | t=0,4328, df=17 | 0,3353 |
| **IL-15** | 7,24 (±2,50) | 20,92 (±21,17) | t=1,555, df=19 | 0,0682 |
| **IL-17A** | 7,40 (±5,06) | 8,07 (±8,94) | t=0,1852, df=19 | 0,4275 |
| **IL-18** | 5,70 (±2,64) | 3,97 (±4,01) | t=1,026, df=19 | 0,1589 |
| **IL-21** | 5,32 (±3,46) | 3,16 (±1,63) | t=1,874, df=17 | 0,0391 |
| **IL-22** | 4,67 (±3,36) | 3,06 (±3,71) | t=0,9497, df=18 | 0,1774 |
| **IL-23** | 18,85 (±13,71) | 59,0 (±60,04) | t=1,727, df=20 | 0,0498 |
| **IL-27** | 28,24 (±21,68) | 27,42 (±28,03) | t=0,06793, df=19 | 0,4733 |
| **IL-31** | 3,87 (±4,33) | 17,47 (±16,11) | t=2,010, df=19 | 0,0294 |
| **Interferons** | | | | |
| **IFN alpha** | 0,28 (±0,09) | 0,69 (±0,69) | t=1,419, df=19 | 0,086 |
| **IFN gamma** | 5,65 (±4,87) | 6,98 (±5,82) | t=0,5250, df=20 | 0,3027 |
| **Fatores de necrose tumoral** | | | | |
| **TNF alpha** | 5,85 (±4,55) | 7,42 (±5,58) | t=0,6441, df=20 | 0,2634 |
| **TNF beta** | 9,20 (±6,41) | 10,79 (±8,47) | t=0,4304, df=17 | 0,3361 |
| **Quimiocinas** | | | | |
| **Eotaxin (CCL11)** | 2,09 (±0,94) | 0,99 (±0,19) | t=3,777, df=16 | 0,0008 |
| **IP-10** | 2,32 (±0,96) | 1,72 (±1,09) | t=1,224, df=18 | 0,1183 |
| **MCP-1** | 5,58 (±3,66) | 5,14 (±3,23) | t=0,2885, df=20 | 0,388 |
| **MIP-1 alpha** | 1,62 (±1,67) | 1,002 (±0,84) | t=1,083, df=17 | 0,147 |
| **MIP-1 beta** | 5,92 (±2,60) | 4,04 (±2,42) | t=1,653, df=20 | 0,057 |
| **RANTES** | 22,27 (±20,26) | 12,95 (±5,93) | t=1,624, df=19 | 0,0604 |
| **GRO alpha** | 1,07 (±0,54) | 2,45 (±2.29) | t=1,554, df=20 | 0,0679 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| **SDF-1 alpha** | 38,16 (±6,66) | 40,71 (±22,80) | t=0,2653, df=19 | 0,3968 |
| **Fatores estimulantes de colônias e de crescimento** | | | | |
| **BDNF** | 0,75 (±0,47) | 0,87 (±0,81) | t=0,3390, df=19 | 0,3692 |
| **EGF** | 7,25 (±3,31) | 13,28 (±11,17) | t=1,384, df=20 | 0,0908 |
| **FGF-2** | 5,44 (±2,67) | 5,03 (±4,35) | t=0,2286, df=18 | 0,4109 |
| **GM-CSF** | 22,80 (±6,79) | 56,07 (±45,09) | t=1,772, df=19 | 0,0462 |
| **HGF** | 10,87 (±4,30) | 9,53 (±5,52) | t=0,5611, df=19 | 0,2907 |
| **LIF** | 6,56 (±4,65) | 5,36 (±4,09) | t=0,6052, df=19 | 0,2761 |
| **NGF beta** | 2,93 (±2,23) | 4,36 (±3,82) | t=0,9066, df=19 | 0,188 |
| **PDGF-BB** | 9,60 (±8,11) | 19,07 (±17,06) | t=1,384, df=20 | 0,0908 |
| **PlGF-1** | 2,36 (±1,03) | 3,30 (±2,03) | t=1,146, df=20 | 0,1326 |
| **SCF** | 1,37 (±0,73) | 1,51 (±0,96) | t=0,3376, df=19 | 0,3697 |
| **VEGF-A** | 22,46 (±17,26) | 13,06 (±7,28) | t=1,825, df=20 | 0,0415 |
| **VEGF-D** | 9,00 (±9,06) | 2,55 (±2,33) | t=2,555, df=19 | 0,0097 |

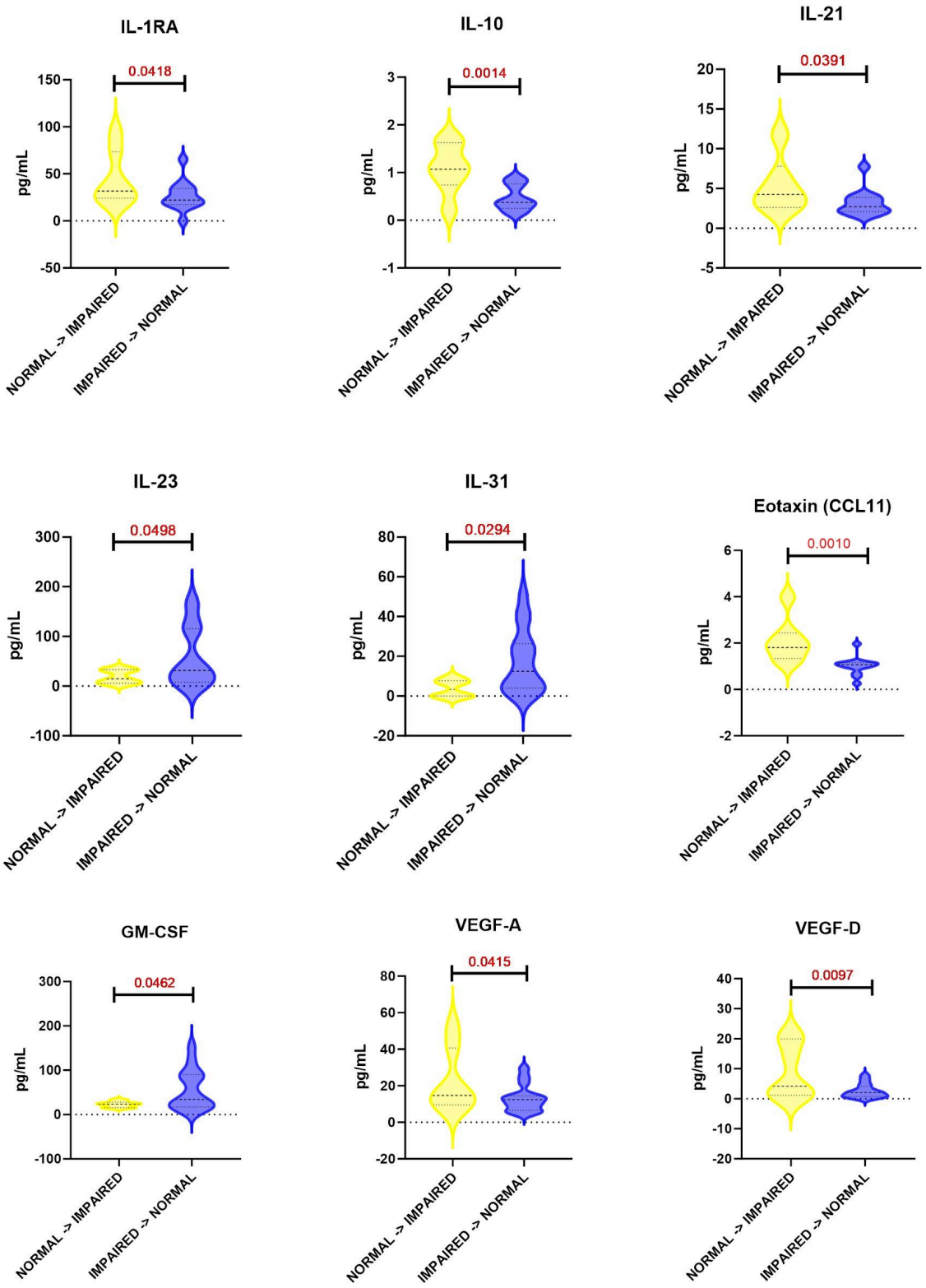


**Figura 14.** Citocinas com valores de p significativos na análise pareada entre T0 e T2.

### 6.6.3. Entrada (T0) versus Retorno de 24 meses (T4)

De maneira semelhante, realizou-se uma análise comparativa focada nos participantes cujo status cognitivo sofreu alterações da entrada até o retorno de vinte e quatro meses. Identificaram-se indivíduos que, inicialmente considerados dentro dos parâmetros normais de desempenho cognitivo, demonstraram comprometimento cognitivo após vinte e quatro meses (n=2). Incluíram-se também aqueles cuja condição cognitiva evoluiu de comprometida no início do estudo para um desempenho normal no mesmo intervalo de vinte e quatro meses (n=8). A fim de avaliar as diferenças estatisticamente significativas nos níveis de citocinas entre esses grupos, que apresentaram mudanças no desempenho cognitivo, adotou-se a utilização do teste T, baseando-se nas características específicas dos dados. Essa escolha metodológica foi determinada pelas propriedades dos dados, buscando alcançar a precisão analítica desejada. Os resultados dessa análise são apresentados na Tabela 14, enquanto as citocinas que exibiram variações significativas são detalhadas nos gráficos da Figura 10, evidenciando a relação entre as alterações cognitivas e as respostas imunológicas no decorrer do estudo.

**Tabela 14.** Análise de comparação dos níveis de citocinas entre os indivíduos que tiveram mudança no *status* cognitivo no tempo T0 e T4.

| **Citocinas** | **Média (desvio padrão) (pg/mL)** | | **Valor estatística T (grau de liberdade - df)** | **p valor** |
|---|---|---|---|---|
| | **normal -> impaired** | **impaired -> normal** | | |
| **Interleucinas** | | | | |
| **IL-1 alpha** | 0,01 (0,0) | 0,02 (0,01) | t=0,8819, df=7 | 0,2035 |
| **IL-1 beta** | 1,11 (0,39) | 1,35 (1,06) | t=0,3093, df=7 | 0,383 |
| **IL-1RA** | 33,73 (0,0) | 62,28 (55,86) | t=0,6911, df=8 | 0,2545 |
| **IL-2** | 272,7 (343,0) | 11,66 (13,63) | t=2,499, df=7 | 0,0205 |
| **IL-4** | 11,11 (8,65) | 6,57 (2,15) | t=1,476, df=7 | 0,0917 |
| **IL-5** | 31,93 (38,28) | 10,96 (11,31) | t=1,543, df=8 | 0,0807 |
| **IL-6** | 224,4 (282,9) | 8,14 (8,14) | t=2,515, df=7 | 0,02 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| **IL-7** | 1,76 (2,05) | 0,55 (0,60) | t=1,664, df=8 | 0,0674 |
| **IL-8** | 5,82 (7,11) | 0,33 (0,28) | t=2,534, df=7 | 0,0195 |
| **IL-9** | 188,8 (250,5) | 3,26 (2,82) | t=2,443, df=7 | 0,0223 |
| **IL-10** | 4,94 (5,77) | 1,13 (0,90) | t=2,031, df=7 | 0,0409 |
| **IL-12p70** | 0,61 (0,41) | 0,46 (0,20) | t=0,7156, df=7 | 0,2487 |
| **IL-13** | 5,83 (3,13) | 4,39 (3,10) | t=0,5874, df=8 | 0,2866 |
| **IL-15** | 161,3 (170,2) | 7,13 (6,43) | t=2,977, df=7 | 0,0103 |
| **IL-17A** | 12,45 (13,98) | 9,91 (10,82) | t=0,2850, df=8 | 0,3914 |
| **IL-18** | 9,03 (10,04) | 9,23 (6,08) | t=0,03747, df=8 | 0,4855 |
| **IL-21** | 67,03 (70,87) | 9,69 (8,43) | t=2,760, df=8 | 0,0123 |
| **IL-22** | 15,15 (16,43) | 7,70 (4,78) | t=1,273, df=8 | 0,1193 |
| **IL-23** | 530,6 (669,3) | 5,19 (6,21) | t=2,589, df=7 | 0,018 |
| **IL-27** | 44,58 (45,04) | 13,36 (9,30) | t=2,041, df=7 | 0,0403 |
| **IL-31** | 231,1 (281,6) | 0,0 (0,0) | t=2,462, df=6 | 0,0245 |
| **Interferons** | | | | |
| **IFN alpha** | 1,82 (2,05) | 0,27 (0,24) | t=2,388, df=7 | 0,0242 |
| **IFN gamma** | 2,64 (3,54) | 0,92 (0,77) | t=1,410, df=7 | 0,1007 |
| **Fatores de necrose tumoral** | | | | |
| **TNF alpha** | 6,81 (6,86) | 1,58 (1,05) | t=2,350, df=7 | 0,0255 |
| **TNF beta** | 18,59 (18,03) | 4,07 (3,19) | t=2,608, df=8 | 0,0156 |
| **Quimiocinas** | | | | |
| **Eotaxin (CCL11)** | 4,57 (4,41) | 1,25 (0,78) | t=2,436, df=8 | 0,0204 |
| **IP-10** | 8,91 (8,84) | 3,35 (2,05) | t=1,917, df=8 | 0,0457 |
| **MCP-1** | 8,14 (5,05) | 3,92 (2,16) | t=1,975, df=8 | 0,0418 |
| **MIP-1 alpha** | 0,17 (0,09) | 0,23 (0,07) | t=0,9809, df=7 | 0,1797 |
| **MIP-1 beta** | 6,12 (2,17) | 5,75 (2,58) | t=0,1873, df=8 | 0,428 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| **RANTES** | 8,68 (2,15) | 9,12 (5,38) | t=0,1095, df=8 | 0,4577 |
| **GRO alpha** | 9,21 (11,60) | 0,70 (0,34) | t=2,416, df=7 | 0,0232 |
| **SDF-1 alpha** | 33,92 (17,20) | 33,14 (18,31) | t=0,05394, df=8 | 0,4792 |
| **Fatores estimulantes de colônias e de crescimento** | | | | |
| **BDNF** | 0,57 (0,11) | 0,13 (0,07) | t=6,279, df=6 | 0,0004 |
| **EGF** | 73,12 (95,02) | 4,97 (1,94) | t=2,149, df=6 | 0,0376 |
| **FGF-2** | 8,82 (5,94) | 5,50 (1,45) | t=1,680, df=8 | 0,0657 |
| **GM-CSF** | 120,8 (138,2) | 24,89 (22,99) | t=2,272, df=8 | 0,0264 |
| **HGF** | 8,90 (2,27) | 11,12 (8,08) | t=0,3687, df=8 | 0,3609 |
| **LIF** | 73,12 (93,67) | 11,19 (10,95) | t=2,260, df=8 | 0,0269 |
| **NGF beta** | 182,5 (242,6) | 2,29 (2,08) | t=2,219, df=6 | 0,0342 |
| **PDGF-BB** | 4,07 (0,79) | 2,94 (1,75) | t=0,8584, df=8 | 0,2078 |
| **PIGF-1** | 1,58 (0,74) | 1,28 (0,38) | t=0,8497, df=8 | 0,2101 |
| **SCF** | 0,94 (0,21) | 1,72 (1,55) | t=0,6767, df=8 | 0,2588 |
| **VEGF-A** | 27,35 (26,80) | 22,06 (10,84) | t=0,4823, df=8 | 0,3213 |
| **VEGF-D** | 1,08 (1,11) | 1,06 (0,89) | t=0,03421, df=8 | 0,4868 |

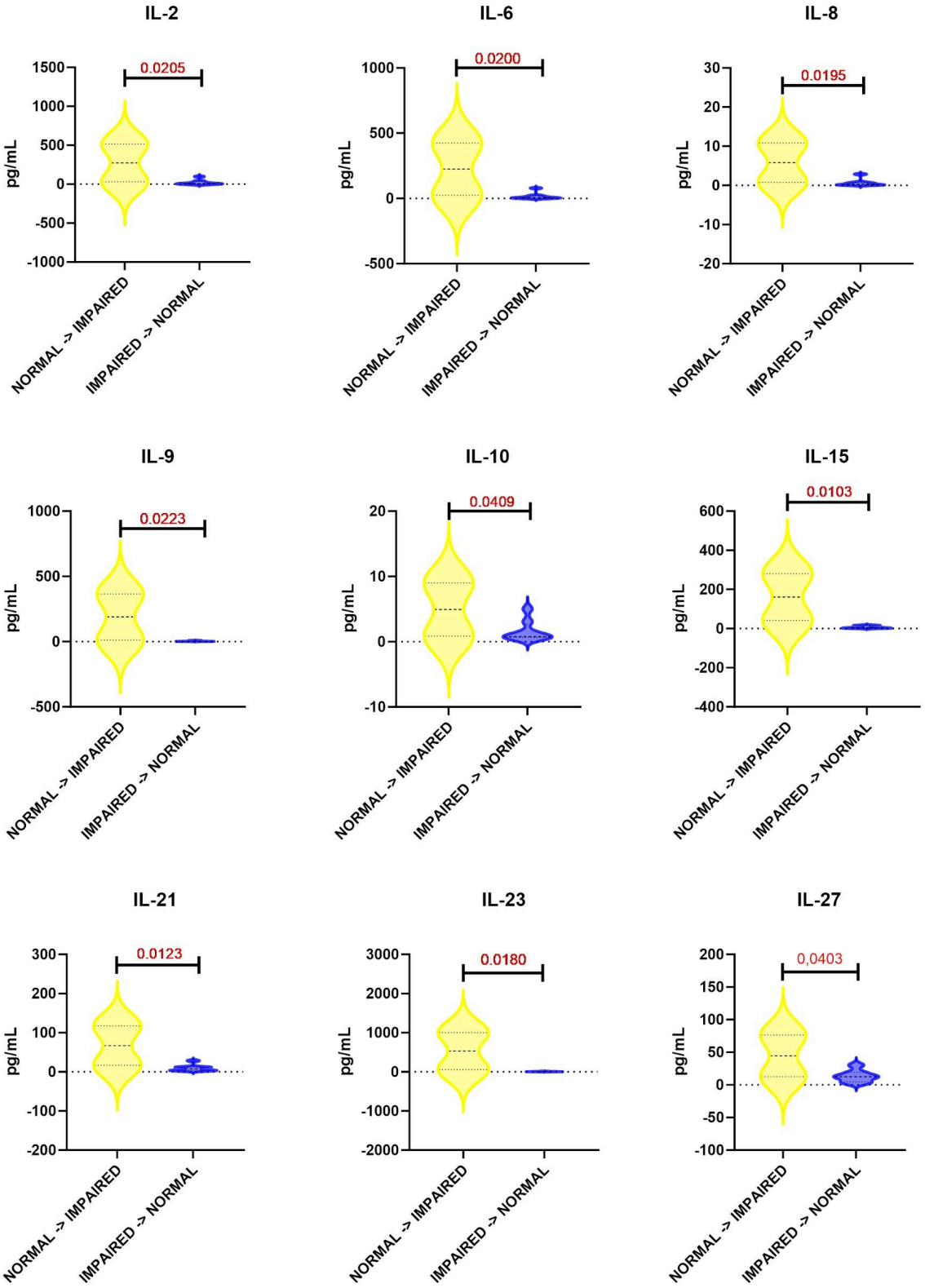


**Figura 15.** Citocinas com valores de p significativos na análise pareada entre T0 e T4.

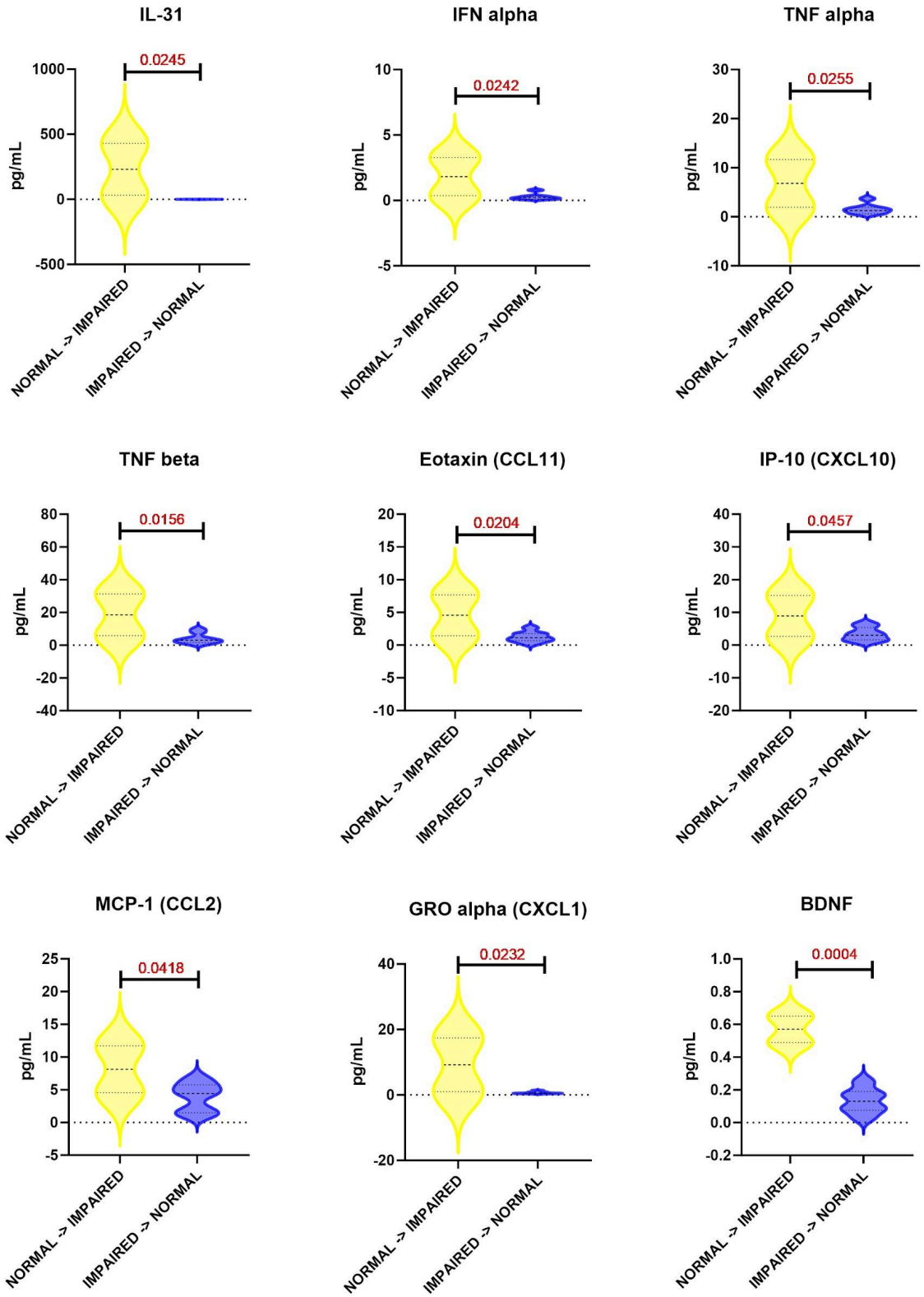


**Figura 16.** Citocinas com valores de p significativos na análise pareada entre T0 e T4.

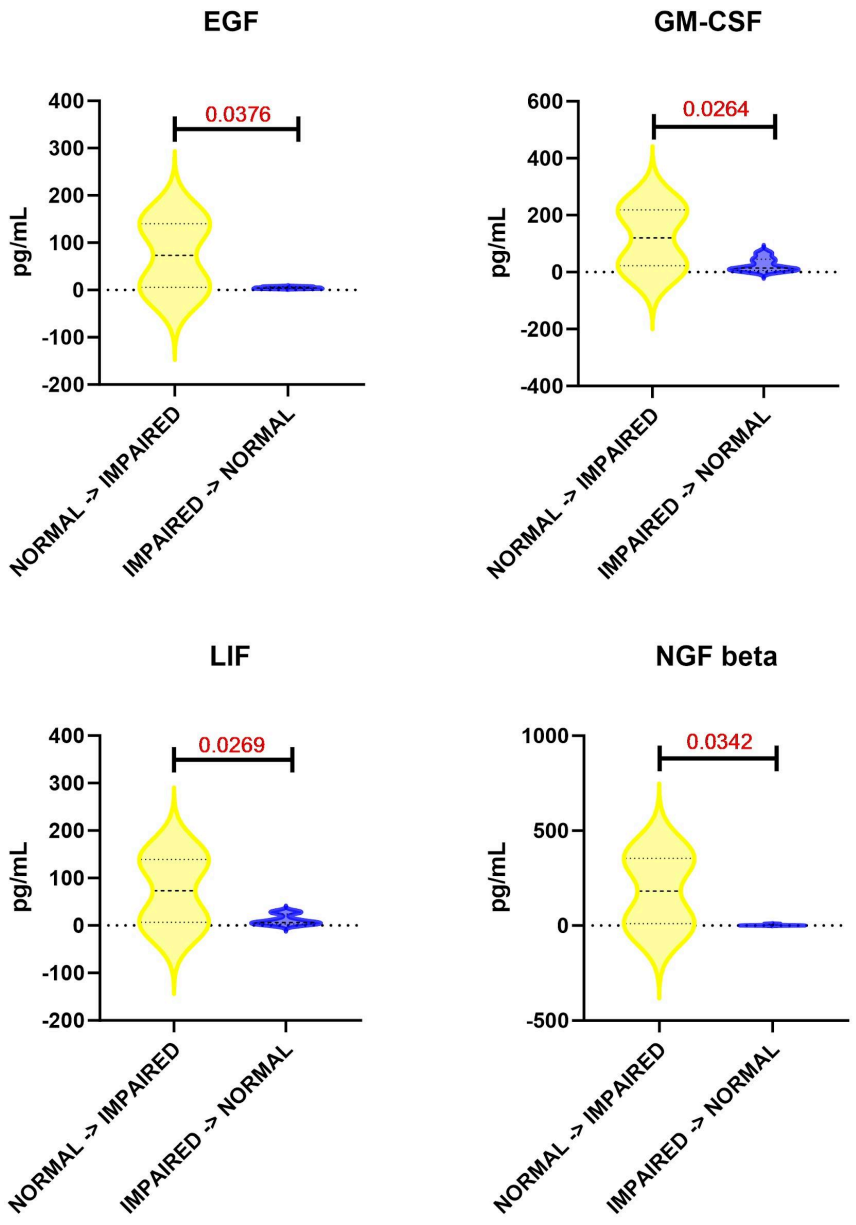


**Figura 17.** Citocinas com valores de p significativos na análise pareada entre T0 e T4.

Não foi possível realizar a análise pareada para identificar relações entre os níveis de citocinas plasmáticas e mudanças no status cognitivo nos momentos T3 (retorno de dezoito meses) e T5 (retorno de trinta meses) devido a limitações decorrentes da adesão dos participantes. No momento T3, a participação foi restrita apenas a indivíduos classificados com desempenho cognitivo normal, resultando na ausência de dados comparativos entre diferentes estados cognitivos. Já no

momento T5, a adesão foi igualmente baixa, contando com apenas cinco participantes, o que não proporcionou um tamanho amostral suficiente para a condução de análises estatísticas robustas.

### 6.7. Predição entre o perfil de citocinas e o desfecho desempenho cognitivo

Realizamos análises de regressão logística binária com todos os indivíduos (n=216), a fim de verificar se os níveis de citocinas plasmáticas, associadas a variáveis de controle como idade, sexo e escolaridade, poderiam influenciar no desfecho do desempenho cognitivo.

A regressão logística foi realizada usando a classificação obtida no teste Cópia da Figura Complexa de Rey-Osterrieth, que avalia a memória visuoespacial, como variável dependente e os níveis de citocinas plasmáticas (pg/mL) como variáveis independentes. Foi utilizado o método de seleção *propositaI*, que é semelhante ao método *backward*, proposto por Hosmer-Lemeshow (Hosmer & Lemeshow, 2004). No modelo inicial foram incluídas somente as variáveis independentes que obtiverem valor de $p < 0,25$ na análise. Na etapa seguinte, as variáveis não significativas e que não provocaram uma grande alteração (mais dos que 20% de mudança) nas estimativas dos coeficientes Beta padronizado (exp(B)) foram removidas do modelo, uma de cada vez. Após verificar todas as variáveis, testou-se o efeito de cada variável que não foi incluída no modelo inicial. Essa etapa foi fundamental para verificar se a variável que sozinha não era significativa apresentava importância na presença de outras variáveis.

O teste de Hosmer-Lemeshow é utilizado para avaliar o ajuste de modelos de regressão logística, verificando se a frequência de eventos esperada pelo modelo corresponde a frequência de eventos observada nos dados (Field, 2017; Lemeshow & Hosmer, 1982). No presente estudo, os resultados do teste indicaram um valor de chi-quadrado ($\chi^2$) de 7,26 com 8 graus de liberdade (df), e um valor de p de 0,509. Diante desse resultado, a hipótese nula não é rejeitada, uma vez que o valor de p é maior que 0.05, indicando que o modelo se ajusta bem aos dados observados. O ajuste adequado do modelo é de grande importância para garantir a precisão das previsões e a validade das conclusões derivadas do modelo (Lemeshow & Hosmer, 1982).

A análise de regressão logística realizada neste estudo revelou um $R^2$ de Nagelkerke de 0,575. O $R^2$ de Nagelkerke, que é uma medida conservadora do ajuste do modelo, indica que 57,5% da variabilidade nos dados pode ser explicada pelas variáveis independentes incluídas no modelo (Field, 2017). Esse valor indica um ajuste moderado a bom do modelo, sugerindo que as variáveis independentes selecionadas contribuem de maneira significativa para prever o desfecho da variável dependente.

A acurácia do modelo de regressão logística foi avaliada utilizando a tabela de classificação, resultando em uma acurácia geral de 89,2%. Isso indica que o modelo classificou corretamente 89,2% dos casos. Além disso, a sensibilidade do modelo, que mede a capacidade de identificar corretamente os casos positivos (desempenho cognitivo alterado), foi de 65,8%. A especificidade do modelo, que mede a capacidade de identificar corretamente os casos negativos (desempenho cognitivo normal), foi de 97,3%. Esses resultados sugerem que, embora o modelo seja altamente eficaz na identificação de casos normais, há espaço para melhorias na detecção de casos alterados. Isso indica que o modelo preditivo de déficit cognitivo baseado nos níveis de citocinas pode ser usado como segundo método de seleção de casos, após um primeiro teste de rastreio para garantir que todos aqueles que apresentam comprometimento cognitivo foram selecionados, como os testes da neuropsicologia (ver Anexo B).

O resultado da análise de regressão logística identificou citocinas e quimiocinas significativas que contribuem para a predição do desempenho cognitivo alterado. Nesse modelo observamos que níveis elevados de IL-1 alpha, IP-10 (CXCL10) e NGF beta estão associadas a um aumento na chance de comprometimento cognitivo, enquanto que níveis elevados de IL-6, IL-21, VEGFD e PIGF-1 estão associadas a uma redução na chance de comprometimento cognitivo (Tabela 15). Esse modelo avalia a contribuição individual de cada citocina para o desfecho comprometimento cognitivo, ajustado para as outras variáveis incluídas no modelo. A significância dessas associações sugere que níveis elevados dessas citocinas estão relacionados com o comprometimento cognitivo, considerando a interação com outras variáveis no modelo.

**Tabela 15.** Modelo de regressão logística das variáveis de perfil inflamatório sobre o desempenho cognitivo.

| $X^2$ | df | p valor | $R^2$ | Variáveis preditoras | exp (B) | p valor |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 7,259 | 8 | 0,509 | 0,575 | Constante | 146.071 | 0,000 |
| | | | | Sexo | 0,438 | 0,186 |
| | | | | Idade | 0,975 | 0,347 |
| | | | | Escolaridade | 0,881 | 0,145 |
| | | | | IL-1 alpha | 5,732 | 0,000 |
| | | | | IP-10 (CXCL10) | 5,083 | 0,006 |
| | | | | NGF beta | 2,922 | 0,002 |
| | | | | VEGF-D | 0,568 | 0,036 |
| | | | | IL-21 | 0,514 | 0,016 |
| | | | | IL-6 | 0,207 | 0,000 |
| | | | | PIGF-1 | 0,125 | 0,001 |

$X^2$ = qui-quadrado; df = graus de liberdade; $R^2$ = R quadrado de Nagelkerke; exp (B) = coeficiente Beta padronizado

Para complementar a análise de regressão logística, realizamos uma análise de rede das citocinas significativas usando o software JASP. Essa abordagem permitiu uma compreensão mais profunda das relações complexas entre esses mediadores inflamatórios e seus possíveis papéis no comprometimento cognitivo pós-COVID. A figura 18 apresenta a visualização das interações entre IL-1 alpha, IP-10, NGF beta, IL-6, IL-21, VEGF-D e PIGF-1.

Os nós representam as citocinas e as linhas indicam as correlações entre elas. A espessura das linhas reflete a força dessas correlações, em que as linhas mais grossas representam correlações mais fortes. As cores das linhas indicam a natureza da correlação, sendo azul para positiva e vermelha para negativa. Observamos que IL-6 e IL-1 alpha apresentam uma interação positiva forte, em que os níveis elevados de uma estão associados a níveis elevados da outra. NGF beta atua como um nó central, indicando sua importância na modulação da resposta

inflamatória. As correlações negativas, como a observada entre NGF beta e IL-1 alpha, indicam que quando os níveis de NGF beta são altos, os níveis de IL-1 alpha tendem a ser baixos, e vice-versa. Isso sugere uma interação regulatória entre essas citocinas.

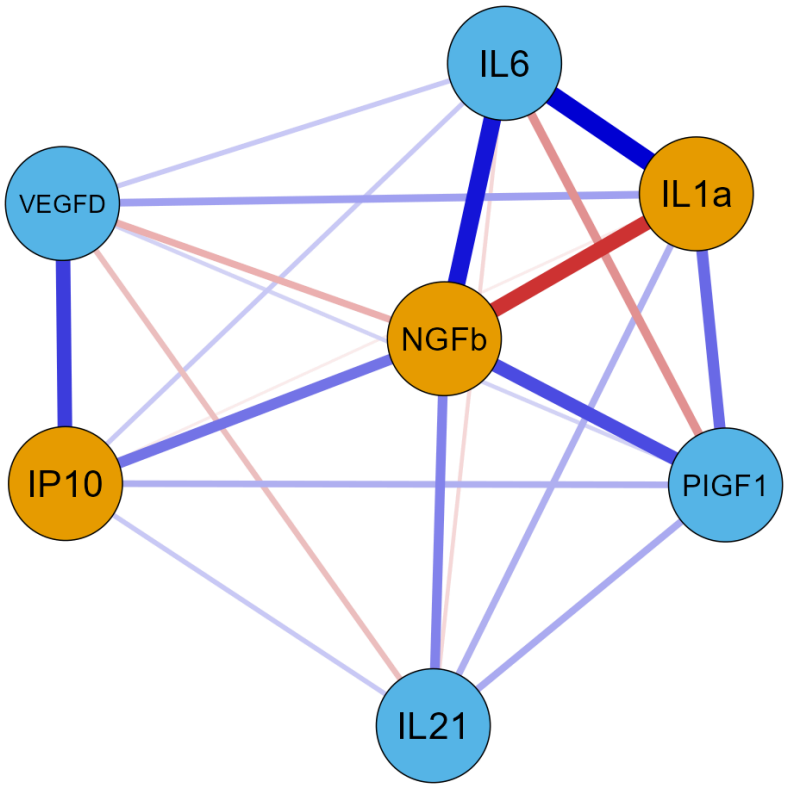


**Figura 18.** Análise de rede das interações entre mediadores inflamatórios significativos no modelo de regressão logística.

Os nós representam as citocinas, com cores diferenciando citocinas pró-inflamatórias (laranja) e anti-inflamatórias/reguladoras (azul). As linhas indicam correlações, com a espessura das linhas representando a força da correlação (maior espessura para correlações mais fortes). As linhas azuis indicam correlações positivas, enquanto linhas vermelhas indicam correlações negativas.

## 7. DISCUSSÃO

A síndrome pós-COVID emerge como uma manifestação complexa e multifacetada da infecção por SARS-CoV-2, desafiando as expectativas de recuperação. Caracterizada por uma persistência surpreendente de sintomas que atravessam o espectro de fadiga intensa a comprometimentos neurocognitivos, essa

condição afeta pacientes independentemente da severidade inicial de sua infecção (Fernández-de-Las-Peñas et al., 2021). Esses sintomas, que vão desde dificuldades respiratórias e dores musculares até o debilitante 'brain fog', não só persistem por semanas a meses após o evento agudo da infecção, como também exibem uma natureza recorrente ou flutuante. Essa realidade coloca em destaque a necessidade urgente de compreender a COVID-19 além de sua fase aguda, abrindo caminho para investigações aprofundadas sobre os efeitos de longo prazo do vírus no corpo humano e, particularmente, no sistema nervoso central (Raveendran et al., 2021).

Embora a base fisiopatológica das condições pós-COVID ainda não esteja plenamente esclarecida, estudos indicam que a neuroinflamação pode desempenhar um papel significativo no desenvolvimento dos sintomas neurocognitivos associados (Greene et al., 2024; Troyer et al., 2020; Vanderheiden & Klein, 2022). A inflamação no cérebro ou medula espinhal é impulsionada pela produção de citocinas, quimiocinas e mensageiros secundários pelas células da glia no sistema nervoso central (SNC), incluindo micróglia e astrócitos. A continuidade dessa resposta inflamatória é influenciada pelo contexto e duração do estímulo inicial (DiSabato et al., 2016).

Infecções por SARS-CoV-2 estão associadas ao aumento nos níveis de citocinas pró-inflamatórias no SNC. Análises do líquido cefalorraquidiano (LCR) de pacientes com COVID-19 e sintomas neurológicos mostraram elevações nos níveis de IL-1beta, TNF-alfa, IL-8, IL-6, IL-15, MCP-1 e MIP-1beta (Franke et al., 2021; Normandin et al., 2021; Pilotto et al., 2021). Estudos em modelos animais também observaram elevação nas citocinas inflamatórias (IL-6, CXCL5 e Eotaxin/CCL11) no LCR durante infecções leves (Fernández-Castañeda, Lu, Geraghty, Song, Lee, Wood, O'Dea, et al., 2022). Essas alterações podem impactar diretamente a função do SNC, já que a micróglia, responsável pela vigilância imunológica primária, altera seu perfil transcricional em resposta à ativação, produzindo mais citocinas inflamatórias e quimiocinas. Apesar de, em geral, essa ativação da micróglia ser considerada protetora, a ativação crônica e excessiva pode resultar em alterações patológicas severas e em comprometimentos neuropsiquiátricos, incluindo depressão e déficits cognitivos (DiSabato et al., 2016).

Alguns vírus neurotrópicos são capazes de induzir disfunção neuronal significativa, podendo levar a consequências severas para o hospedeiro. Esses agentes patogênicos danificam os neurônios através de mecanismos variados,

incluindo a citólise direta resultante da replicação viral, um processo observado em doenças como a poliomielite (Amor et al., 2010). Um estudo detalhado realizado por Levine e cols. (2023) revelou 22 associações entre infecções virais e doenças neurodegenerativas (DNDs), destacando uma notável associação entre encefalite viral e a doença de Alzheimer (DA), com uma razão de risco elevada de 30,72 (Levine et al., 2023). Notavelmente, 81% dessas associações envolveram vírus classificados como neurotrópicos, apontando para a possibilidade de que a neuroinflamação induzida por esses vírus possa agravar o risco de DNDs ao comprometer a reserva cognitiva. Reforçando essa perspectiva, uma infecção pelo vírus Epstein-Barr foi associada a um aumento de 32 vezes no risco de desenvolver esclerose múltipla, evidenciando a influência significativa que infecções virais podem exercer sobre o desenvolvimento e a progressão de condições neurodegenerativas (Bjornevik et al., 2022).

Neste estudo, investigamos o perfil de citocinas pró-inflamatórias e anti-inflamatórias e sua correlação com o comprometimento cognitivo em uma coorte de indivíduos que tiveram COVID-19 em graus leves a moderados. Ao analisar a totalidade dos participantes ao longo do período do estudo, verificou-se que 82,52% (n=387) mantiveram um desempenho cognitivo normal no teste da cópia da Figura Complexa de Rey. Por outro lado, 17,48% (n=82) dos participantes apresentaram um desempenho abaixo do esperado neste mesmo teste, evidenciando um comprometimento cognitivo persistente mesmo após a recuperação da fase aguda da infecção. A literatura científica recente reconhece que a COVID-19 pode induzir comprometimento cognitivo em alguns indivíduos após a recuperação da infecção inicial (Mazza et al., 2021; Woo et al., 2020). Estudos recentes revelam que pacientes podem experimentar déficits cognitivos, incluindo memória e atenção diminuídas, bem como distúrbios do sono, sugerindo efeitos de longo prazo da COVID-19 na função cognitiva (Daroische et al., 2021; Radke et al., 2024).

O estudo de Greene e cols. (2024) reforça esses achados ao identificar pacientes com sintomas pós-COVID que apresentaram disfunção da barreira hematoencefálica, desregulação do sistema de coagulação e uma resposta imune adaptativa enfraquecida. Os autores sugerem que a inflamação sistêmica sustentada e a disfunção localizada da barreira hematoencefálica são componentes cruciais da patogênese do comprometimento cognitivo (Greene et al., 2024) Adicionalmente, pesquisas têm demonstrado que a COVID-19 pode contribuir para o

declínio cognitivo ao danificar regiões cerebrais cruciais, como o hipocampo e o córtex cingulado anterior, por meio da persistência da inflamação neural ativa, disfunção mitocondrial e ativação microglial (Daroische et al., 2021; Z. Li et al., 2023).

A relação entre as variáveis demográficas, como sexo e idade, e os níveis de citocinas em indivíduos com COVID-19 é um campo de estudo que tem revelado aspectos cruciais da resposta imune à infecção. Os resultados da nossa análise mostram que há uma interação significativa entre gênero e níveis de citocinas ao longo do estudo, com destaque para a quimiocina RANTES no tempo T1. Além disso, Eotaxin (CCL11) e MCP-1 apresentaram diferenças significativas apenas no sexo feminino ao longo do tempo. Isso sugere que o sexo feminino pode ter uma resposta inflamatória diferenciada à infecção por COVID-19, potencialmente influenciada pelos moduladores imunes dos hormônios sexuais. Tal observação é corroborada por estudos que indicam diferenças significativas na resposta imune baseadas no sexo, com mulheres exibindo perfis imunológicos potencialmente mais robustos (Scully et al., 2020; Takahashi et al., 2020).

Quando analisado a influência da idade nos níveis de citocinas, foi possível observar diferenças significativas para IL-31, GM-CSF, IL-4, e TNF alpha no grupo com idade abaixo do ponto de corte (40 anos) (grupo 01), sendo que esses mediadores inflamatórios foram maiores no início do estudo, período em que os participantes estavam entre 3 e 6 meses após a recuperação da infecção inicial de COVID-19. Ainda na comparação entre os grupos, IL-6 apresentou níveis elevados no grupo 01, enquanto Eotaxin apresentou níveis elevados no grupo 02, ambos no retorno T2, ou seja, 12 meses após a infecção aguda de COVID-19. Esses achados são consistentes com estudos que mostram variações na resposta imunológica baseadas na idade. Por exemplo, estudos indicam que indivíduos mais jovens tendem a apresentar respostas imunológicas mais robustas, o que pode explicar os níveis elevados de citocinas como IL-31, GM-CSF, IL-4 e TNF alpha pouco tempo após a recuperação da infecção (Daroische et al., 2021). Por outro lado, em indivíduos mais velhos, a resposta inflamatória crônica pode persistir por períodos mais longos, refletida nos níveis elevados de Eotaxin observados no T1 (Z. Li et al., 2023). Isso ressalta a complexidade da relação entre idade, sexo e a resposta ao COVID-19, influenciada por múltiplos fatores, incluindo comorbidades e estado de saúde geral (Angioni et al., 2020).

Portanto, ao relacionar nossos resultados com a literatura existente, destacamos a importância de considerar tanto a idade quanto o sexo como variáveis críticas que influenciam os perfis de citocinas e a resposta imune ao COVID-19. Esses achados não apenas corroboram com a evidência científica que sugere variações significativas na resposta imune entre diferentes grupos demográficos, mas também apontam para a necessidade de abordagens terapêuticas personalizadas que levem em consideração essas diferenças.

A análise estatística dos níveis de citocinas em relação à mudança no status cognitivo ao longo do tempo (T0 para T1, T0 para T2 e T0 para T4) revela um padrão complexo de alterações inflamatórias e neurotróficas que podem estar associadas ao comprometimento cognitivo em pacientes pós-COVID-19. Os resultados indicam que uma ampla gama de citocinas pró-inflamatórias, anti-inflamatórias e fatores de crescimento podem estar envolvidos na patogênese do comprometimento cognitivo associado à COVID-19. Esses achados sugerem um papel significativo da resposta imune e dos processos inflamatórios na neuroinflamação e na disfunção neuronal, que podem contribuir para as alterações cognitivas observadas.

Entre T0 e T1, a presença de citocinas pró-inflamatórias como IL-1 beta, IL-2, IFN-gamma, TNF-alpha, bem como citocinas anti-inflamatórias (IL-4, IL-10) e fatores de crescimento (FGF-2, HGF), sugere uma resposta imune mista que pode refletir uma tentativa do organismo de controlar a infecção viral e seus efeitos no sistema nervoso central (SNC) (Altmann et al., 2023; Phetsouphanh et al., 2022).

A IL-1 beta é conhecida por desempenhar um papel central na mediação da resposta inflamatória e pode atravessar a barreira hematoencefálica (BHE), promovendo a neuroinflamação e potencialmente contribuindo para o comprometimento cognitivo observado em pacientes pós-COVID-19 (Fetsko et al., 2023; Hauptmann et al., 2020). A IL-2 e o IFN-gamma, por sua vez, são cruciais para a ativação e regulação da resposta imune celular, enquanto o TNF-alpha tem sido associado a processos inflamatórios e apoptóticos no cérebro.

As citocinas anti-inflamatórias, como IL-4 e IL-10, desempenham um papel crucial na modulação da resposta inflamatória, tentando limitar o dano tecidual e promover a resolução da inflamação (Espíndola et al., 2021; X. Wu et al., 2022). Os fatores de crescimento, como FGF-2 e HGF, são essenciais para a reparação tecidual e a regeneração, indicando que o corpo também está tentando reparar

qualquer dano causado pela infecção viral. A elevação de Eotaxina e MCP-1, quimiocinas específicas envolvidas na atração de células imunes para locais de inflamação, sugere uma migração ativa de células imunes para o SNC (Yang & Qiu, 2022). Essa migração pode ser uma faca de dois gumes: por um lado, é uma tentativa de controlar a infecção e limitar o dano ao tecido neural; por outro, pode exacerbar a neuroinflamação, levando a alterações cognitivas e neurológicas (Becher et al., 2017).

Entre T0 e T2, a detecção de IL-1RA (antagonista do receptor de IL-1) junto com IL-10, IL-23 e VEGF-A sugere uma continuidade nos processos inflamatórios e tentativas de reparo tecidual e angiogênese no contexto de lesões cerebrais. A presença de GM-CSF e VEGF-D também aponta para uma regulação complexa da inflamação e do crescimento celular.

A compreensão do papel das citocinas IL-1RA, IL-10, IL-23, VEGF-A, GM-CSF e VEGF-D na inflamação, reparo tecidual e angiogênese, particularmente no contexto de lesões cerebrais, se baseia na interação complexa desses mediadores no ambiente inflamatório e nas respostas do tecido. IL-1RA, sendo um antagonista do receptor de IL-1, desempenha um papel crucial na modulação da resposta inflamatória, atuando como um regulador negativo para minimizar os danos teciduais causados pela hiperativação de IL-1 (El-Behi et al., 2011). IL-10, conhecida por suas propriedades anti-inflamatórias, regula a produção de VEGF por macrófagos, um processo dependente da polarização dos macrófagos e da presença de hipóxia, sugerindo uma função na promoção da angiogênese e no reparo tecidual de maneira ambiente-específica (W.-K. Wu et al., 2010). IL-23, por sua vez, tem um papel crítico na indução e manutenção da diferenciação de células Th17, que são conhecidas por sua capacidade de produzir GM-CSF, um fator vital para a ativação de células microgliais e o início de encefalomielite autoimune experimental, evidenciando seu papel na manutenção da inflamação e na patogênese de doenças autoimunes (El-Behi et al., 2011).

Os fatores de crescimento VEGF-A e VEGF-D são essenciais para a angiogênese, promovendo o crescimento e a manutenção de vasos sanguíneos, essenciais para o reparo tecidual após a lesão. GM-CSF, além de suas funções imunomoduladoras, contribui para a patogenicidade de células Th17 em doenças autoimunes e mediadores autoimunes, realçando a complexidade e a importância de sua regulação na inflamação e na resposta imune (El-Behi et al., 2011). Essas

interações destacam um equilíbrio delicado entre promoção da inflamação, reparo tecidual e angiogênese que é crucial para a recuperação de lesões cerebrais.

Entre T0 e T4, a persistência de citocinas como IL-2, IL-6, IL-8, IL-9, e IL-10, juntamente com o surgimento de IL-15, IL-21, IL-31, TNF-alpha, e TNF-beta, indica uma resposta inflamatória prolongada que pode transitar para uma fase crônica. Esse perfil sugere uma tentativa do organismo de regular tanto a inflamação quanto a resposta imune, mantendo um equilíbrio entre o dano e a tentativa de reparação tecidual. Noelle & Nowak (2010) em seu estudo revelam que citocinas como IL-9 podem ser produzidas por diferentes subconjuntos de células T, incluindo células Th17 e células T reguladoras (Treg), indicando a complexidade da resposta imune e sua potencial influência na neuroinflamação e no reparo tecidual (Noelle & Nowak, 2010). A IL-9 tem sido associada à promoção da expansão de mastócitos, que podem ter efeitos pró-inflamatórios e contribuir para a resposta imune durante um processo inflamatório ativo. Além disso, a IL-1 desempenha um papel crucial nos estágios iniciais após um dano cerebral, como um acidente vascular cerebral isquêmico, regulando a expressão de outras citocinas inflamatórias (como IL-6 e TNF-alpha), fatores de crescimento (como NGF), e induzindo processos como astrogliose e formação de cicatrizes gliais, que são fundamentais para o reparo tecidual após o dano. No entanto, a IL-1 beta também pode exacerbar a disfunção da barreira hematoencefálica e promover a apoptose, contribuindo para o dano cerebral secundário após um dano isquêmico (Zhu et al., 2022).

A presença de fatores neurotróficos como o Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF), o Nerve Growth Factor-beta (NGF-beta), e o Epidermal Growth Factor (EGF) sugere esforços para a neuroproteção e o reparo neuronal. Estes fatores são essenciais para a sobrevivência, crescimento e diferenciação de neurônios, além de desempenharem um papel na modulação da resposta inflamatória e na regeneração tecidual após o dano cerebral (Allen et al., 2011).

Estudos têm mostrado que a neuroinflamação desencadeada por essa complexa interação de citocinas pode contribuir para uma variedade de alterações neuropsicológicas, incluindo "brain fog", a dificuldade de concentração e a memória prejudicada, que são comumente relatadas por pacientes recuperados da COVID-19. A resposta imune mista e a subsequente neuroinflamação podem, portanto, estar na essência do comprometimento cognitivo observado em alguns

pacientes após a recuperação da fase aguda da COVID-19 (Becher et al., 2017; Low et al., 2023).

A análise de regressão logística realizada foi empregada para identificar as possíveis citocinas e quimiocinas como preditores significativos do desempenho cognitivo alterado em pacientes pós-COVID-19. A regressão logística é uma técnica estatística apropriada para modelar a relação entre uma variável dependente binária (desempenho cognitivo normal vs. alterado) e uma ou mais variáveis independentes (níveis de citocinas) (Hosmer & Lemeshow, 2004). No modelo logístico, IL-1 alpha, IP-10 (CXCL10) e NGF beta estavam associadas ao aumento da chance de comprometimento cognitivo, enquanto IL-6, IL-21, VEGF-D e PIGF-1 estavam associadas à redução da chance de comprometimento cognitivo. As citocinas desempenham papéis críticos no sistema imunológico, atuando como mediadores de inflamação e modulação imunológica. Essas moléculas sinalizadoras podem exibir funções duais, sendo pró-inflamatórias ou anti-inflamatórias dependendo do contexto e do microambiente imunológico. Por exemplo, a IL-6 pode atuar como uma citocina pró-inflamatória na doença de Alzheimer, promovendo neuroinflamação, mas também como anti-inflamatória, facilitando a resolução da inflamação e promovendo a reparação tecidual (Tanaka et al., 2014). A maturidade do sistema imunológico desempenha um papel fundamental na determinação da função das citocinas. Em indivíduos mais jovens, o sistema imunológico tende a ser mais robusto e reativo, o que pode resultar em respostas inflamatórias mais intensas e prolongadas (S. L. Klein & Flanagan, 2016). Em contraste, em indivíduos mais velhos, a resposta imunológica pode ser disfuncional ou inadequada, frequentemente resultando em inflamação crônica de baixo grau que contribui para o desenvolvimento de doenças degenerativas (Franceschi et al., 2000).

A integração dos resultados da regressão logística e da análise de rede sugere que IL-1 alpha, IP-10 e NGF beta têm papeis complexos na modulação da inflamação e do comprometimento cognitivo pós-COVID. A regressão logística indica que níveis elevados dessas citocinas estão associados a piores desfechos cognitivos, e a análise de rede revela interações regulatórias entre elas. Essas interações sugerem que níveis elevados de NGF beta podem modular os efeitos prejudiciais de IL-1 alpha, embora essa modulação possa não ser suficiente para prevenir o comprometimento cognitivo. NGF beta, uma neurotrofina essencial para a sobrevivência e manutenção neuronal, é crucial para a função dos neurônios

colinérgicos do prosencéfalo basal, que são gravemente afetados na doença de Alzheimer (Allen et al., 2011). A diminuição da atividade de NGF está associada à perda de função colinérgica e ao declínio cognitivo na DA. Estudos sugerem que o aumento da forma pró-apoptótica (proNGF), a forma precursora do NGF, está associado a sinais pró-apoptóticos que contribuem para a degeneração neuronal. Essa dinâmica é evidenciada pelo aumento dos níveis de proNGF no líquido cefalorraquidiano de pacientes com DA (Mufson et al., 2019).

Na análise de rede, IL-6 apresenta correlação forte com IL-1 alpha e NGF beta. Esses resultados indicam um ciclo inflamatório em que as citocinas se amplificam mutuamente, exacerbando e modulando a resposta inflamatória. Ao induzir a produção de IL-6, IL-1 alpha amplifica a resposta inflamatória, aumentando a produção de outras mediadoras inflamatórias. A IL-6, por sua vez, pode induzir a produção de IL-1 alpha, criando um ciclo de feedback positivo (Dinarello, 2000; Erta et al., 2012). Já na interação de IL-6 com NGF beta, essa correlação representa um mecanismo de regulação onde NGF beta tenta controlar a resposta inflamatória mediada por IL-6 e promover a reparação tecidual. Em cenários de neuroinflamação, como em doenças neurodegenerativas e infecções virais que afetam o sistema nervoso central, essa interação é particularmente importante (Mufson et al., 2019). Essas interações destacam a complexidade das redes de citocinas e a importância de uma regulação precisa para prevenir danos teciduais e promover a neuroproteção em condições patológicas.

Esses resultados implicam que o comprometimento cognitivo em pacientes pós-COVID-19 pode estar associado a um perfil complexo de alterações nos níveis de citocinas, refletindo a interação entre a resposta imune, a inflamação e os mecanismos de reparo tecidual. Evidências emergentes sugerem que intervenções direcionadas para modulação da resposta inflamatória e suporte à neuroproteção podem ser potencialmente benéficas para mitigar o comprometimento cognitivo em pacientes recuperados de COVID-19 (Altmann et al., 2023). Estudos futuros devem focar em desvendar os mecanismos subjacentes a essas alterações e em desenvolver estratégias terapêuticas específicas baseadas no perfil inflamatório e neurotrófico.

## 8. CONCLUSÃO

A síndrome pós-COVID representa um desafio emergente na compreensão das consequências a longo prazo da infecção por SARS-CoV-2, evidenciando uma gama persistente e às vezes recorrente de sintomas que afetam significativamente a qualidade de vida dos pacientes. A presença prolongada de sintomas neurocognitivos e físicos, independentemente da severidade inicial da infecção, destaca a complexidade da resposta do corpo à COVID-19 e a necessidade de abordagens terapêuticas personalizadas e multidisciplinares para o manejo dessas manifestações (Fernández-de-Las-Peñas et al., 2021; Raveendran et al., 2021).

A persistência de um perfil inflamatório complexo, caracterizado pelo aumento de várias citocinas pró-inflamatórias e neurotróficas no sistema nervoso central, sugere uma relação intrínseca entre neuroinflamação e comprometimento cognitivo em pacientes pós-COVID-19 (Troyer et al., 2020; Vanderheiden & Klein, 2022). Esta resposta inflamatória, impulsionada por citocinas como IL-1beta, TNF-alfa, IL-6, entre outras, e o envolvimento de células gliais, como microglia e astrócitos, indica mecanismos subjacentes que podem estar contribuindo para as alterações neuropsiquiátricas observadas (DiSabato et al., 2016; Franke et al., 2021; Normandin et al., 2021; Pilotto et al., 2021).

Além disso, a associação entre infecções virais, particularmente por vírus neurotrópicos, e o desenvolvimento de doenças neurodegenerativas fornece um contexto preocupante para a compreensão dos efeitos a longo prazo da COVID-19. A capacidade desses vírus de induzir neuroinflamação e potencialmente comprometer a reserva cognitiva aponta para a necessidade de monitoramento e intervenções precoces em pacientes recuperados da COVID-19, visando mitigar riscos futuros de declínio cognitivo e doenças neurodegenerativas (Amor et al., 2010; Bjornevik et al., 2022; Levine et al., 2023).

Os resultados deste estudo corroboram a literatura existente, demonstrando que a resposta inflamatória e as alterações neurotróficas associadas à COVID-19 podem ter implicações significativas no comprometimento cognitivo e na saúde neurológica a longo prazo dos pacientes. Isso reforça a importância de estratégias terapêuticas que visem não apenas a modulação da resposta inflamatória, mas também o suporte à neuroproteção, como abordagens promissoras para mitigar o impacto neuropsicológico da COVID-19.

Portanto, é imperativo que pesquisas futuras continuem a explorar os mecanismos subjacentes ao comprometimento cognitivo e outras manifestações de longo prazo da COVID-19, visando o desenvolvimento de intervenções direcionadas que possam melhorar a qualidade de vida dos pacientes recuperados. A identificação de biomarcadores inflamatórios e neurotróficos, juntamente com a compreensão das variáveis demográficas que influenciam a resposta imune, poderá oferecer insights valiosos para a personalização do tratamento e gestão da síndrome pós-COVID.

Este estudo, embora enriquecedor em suas descobertas, enfrentou limitações que podem ter impactado na análise estatística e nos resultados obtidos. A amostra deste estudo foi composta por pacientes atendidos nos hospitais Risoleta Tolentino Neves e Odilon Behrens, em parceria com o Núcleo de Ações e Pesquisa em Apoio Diagnóstico (NUPAD). Essa parceria foi essencial para garantir a inclusão de indivíduos com diagnóstico confirmado de COVID-19 através do teste RT-PCR. No entanto, a alta proporção de profissionais de saúde na amostra pode introduzir um viés de seleção, uma vez que esses indivíduos enfrentam níveis elevados de estresse e carga de trabalho durante a pandemia, o que pode influenciar os desfechos de saúde mental e cognitiva. Apesar desse viés potencial, os resultados ainda fornecem insights valiosos sobre os mecanismos de comprometimento cognitivo pós-COVID-19, especialmente em contextos de alto estresse ocupacional. Para futuros estudos, recomenda-se a inclusão de amostras mais diversificadas.

A variação do tamanho da amostra ao longo do estudo, com uma perda significativa de participantes em diferentes fases da pesquisa. Esta diminuição no número de participantes pode ter influenciado a robustez das análises estatísticas, potencialmente afetando a generalização dos resultados. Além disso, a predominância de mulheres na composição da amostra do estudo introduz um viés que deve ser considerado ao interpretar as conclusões. A resposta imunológica e a apresentação clínica da COVID-19 podem variar entre gêneros, o que sugere que os efeitos observados podem não ser uniformemente aplicáveis a uma população mais diversificada.

Estas limitações destacam a necessidade de cautela ao generalizar os achados e reforçam a importância de futuras pesquisas com amostras mais equilibradas em termos de gênero e com taxas de retenção mais altas para validar e expandir os entendimentos atuais sobre as condições pós-COVID.

## REFERÊNCIAS


Abbas, A. K., Lichtman, A. H. Respostas imunes mediadas por células. In: Abbas, A. K., Lichtman, A. H. *Imunologia Básica: funções e distúrbios do sistema imunológico.* 3. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2009. Cap. 5. p. 87-109.

Abbas, A. K., & Lichtman, A. H. Imunologia Básica: funções e distúrbios do sistema imunológico. 3. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2009. 314 p. Tradução de: Patrícia Dias Fernandes.

Akin, L., & Gözel, M. G. (2020). Understanding dynamics of pandemics. *Turkish Journal of Medical Sciences*, *50*(SI-1), 515–519.

Allen, S. J., Watson, J. J., & Dawbarn, D. (2011). The neurotrophins and their role in Alzheimer's disease. *Current Neuropharmacology*, *9*(4), 559–573.

Altmann, D. M., Whettlock, E. M., Liu, S., Arachchillage, D. J., & Boyton, R. J. (2023). The immunology of long COVID. *Nature Reviews. Immunology*, *23*(10), 618–634.

American Psychiatric Association. (2021). *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM-5)*. American Psychiatric Publishing.

Amor, S., Puentes, F., Baker, D., & van der Valk, P. (2010). Inflammation in neurodegenerative diseases. *Immunology*, *129*(2), 154–169.

Angioni, R., Sánchez-Rodríguez, R., Munari, F., Bertoldi, N., Arcidiacono, D., Cavinato, S., Marturano, D., Zaramella, A., Realdon, S., Cattelan, A., Viola, A., & Molon, B. (2020). Age-severity matched cytokine profiling reveals specific signatures in Covid-19 patients. *Cell Death & Disease*, *11*(11), 957.

Baker, R. E., Mahmud, A. S., Miller, I. F., Rajeev, M., Rasambainarivo, F., Rice, B. L., Takahashi, S., Tatem, A. J., Wagner, C. E., Wang, L.-F., Wesolowski, A., & Metcalf, C. J. E. (2022). Infectious disease in an era of global change. *Nature Reviews. Microbiology*, *20*(4), 193–205.

Becher, B., Spath, S., & Goverman, J. (2017). Cytokine networks in neuroinflammation. *Nature Reviews. Immunology*, *17*(1), 49–59.

Berlin, D. A., Gulick, R. M., & Martinez, F. J. (2020). Severe Covid-19. *The New England Journal of Medicine*, *383*(25), 2451–2460.

Beusenberg, M, Orley, John H & World Health Organization. Division of Mental Health. (1994). A User's guide to the self reporting questionnaire (SRQ / compiled by M. Beusenberg and J. Orley. World Health Organization. https://iris.who.int/handle/10665/61113

Bjornevik, K., Cortese, M., Healy, B. C., Kuhle, J., Mina, M. J., Leng, Y., Elledge, S. J., Niebuhr, D. W., Scher, A. I., Munger, K. L., & Ascherio, A. (2022). Longitudinal analysis reveals high prevalence of Epstein-Barr virus associated with multiple sclerosis. *Science*, *375*(6578), 296–301.

Boechat, J. L., Chora, I., Morais, A., & Delgado, L. (2021). The immune response to SARS-CoV-2 and COVID-19 immunopathology - Current perspectives. *Pulmonology*, *27*(5), 423–437.

Bosch, B. J., van der Zee, R., de Haan, C. A. M., & Rottier, P. J. M. (2003). The coronavirus spike protein is a class I virus fusion protein: structural and functional characterization of the fusion core complex. *Journal of Virology*, *77*(16), 8801–8811.

Buzhdygan, T. P., DeOre, B. J., Baldwin-Leclair, A., Bullock, T. A., McGary, H. M., Khan, J. A., Razmpour, R., Hale, J. F., Galie, P. A., Potula, R., Andrews, A. M., & Ramirez, S. H. (2020). The SARS-CoV-2 spike protein alters barrier function in 2D static and 3D microfluidic in-vitro models of the human blood-brain barrier. *Neurobiology of Disease*, *146*, 105131.

Chowdhury, M. A., Hossain, N., Kashem, M. A., Shahid, M. A., & Alam, A. (2020). Immune response in COVID-19: A review. *Journal of Infection and Public Health*, *13*(11), 1619–1629.

Coronaviridae Study Group of the International Committee on Taxonomy of Viruses. (2020). The species Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. *Nature Microbiology*, *5*(4), 536–544.

Cron, R. Q., Caricchio, R., & Chatham, W. W. (2021). Calming the cytokine storm in COVID-19 [Review of *Calming the cytokine storm in COVID-19*]. *Nature Medicine*, *27*(10), 1674–1675.

Daroische, R., Hemminghyth, M. S., Eilertsen, T. H., Breitve, M. H., & Chwiszczuk, L. J. (2021). Cognitive Impairment After COVID-19-A Review on Objective Test Data. *Frontiers in Neurology*, *12*, 699582.

Davis, H. E., McCorkell, L., Vogel, J. M., & Topol, E. J. (2023). Long COVID: major findings, mechanisms and recommendations. *Nature Reviews. Microbiology*, *21*(3), 133–146.

de Paula, J. J., Costa, D. S., Miranda, D. M. de, & Romano-Silva, M. A. (2018). Brazilian version of the Cognitive Failures Questionnaire (CFQ): cross-cultural

adaptation and evidence of validity and reliability. *Revista Brasileira de Psiquiatria (Sao Paulo, Brazil : 1999)*, *40*(3), 312–315.

de Paula, J. J., Diniz, B. S., Bicalho, M. A., Albuquerque, M. R., Nicolato, R., de Moraes, E. N., Romano-Silva, M. A., & Malloy-Diniz, L. F. (2015). Specific cognitive functions and depressive symptoms as predictors of activities of daily living in older adults with heterogeneous cognitive backgrounds. *Frontiers in Aging Neuroscience*, *7*, 139.

de Paula, J. J., Paiva, R. E. R. P., Souza-Silva, N. G., Rosa, D. V., Duran, F. L. de S., Coimbra, R. S., Costa, D. de S., Dutenhefner, P. R., Oliveira, H. S. D., Camargos, S. T., Vasconcelos, H. M. M., de Oliveira Carvalho, N., da Silva, J. B., Silveira, M. B., Malamut, C., Oliveira, D. M., Molinari, L. C., de Oliveira, D. B., Januário, J. N., … Romano-Silva, M. A. (2023). Selective visuoconstructional impairment following mild COVID-19 with inflammatory and neuroimaging correlation findings. *Molecular Psychiatry*, *28*(2), 553–563.

Dhama, K., Khan, S., Tiwari, R., Sircar, S., Bhat, S., Malik, Y. S., Singh, K. P., Chaicumpa, W., Bonilla-Aldana, D. K., & Rodriguez-Morales, A. J. (2020). Coronavirus Disease 2019-COVID-19. *Clinical Microbiology Reviews*, *33*(4). https://doi.org/10.1128/CMR.00028-20

Dinarello, C. A. (2000). Proinflammatory cytokines. *Chest*, *118*(2), 503–508.

DiSabato, D. J., Quan, N., & Godbout, J. P. (2016). Neuroinflammation: the devil is in the details. *Journal of Neurochemistry*, *139 Suppl 2*(Suppl 2), 136–153.

El-Behi, M., Ciric, B., Dai, H., Yan, Y., Cullimore, M., Safavi, F., Zhang, G.-X., Dittel, B. N., & Rostami, A. (2011). The encephalitogenicity of T(H)17 cells is dependent on IL-1- and IL-23-induced production of the cytokine GM-CSF. *Nature Immunology*, *12*(6), 568–575.

Erta, M., Quintana, A., & Hidalgo, J. (2012). Interleukin-6, a major cytokine in the central nervous system. *International Journal of Biological Sciences*, *8*(9), 1254–1266.

Espíndola, O. M., Gomes, Y. C. P., Brandão, C. O., Torres, R. C., Siqueira, M., Soares, C. N., Lima, M. A. S. D., Leite, A. C. C. B., Venturotti, C. O., Carvalho, A. J. C., Torezani, G., Araujo, A. Q. C., & Silva, M. T. T. (2021). Inflammatory Cytokine Patterns Associated with Neurological Diseases in Coronavirus Disease 2019. *Annals of Neurology*, *89*(5), 1041–1045.

Fernández-Castañeda, A., Lu, P., Geraghty, A. C., Song, E., Lee, M.-H., Wood, J.,

O'Dea, M. R., Dutton, S., Shamardani, K., Nwangwu, K., Mancusi, R., Yalçın, B., Taylor, K. R., Acosta-Alvarez, L., Malacon, K., Keough, M. B., Ni, L., Woo, P. J., Contreras-Esquivel, D., … Monje, M. (2022). Mild respiratory COVID can cause multi-lineage neural cell and myelin dysregulation. *Cell*, *185*(14), 2452–2468.e16.

Fernández-Castañeda, A., Lu, P., Geraghty, A. C., Song, E., Lee, M.-H., Wood, J., Yalçın, B., Taylor, K. R., Dutton, S., Acosta-Alvarez, L., Ni, L., Contreras-Esquivel, D., Gehlhausen, J. R., Klein, J., Lucas, C., Mao, T., Silva, J., Peña-Hernández, M. A., Tabachnikova, A., … Monje, M. (2022). Mild respiratory SARS-CoV-2 infection can cause multi-lineage cellular dysregulation and myelin loss in the brain. *bioRxiv : The Preprint Server for Biology*. https://doi.org/10.1101/2022.01.07.475453

Fernández-de-Las-Peñas, C., Palacios-Ceña, D., Gómez-Mayordomo, V., Cuadrado, M. L., & Florencio, L. L. (2021). Defining Post-COVID Symptoms (Post-Acute COVID, Long COVID, Persistent Post-COVID): An Integrative Classification. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, *18*(5). https://doi.org/10.3390/ijerph18052621

Fetsko, A. R., Sebo, D. J., Budzynski, L. B., Scharbarth, A., & Taylor, M. R. (2023). IL-1β disrupts blood-brain barrier development by inhibiting endothelial Wnt/β-catenin signaling. *bioRxiv : The Preprint Server for Biology*. https://doi.org/10.1101/2023.12.04.569943

Field, A. (2017). *Discovering Statistics Using IBM SPSS Statistics*. SAGE.

Fosbøl, E. L., Butt, J. H., Østergaard, L., Andersson, C., Selmer, C., Kragholm, K., Schou, M., Phelps, M., Gislason, G. H., Gerds, T. A., Torp-Pedersen, C., & Køber, L. (2020). Association of Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitor or Angiotensin Receptor Blocker Use With COVID-19 Diagnosis and Mortality. *JAMA: The Journal of the American Medical Association*, *324*(2), 168–177.

Franceschi, C., Bonafè, M., Valensin, S., Olivieri, F., De Luca, M., Ottaviani, E., & De Benedictis, G. (2000). Inflamm-aging. An evolutionary perspective on immunosenescence. *Annals of the New York Academy of Sciences*, *908*, 244–254.

Franke, C., Ferse, C., Kreye, J., Reincke, S. M., Sanchez-Sendin, E., Rocco, A., Steinbrenner, M., Angermair, S., Treskatsch, S., Zickler, D., Eckardt, K.-U., Dersch, R., Hosp, J., Audebert, H. J., Endres, M., Ploner, J. C., & Prüß, H. (2021). High frequency of cerebrospinal fluid autoantibodies in COVID-19

patients with neurological symptoms. *Brain, Behavior, and Immunity*, *93*, 415–419.

Frank, M. G., Nguyen, K. H., Ball, J. B., Hopkins, S., Kelley, T., Baratta, M. V., Fleshner, M., & Maier, S. F. (2022). SARS-CoV-2 spike S1 subunit induces neuroinflammatory, microglial and behavioral sickness responses: Evidence of PAMP-like properties. *Brain, Behavior, and Immunity*, *100*, 267–277.

Galvin, J. E., Roe, C. M., Powlishta, K. K., Coats, M. A., Muich, S. J., Grant, E., Miller, J. P., Storandt, M., & Morris, J. C. (2005). The AD8: a brief informant interview to detect dementia. *Neurology*, *65*(4), 559–564.

Gandhi, R. T., Lynch, J. B., & Del Rio, C. (2020). Mild or Moderate Covid-19. *The New England Journal of Medicine*, *383*(18), 1757–1766.

Gheware, A., Ray, A., Rana, D., Bajpai, P., Nambirajan, A., Arulselvi, S., Mathur, P., Trikha, A., Arava, S., Das, P., Mridha, A. R., Singh, G., Soneja, M., Nischal, N., Lalwani, S., Wig, N., Sarkar, C., & Jain, D. (2022). ACE2 protein expression in lung tissues of severe COVID-19 infection. *Scientific Reports*, *12*(1), 4058.

Glynne, P., Tahmasebi, N., Gant, V., & Gupta, R. (2022). Long COVID following mild SARS-CoV-2 infection: characteristic T cell alterations and response to antihistamines. *Journal of Investigative Medicine: The Official Publication of the American Federation for Clinical Research*, *70*(1), 61–67.

Goldsmith, C. S., Tatti, K. M., Ksiazek, T. G., Rollin, P. E., Comer, J. A., Lee, W. W., Rota, P. A., Bankamp, B., Bellini, W. J., & Zaki, S. R. (2004). Ultrastructural characterization of SARS coronavirus. *Emerging Infectious Diseases*, *10*(2), 320–326.

Greene, C., Connolly, R., Brennan, D., Laffan, A., O'Keeffe, E., Zaporojan, L., O'Callaghan, J., Thomson, B., Connolly, E., Argue, R., Meaney, J. F. M., Martin-Loeches, I., Long, A., Cheallaigh, C. N., Conlon, N., Doherty, C. P., & Campbell, M. (2024). Blood-brain barrier disruption and sustained systemic inflammation in individuals with long COVID-associated cognitive impairment. *Nature Neuroscience*, *27*(3), 421–432.

Guarene, M., Badulli, C., Cremaschi, A. L., Sbarsi, I., Cacciatore, R., Tinelli, C., Pasi, A., Bergamaschi, P., & Perotti, C. G. (2018). Luminex® xMAP® technology is an effective strategy for high-definition human leukocyte antigen typing of cord blood units prior to listing. *The International Journal of Artificial Organs*, *41*(5), 284–288.

Gusev, E., Sarapultsev, A., Hu, D., & Chereshnev, V. (2021). Problems of Pathogenesis and Pathogenetic Therapy of COVID-19 from the Perspective of the General Theory of Pathological Systems (General Pathological Processes). *International Journal of Molecular Sciences*, *22*(14). https://doi.org/10.3390/ijms22147582

Gusev, E., Sarapultsev, A., Solomatina, L., & Chereshnev, V. (2022). SARS-CoV-2-Specific Immune Response and the Pathogenesis of COVID-19. *International Journal of Molecular Sciences*, *23*(3). https://doi.org/10.3390/ijms23031716

Gusev, E., Solomatina, L., Zhuravleva, Y., & Sarapultsev, A. (2021). The Pathogenesis of End-Stage Renal Disease from the Standpoint of the Theory of General Pathological Processes of Inflammation. *International Journal of Molecular Sciences*, *22*(21). https://doi.org/10.3390/ijms222111453

Hauptmann, J., Johann, L., Marini, F., Kitic, M., Colombo, E., Mufazalov, I. A., Krueger, M., Karram, K., Moos, S., Wanke, F., Kurschus, F. C., Klein, M., Cardoso, S., Strauß, J., Bolisetty, S., Lühder, F., Schwaninger, M., Binder, H., Bechman, I., … Waisman, A. (2020). Interleukin-1 promotes autoimmune neuroinflammation by suppressing endothelial heme oxygenase-1 at the blood-brain barrier. *Acta Neuropathologica*, *140*(4), 549–567.

Helms, J., Kremer, S., Merdji, H., Clere-Jehl, R., Schenck, M., Kummerlen, C., Collange, O., Boulay, C., Fafi-Kremer, S., Ohana, M., Anheim, M., & Meziani, F. (2020). Neurologic Features in Severe SARS-CoV-2 Infection. *The New England Journal of Medicine*, *382*(23), 2268–2270.

Hilleman, M. R. (2004). Strategies and mechanisms for host and pathogen survival in acute and persistent viral infections. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *101 Suppl 2*(Suppl 2), 14560–14566.

Hoffmann, M., Kleine-Weber, H., Schroeder, S., Krüger, N., Herrler, T., Erichsen, S., Schiergens, T. S., Herrler, G., Wu, N.-H., Nitsche, A., Müller, M. A., Drosten, C., & Pöhlmann, S. (2020). SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. *Cell*, *181*(2), 271–280.e8.

Hosmer, D. W., Jr, & Lemeshow, S. (2004). *Applied Logistic Regression*. John Wiley & Sons.

Huang, C., Wang, Y., Li, X., Ren, L., Zhao, J., Hu, Y., Zhang, L., Fan, G., Xu, J., Gu,

X., Cheng, Z., Yu, T., Xia, J., Wei, Y., Wu, W., Xie, X., Yin, W., Li, H., Liu, M., … Cao, B. (2020). Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *The Lancet*, *395*(10223), 497–506.

Iqbal, F. M., Lam, K., Sounderajah, V., Clarke, J. M., Ashrafian, H., & Darzi, A. (2021). Characteristics and predictors of acute and chronic post-COVID syndrome: A systematic review and meta-analysis. *EClinicalMedicine*, *36*, 100899.

Jeong, G. U., Song, H., Yoon, G. Y., Kim, D., & Kwon, Y.-C. (2020). Therapeutic Strategies Against COVID-19 and Structural Characterization of SARS-CoV-2: A Review. *Frontiers in Microbiology*, *11*, 1723.

Johansson, M. A., Quandelacy, T. M., Kada, S., Prasad, P. V., Steele, M., Brooks, J. T., Slayton, R. B., Biggerstaff, M., & Butler, J. C. (2021). SARS-CoV-2 Transmission From People Without COVID-19 Symptoms. *JAMA Network Open*, *4*(1), e2035057.

Josephson, S. A., & Kamel, H. (2020). Neurology and COVID-19 [Review of *Neurology and COVID-19*]. *JAMA: The Journal of the American Medical Association*, *324*(12), 1139–1140.

Karki, R., & Kanneganti, T.-D. (2021). The “cytokine storm”: molecular mechanisms and therapeutic prospects. *Trends in Immunology*, *42*(8), 681–705.

Karki, R., & Kanneganti, T.-D. (2022). Innate immunity, cytokine storm, and inflammatory cell death in COVID-19. *Journal of Translational Medicine*, *20*(1), 542.

Karki, R., Lee, S., Mall, R., Pandian, N., Wang, Y., Sharma, B. R., Malireddi, R. S., Yang, D., Trifkovic, S., Steele, J. A., Connelly, J. P., Vishwanath, G., Sasikala, M., Reddy, D. N., Vogel, P., Pruett-Miller, S. M., Webby, R., Jonsson, C. B., & Kanneganti, T.-D. (2022). ZBP1-dependent inflammatory cell death, PANoptosis, and cytokine storm disrupt IFN therapeutic efficacy during coronavirus infection. *Science Immunology*, *7*(74), eabo6294.

Karki, R., Sharma, B. R., Tuladhar, S., Williams, E. P., Zalduondo, L., Samir, P., Zheng, M., Sundaram, B., Banoth, B., Malireddi, R. K. S., Schreiner, P., Neale, G., Vogel, P., Webby, R., Jonsson, C. B., & Kanneganti, T.-D. (2021). Synergism of TNF-α and IFN-γ Triggers Inflammatory Cell Death, Tissue Damage, and Mortality in SARS-CoV-2 Infection and Cytokine Shock Syndromes. *Cell*, *184*(1), 149–168.e17.

Klein, J., Wood, J., Jaycox, J., Lu, P., Dhodapkar, R. M., Gehlhausen, J. R., Tabachnikova, A., Tabacof, L., Malik, A. A., Kamath, K., Greene, K., Monteiro, V. S., Peña-Hernandez, M., Mao, T., Bhattacharjee, B., Takahashi, T., Lucas, C., Silva, J., Mccarthy, D., … Iwasaki, A. (2022). Distinguishing features of Long COVID identified through immune profiling. *medRxiv : The Preprint Server for Health Sciences*. https://doi.org/10.1101/2022.08.09.22278592

Klein, S. L., & Flanagan, K. L. (2016). Sex differences in immune responses. *Nature Reviews. Immunology*, *16*(10), 626–638.

Krammer, F. (2020). SARS-CoV-2 vaccines in development. *Nature*, *586*(7830), 516–527.

Kuri-Cervantes, L., Pampena, M. B., Meng, W., Rosenfeld, A. M., Ittner, C. A. G., Weisman, A. R., Agyekum, R. S., Mathew, D., Baxter, A. E., Vella, L. A., Kuthuru, O., Apostolidis, S. A., Bershaw, L., Dougherty, J., Greenplate, A. R., Pattekar, A., Kim, J., Han, N., Gouma, S., … Betts, M. R. (2020). Comprehensive mapping of immune perturbations associated with severe COVID-19. *Science Immunology*, *5*(49). https://doi.org/10.1126/sciimmunol.abd7114

Lai, M. M. C., & Cavanagh, D. (1997). The molecular biology of coronaviruses. In *Advances in Virus Research* (pp. 1–100). Elsevier.

Laing, A. G., Lorenc, A., Del Molino Del Barrio, I., Das, A., Fish, M., Monin, L., Muñoz-Ruiz, M., McKenzie, D. R., Hayday, T. S., Francos-Quijorna, I., Kamdar, S., Joseph, M., Davies, D., Davis, R., Jennings, A., Zlatareva, I., Vantourout, P., Wu, Y., Sofra, V., … Hayday, A. C. (2020). A dynamic COVID-19 immune signature includes associations with poor prognosis. *Nature Medicine*, *26*(10), 1623–1635.

Ledford, H. (2024). Long COVID is a double curse in low-income nations - here's why. *Nature*, *625*(7993), 20–22.

Lemeshow, S., & Hosmer, D. W., Jr. (1982). A review of goodness of fit statistics for use in the development of logistic regression models. *American Journal of Epidemiology*, *115*(1), 92–106.

Levine, K. S., Leonard, H. L., Blauwendraat, C., Iwaki, H., Johnson, N., Bandres-Ciga, S., Ferrucci, L., Faghri, F., Singleton, A. B., & Nalls, M. A. (2023). Virus exposure and neurodegenerative disease risk across national biobanks. *Neuron*, *111*(7), 1086–1093.e2.

Li, Q., Wang, Y., Sun, Q., Knopf, J., Herrmann, M., Lin, L., Jiang, J., Shao, C., Li, P.,

He, X., Hua, F., Niu, Z., Ma, C., Zhu, Y., Ippolito, G., Piacentini, M., Estaquier, J., Melino, S., Weiss, F. D., … Shi, Y. (2022). Immune response in COVID-19: what is next? *Cell Death and Differentiation*, *29*(6), 1107–1122.

Li, Z., Zhang, Z., Zhang, Z., Wang, Z., & Li, H. (2023). Cognitive impairment after long COVID-19: current evidence and perspectives. *Frontiers in Neurology*, *14*, 1239182.

Loeb, L., & Mei, P. A. (2020). COVID-19: A systematic review of the mechanisms of injury to the central nervous system this far. *InterAmerican Journal of Medicine and Health*, *3*. https://doi.org/10.31005/iajmh.v3i0.115

Louveau, A., Smirnov, I., Keyes, T. J., Eccles, J. D., Rouhani, S. J., Peske, J. D., Derecki, N. C., Castle, D., Mandell, J. W., Lee, K. S., Harris, T. H., & Kipnis, J. (2015). Structural and functional features of central nervous system lymphatic vessels. *Nature*, *523*(7560), 337–341.

Low, R. N., Low, R. J., & Akrami, A. (2023). A review of cytokine-based pathophysiology of Long COVID symptoms. *Frontiers of Medicine*, *10*, 1011936.

Luo, X.-H., Zhu, Y., Mao, J., & Du, R.-C. (2021). T cell immunobiology and cytokine storm of COVID-19. *Scandinavian Journal of Immunology*, *93*(3), e12989.

Lu, R., Zhao, X., Li, J., Niu, P., Yang, B., Wu, H., Wang, W., Song, H., Huang, B., Zhu, N., Bi, Y., Ma, X., Zhan, F., Wang, L., Hu, T., Zhou, H., Hu, Z., Zhou, W., Zhao, L., … Tan, W. (2020). Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *The Lancet*, *395*(10224), 565–574.

Mancia, G., Rea, F., Ludergnani, M., Apolone, G., & Corrao, G. (2020). Renin-Angiotensin-Aldosterone System Blockers and the Risk of Covid-19. *The New England Journal of Medicine*, *382*(25), 2431–2440.

Mao, L., Jin, H., Wang, M., Hu, Y., Chen, S., He, Q., Chang, J., Hong, C., Zhou, Y., Wang, D., Miao, X., Li, Y., & Hu, B. (2020). Neurologic Manifestations of Hospitalized Patients With Coronavirus Disease 2019 in Wuhan, China. *JAMA Neurology*, *77*(6), 683–690.

Mazza, M. G., Palladini, M., De Lorenzo, R., Magnaghi, C., Poletti, S., Furlan, R., Ciceri, F., COVID-19 BioB Outpatient Clinic Study group, Rovere-Querini, P., & Benedetti, F. (2021). Persistent psychopathology and neurocognitive impairment in COVID-19 survivors: Effect of inflammatory biomarkers at three-month follow-up. *Brain, Behavior, and Immunity*, *94*, 138–147.

Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Guia de vigilância epidemiológica: emergência de saúde pública de importância nacional pela doença pelo coronavírus 2019 – covid-19. *Ministério da Saúde.* Brasília, 2023. Disponível em: https://covid.saude.gov.br/. Acesso: 30/06/2023.

Mortaz, E., Tabarsi, P., Varahram, M., Folkerts, G., & Adcock, I. M. (2020). The Immune Response and Immunopathology of COVID-19. *Frontiers in Immunology*, *11*, 2037.

Moss, P. (2022). The T cell immune response against SARS-CoV-2. *Nature Immunology*, *23*(2), 186–193.

Mufson, E. J., Counts, S. E., Ginsberg, S. D., Mahady, L., Perez, S. E., Massa, S. M., Longo, F. M., & Ikonomovic, M. D. (2019). Nerve Growth Factor Pathobiology During the Progression of Alzheimer's Disease. *Frontiers in Neuroscience*, *13*, 533.

Naseer, S., Khalid, S., Parveen, S., Abbass, K., Song, H., & Achim, M. V. (2022). COVID-19 outbreak: Impact on global economy. *Frontiers in Public Health*, *10*, 1009393.

Noelle, R. J., & Nowak, E. C. (2010). Cellular sources and immune functions of interleukin-9. *Nature Reviews. Immunology*, *10*(10), 683–687.

Normandin, E., Holroyd, K. B., Collens, S. I., Shaw, B. M., Siddle, K. J., Adams, G., Rudy, M., Solomon, I. H., Anahtar, M. N., Lemieux, J. E., Trombetta, B. A., Kivisakk, P., Arnold, S. E., Rapalino, O., Piantadosi, A. L., Sen, P., Rosenberg, E. S., Branda, J., Sabeti, P. C., & Mukerji, S. S. (2021). Intrathecal inflammatory responses in the absence of SARS-CoV-2 nucleic acid in the CSF of COVID-19 hospitalized patients. *Journal of the Neurological Sciences*, *430*, 120023.

Ochani, R., Asad, A., Yasmin, F., Shaikh, S., Khalid, H., Batra, S., Sohail, M. R., Mahmood, S. F., Ochani, R., Hussham Arshad, M., Kumar, A., & Surani, S. (2021). COVID-19 pandemic: from origins to outcomes. A comprehensive review of viral pathogenesis, clinical manifestations, diagnostic evaluation, and management. *Le Infezioni in Medicina: Rivista Periodica Di Eziologia, Epidemiologia, Diagnostica, Clinica E Terapia Delle Patologie Infettive*, *29*(1), 20–36.

O'Donnell, V. R., Chinelatto, L. A., Rodrigues, C., & Hojaij, F. C. (2020). A brief history of medical uniforms: from ancient history to the COVID-19 time. *Revista Do Colegio Brasileiro de Cirurgioes*, *47*, e20202597.

Oliveira, Margareth da Silva; Rigoni, Maisa dos Santos (2010). Figuras Complexas De Rey. São Paulo: Pearson Clinical Brasil.

Okba, N. M. A., Müller, M. A., Li, W., Wang, C., GeurtsvanKessel, C. H., Corman, V. M., Lamers, M. M., Sikkema, R. S., de Bruin, E., Chandler, F. D., Yazdanpanah, Y., Le Hingrat, Q., Descamps, D., Houhou-Fidouh, N., Reusken, C. B. E. M., Bosch, B.-J., Drosten, C., Koopmans, M. P. G., & Haagmans, B. L. (2020). Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2-Specific Antibody Responses in Coronavirus Disease Patients. *Emerging Infectious Diseases*, *26*(7), 1478–1488.

Organização Mundial da Saúde (2021, Outubro 06). A clinical case definition of post COVID-19 condition by a Delphi consensus, 6 October 2021. OMS. https://www.who.int/publications/i/item/WHO-2019-nCoV-Post_COVID-19_condition-Clinical_case_definition-2021.1

Parasher, A. (2021). COVID-19: Current understanding of its Pathophysiology, Clinical presentation and Treatment. *Postgraduate Medical Journal*, *97*(1147), 312–320.

Peluso, M. J., Lu, S., Tang, A. F., Durstenfeld, M. S., Ho, H.-E., Goldberg, S. A., Forman, C. A., Munter, S. E., Hoh, R., Tai, V., Chenna, A., Yee, B. C., Winslow, J. W., Petropoulos, C. J., Greenhouse, B., Hunt, P. W., Hsue, P. Y., Martin, J. N., Daniel Kelly, J., … Henrich, T. J. (2021). Markers of Immune Activation and Inflammation in Individuals With Postacute Sequelae of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Infection. *The Journal of Infectious Diseases*, *224*(11), 1839–1848.

Phetsouphanh, C., Darley, D. R., Wilson, D. B., Howe, A., Munier, C. M. L., Patel, S. K., Juno, J. A., Burrell, L. M., Kent, S. J., Dore, G. J., Kelleher, A. D., & Matthews, G. V. (2022). Immunological dysfunction persists for 8 months following initial mild-to-moderate SARS-CoV-2 infection. *Nature Immunology*, *23*(2), 210–216.

Pilotto, A., Masciocchi, S., Volonghi, I., De Giuli, V., Caprioli, F., Mariotto, S., Ferrari, S., Bozzetti, S., Imarisio, A., Risi, B., Premi, E., Benussi, A., Focà, E., Castelli, F., Zanusso, G., Monaco, S., Stefanelli, P., Gasparotti, R., Zekeridou, A., … Padovani, A. (2021). Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) Encephalitis Is a Cytokine Release Syndrome: Evidences From Cerebrospinal Fluid Analyses. *Clinical Infectious Diseases: An Official*

*Publication of the Infectious Diseases Society of America*, *73*(9), e3019–e3026.

Pires Brito, S. B., Braga, I. O., Cunha, C. C., Palácio, M. A. V., & Takenami, I. (2020). Pandemia da COVID-19: o maior desafio do século XXI. *Vigilância Sanitária Em Debate*, *8*(2), 54–63.

Pizzato, Massimo; Baraldi, Chiara; Sopetto, Giulia Boscato; Finozzi, Davide; Gentile, Carmelo; Gentile, Michele Domenico; Marconi, Roberta; Paladino, Dalila; Raoss, Alberto; Riedmiller, Ilary. SARS-CoV-2 and the Host Cell: a tale of interactions. Frontiers In Virology, [S.L.], v. 1, p. 1-1, 12 jan. 2022. Frontiers Media SA. http://dx.doi.org/10.3389/fviro.2021.815388.

Potter, C. W. (2001). A history of influenza. *Journal of Applied Microbiology*, *91*(4), 572–579.

Qin, G., Liu, S., Yang, L., Yu, W., & Zhang, Y. (2021). Myeloid cells in COVID-19 microenvironment. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, *6*(1), 372.

Radke, J., Meinhardt, J., Aschman, T., Chua, R. L., Farztdinov, V., Lukassen, S., Ten, F. W., Friebel, E., Ishaque, N., Franz, J., Huhle, V. H., Mothes, R., Peters, K., Thomas, C., Schneeberger, S., Schumann, E., Kawelke, L., Jünger, J., Horst, V., … Radbruch, H. (2024). Proteomic and transcriptomic profiling of brainstem, cerebellum and olfactory tissues in early- and late-phase COVID-19. *Nature Neuroscience*, *27*(3), 409–420.

Raveendran, A. V., Jayadevan, R., & Sashidharan, S. (2021). Long COVID: An overview. *Diabetes & Metabolic Syndrome*, *15*(3), 869–875.

Rothan, H. A., & Byrareddy, S. N. (2020). The epidemiology and pathogenesis of coronavirus disease (COVID-19) outbreak. *Journal of Autoimmunity*, *109*, 102433.

Schultheiß, C., Willscher, E., Paschold, L., Gottschick, C., Klee, B., Glasauer, S., Henkes, S.-S., Bosurgi, L., Dutzmann, J., Sedding, D. G., Frese, T., Girndt, M., Höll, J. I., Gekle, M., Mikolajczyk, R., & Binder, M. (2021). From online data collection to identification of disease mechanisms: The IL-1ß, IL-6 and TNF-α cytokine triad is associated with post-acute sequelae of COVID-19 in a digital research cohort. *SSRN Electronic Journal*. https://doi.org/10.2139/ssrn.3963839

Scully, E. P., Haverfield, J., Ursin, R. L., Tannenbaum, C., & Klein, S. L. (2020). Considering how biological sex impacts immune responses and COVID-19 outcomes. *Nature Reviews. Immunology*, *20*(7), 442–447.

Sette, A., & Crotty, S. (2021). Adaptive immunity to SARS-CoV-2 and COVID-19.

*Cell*, *184*(4), 861–880.

Shin, M.-S., Park, S.-Y., Park, S.-R., Seol, S.-H., & Kwon, J. S. (2006). Clinical and empirical applications of the Rey-Osterrieth Complex Figure Test. *Nature Protocols*, *1*(2), 892–899.

Shi, Y., Wang, G., Cai, X.-P., Deng, J.-W., Zheng, L., Zhu, H.-H., Zheng, M., Yang, B., & Chen, Z. (2020). An overview of COVID-19. *Journal of Zhejiang University. Science. B*, *21*(5), 343–360.

Streicher, F., & Jouvenet, N. (2019). Stimulation of Innate Immunity by Host and Viral RNAs. *Trends in Immunology*, *40*(12), 1134–1148.

Taipa, R., das Neves, S. P., Sousa, A. L., Fernandes, J., Pinto, C., Correia, A. P., Santos, E., Pinto, P. S., Carneiro, P., Costa, P., Santos, D., Alonso, I., Palha, J., Marques, F., Cavaco, S., & Sousa, N. (2019). Proinflammatory and anti-inflammatory cytokines in the CSF of patients with Alzheimer's disease and their correlation with cognitive decline. *Neurobiology of Aging*, *76*, 125–132.

Takahashi, T., Ellingson, M. K., Wong, P., Israelow, B., Lucas, C., Klein, J., Silva, J., Mao, T., Oh, J. E., Tokuyama, M., Lu, P., Venkataraman, A., Park, A., Liu, F., Meir, A., Sun, J., Wang, E. Y., Casanovas-Massana, A., Wyllie, A. L., … Iwasaki, A. (2020). Sex differences in immune responses that underlie COVID-19 disease outcomes. *Nature*, *588*(7837), 315–320.

Tanaka, T., Narazaki, M., & Kishimoto, T. (2014). IL-6 in inflammation, immunity, and disease. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, *6*(10), a016295.

Tortora, G. J., Funke, B. R., & Case, C. L. (2019). Microbiology: An Introduction. Pearson.

Troyer, E. A., Kohn, J. N., & Hong, S. (2020). Are we facing a crashing wave of neuropsychiatric sequelae of COVID-19? Neuropsychiatric symptoms and potential immunologic mechanisms. *Brain, Behavior, and Immunity*, *87*, 34–39.

Tsampasian, V., Elghazaly, H., Chattopadhyay, R., Debski, M., Naing, T. K. P., Garg, P., Clark, A., Ntatsaki, E., & Vassiliou, V. S. (2023). Risk Factors Associated With Post-COVID-19 Condition: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Internal Medicine*, *183*(6), 566–580.

Vanderheiden, A., & Klein, R. S. (2022). Neuroinflammation and COVID-19. *Current Opinion in Neurobiology*, *76*, 102608.

Wang, P., Jin, L., Zhang, M., Wu, Y., Duan, Z., Guo, Y., Wang, C., Guo, Y., Chen, W., Liao, Z., Wang, Y., Lai, R., Lee, L. P., & Qin, J. (2023). Blood-brain barrier injury

and neuroinflammation induced by SARS-CoV-2 in a lung-brain microphysiological system. *Nature Biomedical Engineering*. https://doi.org/10.1038/s41551-023-01054-w

Wang, W., Tang, J., & Wei, F. (2020). Updated understanding of the outbreak of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) in Wuhan, China. *Journal of Medical Virology*, *92*(4), 441–447.

Wei, Y.-C., Huang, L.-Y., Lin, C., Shyu, Y.-C., & Chen, C.-K. (2021). Taiwanese Depression Questionnaire and AD8 Questionnaire for Screening Late-Life Depression in Communities. *Neuropsychiatric Disease and Treatment*, *17*, 747–755.

Woo, M. S., Malsy, J., Pöttgen, J., Seddiq Zai, S., Ufer, F., Hadjilaou, A., Schmiedel, S., Addo, M. M., Gerloff, C., Heesen, C., Schulze Zur Wiesch, J., & Friese, M. A. (2020). Frequent neurocognitive deficits after recovery from mild COVID-19. *Brain Communications*, *2*(2), fcaa205.

Wu, W.-K., Llewellyn, O. P. C., Bates, D. O., Nicholson, L. B., & Dick, A. D. (2010). IL-10 regulation of macrophage VEGF production is dependent on macrophage polarisation and hypoxia. *Immunobiology*, *215*(9-10), 796–803.

Wu, X., Shen, Q., Chang, H., Li, J., & Xing, D. (2022). Promoted CD4 T cell-derived IFN-γ/IL-10 by photobiomodulation therapy modulates neurogenesis to ameliorate cognitive deficits in APP/PS1 and 3xTg-AD mice. *Journal of Neuroinflammation*, *19*(1), 253.

Xu, Z., Shi, L., Wang, Y., Zhang, J., Huang, L., Zhang, C., Liu, S., Zhao, P., Liu, H., Zhu, L., Tai, Y., Bai, C., Gao, T., Song, J., Xia, P., Dong, J., Zhao, J., & Wang, F.-S. (2020). Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome. *The Lancet. Respiratory Medicine*, *8*(4), 420–422.

Yang, J., & Qiu, M. (2022). Mild Respiratory COVID-Induced Neuroinflammation Causes Neurological Deficits. *Neuroscience Bulletin*, 1–3.

Yuan, Y., Jiao, B., Qu, L., Yang, D., & Liu, R. (2023). The development of COVID-19 treatment. *Frontiers in Immunology*, *14*, 1125246.

Zhang, X., Lv, L., Min, G., Wang, Q., Zhao, Y., & Li, Y. (2021). Overview of the Complex Figure Test and Its Clinical Application in Neuropsychiatric Disorders, Including Copying and Recall. *Frontiers in Neurology*, *12*, 680474.

Zhu, H., Hu, S., Li, Y., Sun, Y., Xiong, X., Hu, X., Chen, J., & Qiu, S. (2022). Interleukins and Ischemic Stroke. *Frontiers in Immunology*, *13*, 828447.

# ANEXOS

## ANEXO A - Parecer Consubstanciado do CEP

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Plataforma Brasil

### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

**DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

**Título da Pesquisa:** Manifestações e sequelas neuropsiquiátricas da COVID-19: aspectos clínicos e moleculares

**Pesquisador:** Marco Aurélio RomanoSilva

**Área Temática:**

**Versão:** 2

**CAAE:** 33768820.1.0000.5149

**Instituição Proponente:** Faculdade de Medicina da UFMG

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

**DADOS DO PARECER**

**Número do Parecer:** 4.155.306

**Apresentação do Projeto:**

Trata-se de projeto de pesquisa composto por dois estudos, um transversal e um prospectivo, visando avaliar os impactos neuropsiquiátricos da COVID-19. A amostra prevista é de 275 participantes, divididos em três grupos: controles; indivíduos, que têm testes positivos para COVID-19, mas sem comorbidades; e, indivíduos, que têm testes positivos para COVID-19, com comorbidades. As avaliações neuropsiquiátricas propostas incluem testes presenciais e à distância. Os testes propostos são publicados e de uso clínico corrente. As avaliações biológicas incluem: coleta de 10 mL de sangue periférico, do qual serão feitos testes de anticorpos (IgM e IgG) e outras moléculas do sistema imune; eletroencefalograma; tomografia computadorizada por PET/CT; e, ressonância nuclear magnética. Em termos de procedimentos, os dois estudos são semelhantes, exceto porque, no estudo transversal, os participantes serão avaliados apenas uma vez, enquanto no estudo longitudinal, os participantes deverão realizar a avaliação neuropsiquiátrica semestralmente e a biológica anualmente. A duração da coleta de dados online foi estimada em 40 minutos e a presencial em 2 horas. O protocolo de pesquisa será registrado junto a OMS e os dados não identificados dos participantes serão compartilhados com a OMS. Critérios de inclusão: pacientes com SARS-CoV-2 confirmado por teste RT-PCR, idade igual ou maior do que 18 anos. Critérios de exclusão: histórico de doenças auto-imunes, transtornos psiquiátricos e/ou doenças neurológicas prévios, histórico de infecções recorrentes, abuso de substâncias, cirurgia no sistema nervoso

**Endereço:** Av. Presidente Antônio Carlos,6627 2º Ad SI 2005
**Bairro:** Unidade Administrativa II **CEP:** 31.270-901
**UF:** MG **Município:** BELO HORIZONTE
**Telefone:** (31)3409-4592 **E-mail:** coep@prpq.ufmg.br

central, e intubação endotraqueal
ou orotraqueal durante a internação/tratamento da SARS-CoV-2. A análise estatística proposta é adequada e foi feita estimativa de poder preditivo da amostra. Projeto submetido a "Chamada MCTIC/CNPq/FNDCT/MS/SCTIE/Decit No 07/2020, Pesquisas para enfrentamento da COVID-19".

**Objetivo da Pesquisa:**

Os autores informam os seguintes objetivos: "Objetivo primário- Monitoramento neuro-psiquiátrico prospectivo de indivíduos expostos ao SARS-CoV-2, bem como seu status neuroimune/neuroinflamatório, para entender o impacto da COVID-19 e estabelecer uma estrutura de integração da psiconeuroimunologia nos estudos epidemiológicos de pandemias. Serão investigados os mecanismos potenciais pelos quais os sintomas neuropsiquiátricos podem se desenvolver, especialmente no contexto de reações imunes à doença viral, bem como seus futuros impactos. Objetivo Secundário: 1. Construir um banco de dados neuropsicológicos de casos da doença do coronavírus no país (dados padronizados, repetidos longitudinalmente e escaláveis); 2. Investigar a taxa de sintomas neuropsiquiátricos, durante o acompanhamento e examinar possíveis preditores
sociodemográficos, moleculares e clínicos da COVID-19 dentro desta coorte; 3. Entender como o SARS-CoV-2 pode entrar e se propagar pelo cérebro e como a resposta imune à infecção pelo SARS-CoV-2 contribui para os sintomas neuro-psiquiátricos; 4. Validar biomarcadores clínicos e moleculares da neuroinfecção por SARS-CoV-2."

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

Os autores identificam os riscos de desconforto durante os procedimentos. Como medidas protetivas, informam que os procedimentos serão executados por profissionais treinados e que será enfatizado para o participante seu direito de não participação. Também identificam o risco de quebra de sigilo dos dados dos participantes. Como medidas protetoras, informam que os dados serão trabalhados de forma anonimizada e geridos apenas pelos pesquisadores responsáveis. Como benefícios, os autores informam que os participantes poderão receber laudos da avaliação neuropsiquiátrica, caso solicitem.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

Embora a mídia em geral dê ênfase aos sintomas respiratórios e a tempestade de citocinas da COVID-19, na literatura internacional têm havido relatos de acometimento neurológico, como a Síndrome de Guillain-Barre, por exemplo. Na sequencia de outras pandemias, houve aumento da

frequência de complicações neurológicas. Como a COVID-19 é uma doença nova, estudos como este são muito necessários. O estudo está bem delineado e tem potencial para ajudar na identificação das alterações neuropsiquiátricas de curto/médio prazo. Um aspecto importante é a interação com a OMS. Estes estudos são difíceis de conduzir, em função da complexidade e da quantidade de trabalho envolvidos. Daí o valor de agregar os dados aos bancos de dados de Saúde Pública internacionais.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Os autores apresentam: Folha de Rosto, devidamente preenchida e assinada via SEI; Projeto de Pesquisa na versão Plataforma Brasil e na versão submetida a "Chamada MCTIC/CNPq/FNDCT/MS/SCTIE/Decit No 07/2020, Pesquisas para enfrentamento da COVID-19"; parecer consubstanciado do departamento de origem do coordenador, recomendando a aprovação do projeto e assinado via SEI pelo Chefe de Departamento; TCLE para o estudo transversal; TCLE para o estudo longitudinal; e, termo de compromisso de utilização de dados (TCUD). Os TCLEs tem formato de carta-convite, linguagem clara e acessível, informam os procedimentos que serão feitos, direito de não participar ou se retirar da pesquisa, informam sobre riscos e benefícios, informam que não haverá pagamentos de parte a parte, informam que os pacientes poderão pedir laudo da avaliação neuropsiquiátrica. Informam contato do pesquisador responsável e que o mesmo deve ser consultado em caso de dúvidas sobre a pesquisa; informam o contato do COEP/UFMG e o mesmo deve ser consultado em caso de dúvidas sobre aspectos éticos da pesquisa. Preveem o espaço para as rubricas na primeira página. O TCUD está adequadamente formulado e assinado. Indica-se no TCUD: "São dados a serem coletados dados clínicos ambulatoriais e hospitalares dos pacientes, somente após aprovação do projeto de pesquisa pelo Comitê de Ética da Universidade Federal de Minas Gerais (CEP-UFMG) e registrados no período de entre Janeiro de 2020 e Dezembro de 2023. [...] Devido à impossibilidade de obtenção do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido de todos os sujeitos, assinaremos esse Termo de Consentimento de Uso de Banco de Dados, para a salvaguarda dos direitos dos participantes." Informam adequadamente os riscos dos procedimentos envolvidos e orientam as medidas protetivas perante os riscos. O modelo de carta de anuência para as instituições onde serão coletados os dados está no final do TCUD. Apresentam Termo de Constituição de Biorrepositório, adequadamente formulado e devidamente assinado. Apresentam o termo de anuência do Centro de Tecnologia em Medicina Molecular da UFMG, onde será realizado o PET/CT. Apresentam Termo de autorização do uso de imagens para os exames de imagem e fotografias dos pacientes.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS



**Recomendações:**

Não há.

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Por considerar que o projeto é está bem delineado, tem potencial para gerar informação científica nova, respeitando as regulamentações éticas vigentes, encaminho à aprovação.

**Considerações Finais a critério do CEP:**

Tendo em vista a legislação vigente (Resolução CNS 466/12), o CEP-UFMG recomenda aos Pesquisadores: comunicar toda e qualquer alteração do projeto e do termo de consentimento via emenda na Plataforma Brasil, informar imediatamente qualquer evento adverso ocorrido durante o desenvolvimento da pesquisa (via documental encaminhada em papel), apresentar na forma de notificação relatórios parciais do andamento do mesmo a cada 06 (seis) meses e ao término da pesquisa encaminhar a este Comitê um sumário dos resultados do projeto (relatório final).

**Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:**

| Tipo Documento | Arquivo | Postagem | Autor | Situação |
|---|---|---|---|---|
| Informações Básicas do Projeto | PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1549259.pdf | 09/07/2020 11:03:26 | | Aceito |
| Outros | Carta_resposta_CEP.docx | 09/07/2020 10:53:01 | Jonas Jardim de Paula | Aceito |
| Outros | Termo_usodeimagem.docx | 09/07/2020 10:48:59 | Jonas Jardim de Paula | Aceito |
| TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência | TCLE_versao2.docx | 09/07/2020 10:43:45 | Jonas Jardim de Paula | Aceito |
| Outros | SEIUFMG0174129OficioRESPOSTA.pdf | 09/07/2020 10:22:53 | Marco Aurélio RomanoSilva | Aceito |
| Outros | SEIUFMG0116935ParecerChefe.pdf | 09/07/2020 10:20:01 | Marco Aurélio RomanoSilva | Aceito |
| Declaração de Instituição e Infraestrutura | SEIUFMG0162081DeclaraCTMM.pdf | 09/07/2020 09:59:30 | Marco Aurélio RomanoSilva | Aceito |
| Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco | SEIUFMG0169543Biorrep.pdf | 09/07/2020 09:57:05 | Marco Aurélio RomanoSilva | Aceito |
| Projeto Detalhado / Brochura | Brochura_Covid.docx | 18/06/2020 13:31:23 | Jonas Jardim de Paula | Aceito |

**Endereço:** Av. Presidente Antônio Carlos,6627 2° Ad SI 2005
**Bairro:** Unidade Administrativa II **CEP:** 31.270-901
**UF:** MG **Município:** BELO HORIZONTE
**Telefone:** (31)3409-4592 **E-mail:** coep@prpq.ufmg.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Continuação do Parecer: 4.155.306

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| Investigador | Brochura_Covid.docx | 18/06/2020 13:31:23 | Jonas Jardim de Paula | Aceito |
| Outros | CovidCamara.pdf | 18/06/2020 13:30:03 | Jonas Jardim de Paula | Aceito |
| Folha de Rosto | FRosto.pdf | 18/06/2020 13:29:06 | Jonas Jardim de Paula | Aceito |
| Outros | Termo_usodedados.docx | 27/05/2020 17:02:05 | Jonas Jardim de Paula | Aceito |

**Situação do Parecer:**
Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**
Não

BELO HORIZONTE, 15 de Julho de 2020

**Assinado por:**
**Críssia Carem Paiva Fontainha**
**(Coordenador(a))**

**Endereço:** Av. Presidente Antônio Carlos,6627 2° Ad SI 2005
**Bairro:** Unidade Administrativa II **CEP:** 31.270-901
**UF:** MG **Município:** BELO HORIZONTE
**Telefone:** (31)3409-4592 **E-mail:** coep@prpq.ufmg.br

## ANEXO B - Protocolo Neuropsicologia

Protocolo elaborado por Jonas Jardim de Paula e Rachel Elisa R. P. de Paiva.

Fluência Verbal Alternada:

Esse instrumento é destinado à avaliação dos processos de fluência de palavras, essa habilidade complexa envolve aspectos cognitivos relacionados às funções executivas (sobretudo flexibilidade cognitiva), linguagem (expressiva, capacidade articulatória), acesso ao sistema de memória semântica e velocidade de processamento (De Paula et al., 2015). O teste consiste em três etapas, durante as quais o paciente é solicitado a lembrar e produzir o maior número possível de palavras pertencentes a duas categorias específicas: Animais e Frutas. Na primeira etapa, o participante deve listar o maior número de palavras relacionadas a "Animais" em 60 segundos. Em seguida, na segunda etapa, a tarefa é fazer o mesmo com a categoria "Frutas" como mesmo tempo. Por fim, na terceira etapa, o paciente deve alternar entre as duas categorias, seguindo as instruções fornecidas, durante os 60 segundos pré-estabelecidos.

Figura Complexa de Rey-Osterrieth e Figura de Taylor Modificada:

Instrumentos destinados à avaliação de habilidades de organização visuoespacial, planejamento e desenvolvimento de estratégias, bem como memória (Hubley, 1996; 1998; Rey & Oliveira, 1999). O examinando é solicitado a copiar a figura e depois, sem aviso prévio, é solicitado a reproduzi-la de memória. Tanto memória imediata como a memória tardia podem ser avaliadas. No caso do presente estudo, como teríamos avaliações repetidas, para minimizar o fator de aprendizagem diante do conteúdo apresentado, alternamos o uso das figuras complexas de Rey-Osterrieth e com a Figura Modificada de Taylor dada a elevada concordância dos resultados entre estas duas versões e suas características psicométricas (Hubley, 2002). A Figura 3 exibe as duas figuras utilizadas.

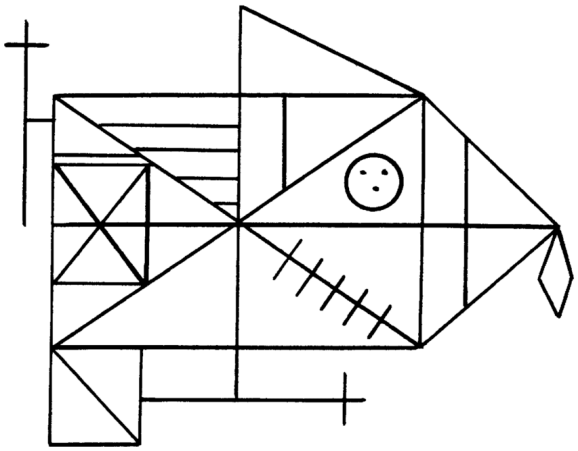

Figura Complexa de Rey-Osterrieth

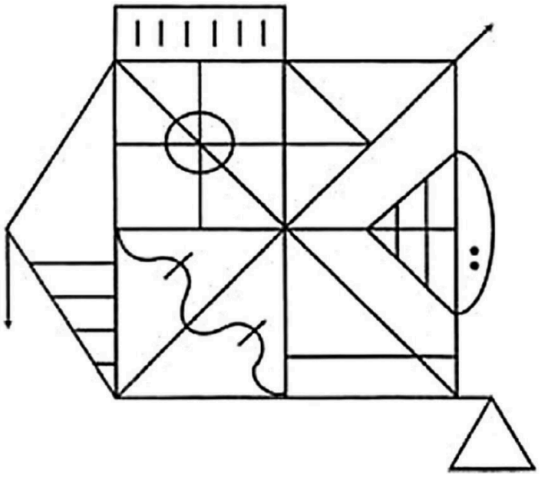

Figura de Taylor Modificada

Figura 3 – Estímulos utilizados na avaliação da visuoconstrução.

Fonte: Reprodução de Hubley (2002).

Memória Lógica:

Instrumento destinado à avaliação da evocação imediata, tardia e reconhecimento da memória episódica. O teste consiste em uma breve estória, como uma notícia de jornal, que deve ser lida ao paciente. Após a leitura, o paciente deve repeti-la ao examinador da melhor forma que puder, independente da ordem dos eventos. O processo se repete após um período de 25 a 30 minutos (evocação tardia) (Quadro 2). Neste estudo utilizamos alternamos entre duas versões da tarefa para reduzir o efeito da aprendizagem de conteúdo ao longo das avaliações. As versões propostas por Nitrini (2008) e Martins et al. (2015) são expostas no Quadro 2.

Quadro 2 – Histórias apresentadas para avaliação da memória lógica.

| 1ª história |
| --- |
| *"Na madrugada de quinta-feira, um ônibus que ia do Rio a São Paulo, bateu em um caminhão carregado de cimento. Treze passageiros ficaram feridos, sendo dois em estado grave. O motorista do caminhão faleceu no local. Segundo o comandante da polícia rodoviária, o ônibus estava com velocidade excessiva e havia neblina na estrada. Este é o terceiro acidente de graves proporções que* |

| |
|---|
| *ocorre nesse local neste ano.”* |
| 2ª história |
| *"As sete horas de uma segunda-feira à noite, José Nascimento de Curitiba, estava vendo televisão enquanto se vestia para sair. O boletim do tempo interrompeu o programa para avisar que uma tempestade se aproximava e cairia dentro de duas a três horas durando até a manhã seguinte, o repórter disse que a tempestade poderia provocar inundação de até 1 metro de água causando frio de até cinco graus. José decidiu ficar em casa ele tirou o casaco e sentou para ver filmes antigos."* |

Span de Dígitos:

Teste destinado à avaliação da memória de trabalho, essa função é essencial para armazenar temporariamente e manipular informações mentais (Figueiredo & Nascimento, 2007). Ela serve como nossa "área de trabalho" mental, possibilitando resolver problemas, comunicar-nos, acessar memórias e executar tarefas complexas. É crucial para o funcionamento eficiente de nossas atividades diárias. O teste consiste em sequências de números de 1 a 9 as quais devem ser repetidas pelo sujeito. Aplica-se primeiro a ordem direta (onde ele deve repetir da forma como ouviu) e depois na ordem inversa (onde ele deve repetir de trás pra frente).

Teste de Trilhas (*Trail Making Test*):

Este teste avalia características diferentes da atenção simples e complexa, além da flexibilidade cognitiva e da velocidade psicomotora (Bowie & Harvey, 2006; Carvalho & Caramelli, 2020; Zimmermann et al., 2017). O teste contém duas etapas, na primeira o avaliando precisa ligar em ordem crescente, os números apresentados o mais rápido que conseguir. Na segunda etapa é necessário a alternância entre números e letras, sendo que os números devem estar em ordem crescente e as letras em ordem alfabética (Figura 4).

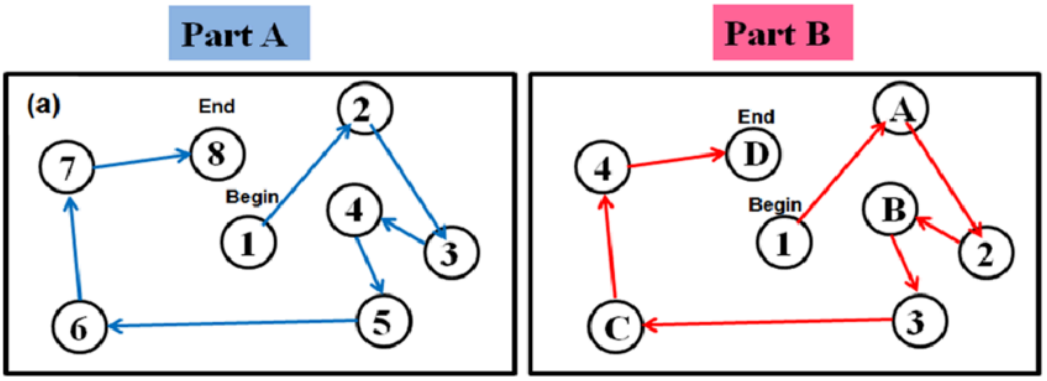


Figura 4 – Demonstração das etapas do Teste de Trilhas.

Fonte: Reprodução de Kim et al. (2016).

Teste dos Cinco Pontos:

Este teste é destinado à avaliação dos processos de fluência motora e não-verbal, sendo relacionado aos processos de funções executivas (Strauss et al., 2006). É um teste sensível na caracterização de transtornos neurocognitivos e lesões cerebrais. Nesta tarefa é dado ao avaliando uma folha com uma série de quadrados, cada um deles contendo 5 pontos. A tarefa é fazer desenhos unindo os pontos de cada quadrado de modo que não se repitam durante 3 minutos (Figura 5).

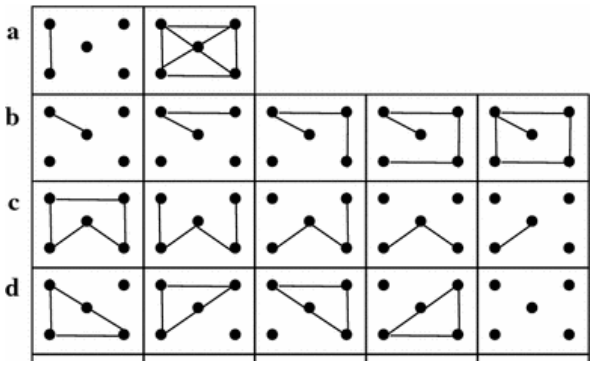


Figura 5 – Demonstração da execução do Teste dos Cinco Pontos

Fonte: Reprodução de Cattelani et al. (2011).