

PEDRO CARDOSO SOARES

**Tratamentos experimentais para a alteração prolongada de paladar
desencadeada pela infecção por COVID-19, Ensaio Clínico Randomizado**

São Paulo

2022

PEDRO CARDOSO SOARES

**Tratamentos experimentais para a alteração prolongada de paladar
desencadeada pela infecção por COVID-19, Ensaio Clínico Randomizado**

Versão Corrigida

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, pelo Programa de Pós-Graduação em **Odontologia, Departamento de Dentística**, para obtenção do título de Mestre em **Ciências Odontológicas**.

Área de concentração: Lasers em Odontologia

Orientador: Profa. Dra. Luciane Hiramatsu Azevedo

São Paulo

2022

Catálogo da Publicação
Serviço de Documentação Odontológica
Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo

Soares, Pedro Cardoso.

Tratamentos experimentais para a alteração prolongada de paladar desencadeada pela infecção por COVID-19. Ensaio Clínico Randomizado / Pedro Cardoso Soares; orientadora Luciane Hiramatsu Azevedo. -- São Paulo, 2022.

124 p. : fig., tab. ; 30 cm.

Dissertação (Mestrado) -- Programa de Pós-Graduação em Odontologia. Área de concentração: Lasers em Odontologia. -- Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo.

Versão Corrigida.

1. COVID-19. 2. Terapia de Fotobiomodulação. 3. Complexo B. 4. Alterações de paladar. 5. COVID Longa. I. Azevedo, Luciane Hiramatsu. II. Título.

Soares PC. Tratamentos experimentais para a alteração prolongada de paladar desencadeada pela infecção por COVID-19, Ensaio Clínico Randomizado. Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Aprovado em: 10/02/2023

Banca Examinadora

Prof(a). Dr(a). Karen Muller Ramalho

Instituição: Universidade Ibirapuera

Julgamento: Aprovado

Prof(a). Dr(a). Denise Maria Zezell

Instituição: Universidade de São Paulo

Julgamento: Aprovado

Prof(a). Dr(a). Carlos de Paula Eduardo

Instituição: Universidade de São Paulo

Julgamento: Aprovado

Se hoje aqui estou, é por causa deles. A Mirian e José, os dois maiores incentivadores dessa empreitada. Aqueles responsáveis pelos valores mais básicos, pela coragem, e por me ensinarem que devemos desbravar todas oportunidades que a vida nos proporciona.

A minha família, meus avós em especial. Aos dois que já se foram, Enor e Alda, sempre presentes no meu pensamento, e aqueles que sempre me esperam com um bom café, conversas e amor sempre que vou ao sul, Leda e Noel.

Ao meu irmão, meu parceiro, Mateus.

E a pessoa que topou sentar ao meu lado, nessa montanha russa chamada vida, presente em todos momentos de planejamento, incertezas, alegrias, além do auxílio possível de todas as formas, comemorando e dividindo todas angústias, erros e acertos ao longo do trajeto. Minha parceira, meu amor, Marcella.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

A **Prof. Dra. Luciane Hiramatsu Azevedo**, minha orientadora, aquela que topou um dos maiores desafios que é ser o orientador de alguém, em um dos períodos mais complexos de toda história da humanidade, sempre com sua sabedoria e serenidade. Sou imensamente grato por poder contar com seu conhecimento, sua generosidade e sua humildade. Você me deu todas as ferramentas, além de apontar os caminhos para meu desenvolvimento, crescimento pessoal e profissional.

AGRADECIMENTOS

A **Prof. Dra. Patrícia Moreira de Freitas Costa e Silva**, por todos os conselhos, conversas e convivência diária de quase 2 anos de LELO, abrindo caminhos e permitindo a visualização de possibilidades, por dividir toda sua experiência e orientação em diversos momentos.

Ao **Prof. Dr. Carlos de Paula Eduardo**, pioneiro, baluarte do desenvolvimento e uso dos Lasers na Odontologia, dono de uma bagagem profissional e pessoal invejável, além de grande fonte de inspiração para enxergar a Odontologia em sua totalidade, não restringindo seus limites as barreiras invisíveis das especialidades. Pelos seus pontuais e certos aconselhamentos, durante o desenvolvimento desta pesquisa e com seu feedback sempre permitindo uma evolução como acadêmico e clínico.

A **Profa. Dra. Denise Maria Zezell**, um ícone, uma referência para todo estudante que cogite desenvolver pesquisa com Lasers na área da saúde. Por sua pronta disponibilidade, didática, capacidade de integração de diferentes áreas do conhecimento, e acima de tudo, sua humanidade no conduzir e direcionar alunos na busca e desenvolvimento do conhecimento.

Ao **Prof. Dr. Fausto Medeiros Mendes**, por todo seu conhecimento estatístico, pelas dicas, e principalmente pelo auxílio na montagem do quebra-cabeças que é a interpretação da enorme quantidade de dados obtidos neste trabalho.

A **Profa. Dra. Alyne Simões**, por sua dedicação invejável e apontamentos, ao direcionar os alunos e possibilitar a eles o desenvolvimento do conhecimento, além de possibilitar a integração de diferentes áreas da odontologia para o desenvolvimento do Laser na Odontologia.

A **Profa. Dra. Ana Cecília Corrêa Aranha**, pelos ensinamentos e feedback, visando o aprimoramento e desenvolvimento de seus alunos, sempre preocupada com o desenvolvimento e crescimento de seus alunos.

Ao Departamento de Dentística, na pessoa do chefe de departamento, **Profa. Dra. Adriana Bona Matos**, e do coordenador do programa de pós-graduação, **Prof. Dr. Fernando Neves Nogueira**, e a todos professores da FOU SP, muito obrigado por todo conhecimento adquirido e convívio durante o mestrado.

A toda **equipe de professores do curso de Habilitação em Lasers em Odontologia da FFO**, sendo esses grandes mestres na busca da educação continuada, onde cada dia de convivência aprendo mais com vocês.

A equipe do LELO, **Liliane, Ana, Miriam e Rosana**, pelos incontáveis momentos de convivência e auxílio na operacionalização e viabilização desse estudo, além do café passado todo dia.

A todos **estagiários e alunos de graduação** que passaram pelo LELO neste 1 ano de pesquisa, em especial aqueles que participaram da pesquisa realizada, meu muito obrigado.

Aos colegas de pós-graduação e amigos feitos nessa nova fase: **Isabella, Jair, Fabianne, Paulo, Renan, Flávia, Vera, Rosângela, Caroi's, Shirley**, dentre tantos outros que foram parceiros de convivência dentro da FOU SP.

A toda Universidade de São Paulo, representada pela figura do Magnífico Reitor **Prof. Dr. Carlos Gilberto Carlotti Junior**, onde pude vivenciar e explorar um ambiente acadêmico único.

Ao **Estado Brasileiro e sua população**, pelo financiamento de meus estudos desde a graduação, pela oportunidade de uma bolsa no exterior via Ciências Sem Fronteiras, bem como o aporte financeiro que me permitiu almejar o título de Mestre. Não tenho palavras para agradecer a oportunidade que me foi disponibilizada, serei eternamente grato a este País, bem como tentarei da melhor forma retribuir para o desenvolvimento de sua Sociedade e Ciência.

“A inteligência é o farol que nos guia,
mas é a vontade que nos faz caminhar”.

Érico Veríssimo

RESUMO

Soares PC. Tratamentos experimentais para a alteração prolongada de paladar desencadeada pela infecção por COVID-19, Ensaio Clínico Randomizado [dissertação de mestrado]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2022. Versão Corrigida.

Palavras-chave: COVID-19. Terapia de Fotobiomodulação. Complexo B. Alterações de paladar. COVID Longa.

O objetivo deste estudo foi avaliar a resposta frente a diferentes tratamentos experimentais para tratar a alteração de paladar prolongada desencadeada pela COVID-19. Após levantamento da literatura disponível, foram formuladas hipóteses sobre a causa de tal sintoma, bem como o desenvolvimento de protocolos de tratamento experimentais com Terapia de Fotobiomodulação com diferentes comprimentos de onda (660 e 808 nm) e diferentes técnicas, bem como a resposta de remissão dos sintomas frente ao tratamento com complexo vitamínico do grupo B. Os participantes necessitavam ter o desenvolvimento de sintomas a pelo menos dois meses, com teste comprobatório da infecção por COVID-19 com data prévia ou próxima ao desenvolvimento auto reportado dos sintomas. 5 grupos foram randomizados, sendo o primeiro com 8 sessões de irradiação de dorso e bordo de língua com o comprimento de onda de 660 nm, 40 pontos, 1 J por ponto, 100 mW, *spot size* de 0,0984 cm²; o segundo com 8 sessões de irradiação de dorso e bordo de língua com o comprimento de onda de 808 nm, 40 pontos, 1 J por ponto, 100 mW, *spot size* 0,0984 cm²; o terceiro com ambos comprimentos de onda de 660 e 808 nm, 40 pontos, 8 sessões, 0,5 J por ponto, 100 mW por comprimento de onda, *spot size* de 0,0984 cm² por comprimento de onda; o quarto grupo consistiu da aplicação de 8 sessões irradiação intravascular transcutânea modificada sublingual, em ventre de língua, 6 pontos, 9 J por ponto, 100 mW, *spot size* de 0,0984 cm²; e o quinto grupo com o uso de complexo vitamínico do grupo B (Citoneurin 5.000 U.I), 3 comprimidos ao dia, após as refeições, durante 30 dias. As irradiações foram realizadas 2 vezes por semana, com espaço mínimo de 48 horas entre si. Todos os participantes foram avaliados quantitativamente e qualitativamente frente a perda de

paladar em um período inicial e após o protocolo experimental, tendo uma melhora significativamente relevante de quase todos parâmetros avaliados, à exceção do sabor salgado, quando comparados os resultados iniciais para os sabores ácido, amargo e doce bem como a soma total dos sabores (t0 mediana = 29, AIQ = 10.25, t1 mediana = 36, AIQ = 7.0, $p < 0.01$ - Wilcoxon's W test). As medianas de olfato auto reportada também tiveram aumento estatisticamente relevante (mediana t0 = 3.5 AIQ = 4, mediana t1 = 5 AIQ = 4, teste W de Wilcoxon $p = < 0.001$), quando avaliamos medianas de todos os tratamentos experimentais. A redução percentual dos participantes com disgeusia foi verificada de 41,7% (n=48) para 35,1% (n=37) no sabor amargo, ácido de 6,3% (n=48) contra 5,4% (n=37) e de 10,4% (n=48) para 0% (n=37) no gosto doce. Todavia, dos resultados obtidos, ao analisar os grupos individualmente considerando os valores finais, não foi possível determinar qual tratamento experimental possui maior índice na melhora desta condição. Este estudo acrescenta a literatura já existente dados sobre a população afetada e características clínicas desse tipo de alteração, como o acometimento maior de determinados sabores. Determinar quais tratamentos e que parâmetros devem ser utilizados para tratar essa condição ainda não é possível, apesar dos resultados obtidos. A falta de explicação conclusiva sobre sistemas envolvidos, bem como do mecanismo etiopatogênico, além das diferentes expressões dos sintomas entre indivíduos, segue como uma limitação e fonte de futuros estudos. Apesar das limitações, os tratamentos propostos neste estudo possuem potencial utilidade como uma ferramenta no suporte a pacientes com este tipo de alteração persistente.

ABSTRACT

Soares PC. Experimental protocols to treat COVID-19 Related Long Term Taste Impairment, Randomized Clinical Trial. Dissertação de Mestrado. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2022. Versão Corrigida.

The aim of this study was to evaluate the response to different experimental treatments to treat the prolonged taste alteration triggered by COVID-19. After surveying the available literature, hypotheses were formulated about the cause of such symptoms, as well as the development of experimental treatment protocols, using Photobiomodulation Therapy with different wavelengths (660 and 808 nm) and different techniques, and Complex B vitamin use. Participants needed to have developed taste impairment symptoms at least two months prior study inclusion, with a test confirming the infection by COVID-19 dated or close to the self-reported development of symptoms. Then 5 groups were randomized, the first with 8 sessions of irradiation of the dorsum and edge of the tongue with a wavelength of 660 nm, 40 points, 1 J per point, 100 mW, spot size of 0.0984 cm²; the second with 8 sessions of irradiation of the dorsum and edge of the tongue with a wavelength of 808 nm, 40 points, 1 J per point, 100 mW, spot size 0.0984 cm²; the third with both 660 and 808 nm wavelengths, 40 points, 8 sessions, 0.5 J per point, 100 mW per wavelength, spot size of 0.0984 cm² per wavelength; the fourth group consisted of the application of 8 sessions of sublingual modified transcutaneous intravascular irradiation, in the belly of the tongue, 6 points, 9 J per point, 100 mW, spot size of 0.0984 cm²; and the fifth group with the use of a vitamin complex from group B (Citoneurin 5,000 I.U.), 3 tablets a day, after meals, for 30 days. Irradiations were carried twice a week, with a minimal 48 hours interval between sessions. All participants were evaluated quantitatively and qualitatively against loss of taste in an initial period and after the experimental protocol, with a significantly relevant improvement in almost all parameters evaluated, with the exception of salty taste, when comparing the initial results for acid, sweet and bitter flavors, as well as the total sum of flavors (t0 median = 29, IQR = 10.25, t1 median = 36, IQR = 7.0, p=<0.01 - Wilcoxon's W test). The medians of self-reported smell also had a statistically significant increase (t0 median = 3.5 IQR = 4, t1 median = 5 IQR = 4, Wilcoxon's W test p = <0.001), when we evaluated medians of all experimental treatments. The percentage reduction of participants with dysgeusia was verified from t0 = 41.7% (n=48) to t1 = 35.1% (n=37) in the bitter taste, acid of 6.3% in t0 (n=48) against in t1 5.4% (n=37) and from 10.4% in t0 (n=48) to 0% in t1 (n=37) for the sweet taste. However, from the results

obtained, when analyzing the groups individually considering the final values, it was not possible to determine which experimental treatment has the highest rate of improvement in this condition. This study adds to the existing literature data on the affected population and clinical characteristics of this type of alteration, such as the greater involvement of certain flavors. Determining which treatments and which parameters should be used to treat this condition is still not possible, despite the results obtained. The lack of conclusive explanation about the systems involved, as well as the etiopathogenic mechanism, in addition to the different expressions of symptoms among individuals, remains a limitation and source of future studies. Despite the limitations, the treatments proposed in this study have potential utility as a tool to support patients with this type of persistent alteration.

Keywords: COVID-19. Photobiomodulation. Complex B vitamin. Taste Disorders.
Long COVID.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 2.1	Ilustração do SarS-CoV-2 e suas estruturas, sendo N - nucleocapsídeo, E - envelope, M - Membrana e S - Spike.....	33
Figura 2.2	Diferentes estruturas componentes da proteína spike do SarS-CoV-2.....	34
Figura 2.3	Estrutura do Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona, o papel do ACE2 na fisiologia e potenciais locais para atuação de moduladores.....	37
Figura 4.1	Fluxograma CONSORT de inclusão e randomização dos participantes.....	60
Figura 4.2	40 pontos de aplicação da técnica TFBM (660 (1 J), 808(1 J), 660 (0,5 J) e 808 (0,5 J) nm combinados - 100 mW) utilizados como referência nos grupos 1, 2 e 3.....	63
Figura 4.3	Pontos de aplicação da técnica IITMS, 660 nm, 9 J por ponto, 100 mW.....	64
Figura 5.1	Percepção gustativa de substâncias hiperconcentradas, frente a todos os sabores (0 a 10), prévios à intervenção. (n=48).....	71
Figura 5.2	Percepção gustativa de substância hiperconcentrada somatório de todos sabores (0 a 40). (n=48)	71
Figura 5.3	Resposta inicial ao somatório de substâncias hiperconcentradas (0-40), separada por grupos de intervenção.....	73
Figura 5.4	Resposta inicial frente a todas substâncias hiperconcentrada (0-10), separada por grupos de intervenção.....	74

Figura 5.5	Distribuição de Disgeusia, somatório de todas as substâncias (0-40) (n= 37).....	75
Figura 5.6	Distribuição de Disgeusia, somatório de todas as substâncias (0-40) (n= 37).....	76
Figura 5.7	Percepção total de sabores hiperconcentrados somados, inicial e final (0-40) (n=37).....	77
Figura 5.8	Percepção do sabor doce hiperconcentrado (0-10), inicial e final (n =37).....	78
Figura 5.9	Percepção do sabor salgado hiperconcentrado (0-10), inicial e final (n=37).....	79
Figura 5.10	Percepção do sabor ácido hiperconcentrado (0-10), inicial e final (n=37).....	79
Figura 5.11	Percepção do sabor amargo hiperconcentrado (0-10), inicial e final (n=37).....	80
Figura 5.12	Percepção de distorção de sabores hiperconcentrado somados (0-40), inicial e final(n=37).....	82
Figura 5.13	Olfato Inicial e Final dos diferentes Grupos 0-10 (Mediana e AIQ).....	83
Figura 5.14	Gráfico de medidas de tendência central Olfato Inicial e Final (n=37).....	84
Figura 5.15	Melhora Auto Reportada de Paladar Geral (n=37), dividido por grupo de intervenção.....	85

Figura 5.16	Melhora na percepção de paladar de proteínas em geral, dividido por grupo (n=37).....	86
Figura 5.17	Melhora na percepção de paladar auto reportado de café, dividido por grupo (n=37).....	86
Figura 5.18	Melhora na percepção de paladar auto reportado de refrigerante de cola, dividido por grupo (n=37).....	87
Figura 5.19	Melhora na percepção de paladar auto reportado de chocolate, dividido por grupo (n=37).....	87
Figura 5.20	Gráfico de mediana, média e amplitude interquartil e Teste Wilcoxon (abaixo do gráfico), considerando todos sabores somados (0-40), de todos os grupos somados, prévio e após a intervenção (n=37).....	88
Figura 5.21	Teste W considerando todos os grupos de intervenção, prévio e após aplicação de protocolo experimental. (n=37).....	89

LISTA DE QUADROS

Quadro 4.1	Substâncias e diluições utilizadas para teste de paladar.....	57
Quadro 4.2	Grupos e tratamentos experimentais propostos pelo estudo.....	61
Quadro 4.3	Número de sessões e frequência dos tratamentos experimentais propostos, bem como posologia do grupo 5.....	61
Quadro 4.4	Parâmetros de dosimetria de TFBM dos grupos 1 e 2.....	62
Quadro 4.5	Parâmetros de dosimetria de TFBM do grupo 3.....	63
Quadro 4.6	Parâmetros de dosimetria de TFBM do grupo 3.....	64

LISTA DE TABELAS

Tabela 5.1	Distribuição da amostra inicial por sexo (n=48).....	67
Tabela 5.2	Dados da amostra inicial por idade.....	68
Tabela 5.3	Duração dos sintomas da perda de paladar, registrado em meses.....	68
Tabela 5.4	Fumantes ativos, amostra inicial.....	68
Tabela 5.5	Comorbidades reportadas, diagnosticadas previamente à infecção por COVID-19.....	69
Tabela 5.6	Uso de qualquer medicamento ou complexo vitamínico de modo crônico, prévio à infecção por COVID-19.....	69
Tabela 5.7	Hipersensibilidade a fármacos auto-reportados previamente à infecção por COVID-19.....	69
Tabela 5.8	Hospitalização devido a infecção por COVID-19.....	70
Tabela 5.9	Alteração olfativa auto-reportada, após a infecção por COVID-19.	70
Tabela 5.10	Manifestação de outros sintomas persistentes associados à infecção por COVID-19.....	70
Tabela 5.11	Dados quantitativos teste gustativo prévio à intervenção, considerando percepção de substâncias hiperconcentradas individualmente (0-10) e somatório (0-40).....	72
Tabela 5.12	Número de participantes alocados por grupo, considerando participantes que finalizaram o protocolo de pesquisa.....	72

Tabela 5.13 Mediana e Amplitude Interquartil de todos os sabores, separados por grupo de intervenção. (n=37).....	81
Tabela 5.14 Melhora auto reportada de paladar por grupo de intervenção (n=37).....	88
Tabela 5.15 Associação entre melhora auto reportada e diferentes fatores de exposição prévios, e durante a fase infecciosa da COVID-19, além da relação entre melhora com sexo e idade.....	90
Tabela 5.16 Melhora auto reportada e melhora quantitativa da percepção de paladar, em números absolutos. (n=37).....	91
Tabela 5.17 Teste de Kruskal-Wallis considerando percepção do sabor Ácido, entre grupos, após aplicação do protocolo experimental.....	92
Tabela 5.18 Teste de Kruskal-Wallis considerando percepção do sabor Amargo, entre grupos, após aplicação do protocolo experimental.	93
Tabela 5.19 Teste de Kruskal-Wallis considerando percepção do sabor Doce, entre grupos, após aplicação do protocolo experimental.....	93
Tabela 5.20 Teste de Kruskal-Wallis considerando percepção do sabor Salgado, entre grupos, após aplicação do protocolo experimental.	94
Tabela 5.21 Teste de Kruskal-Wallis considerando percepção de sabores alterados, entre grupos, após aplicação do protocolo experimental.....	95
Tabela 5.22 Teste de Kruskal-Wallis considerando percepção de olfato auto-reportado, entre grupos, após aplicação do protocolo experimental.....	96

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACE2	<i>Angiotensin Converting Enzyme II</i> , Enzima Conversora de Angiotensina II
ATP	Adenosina Tri Fosfato
CCO	Citocromo C Oxidase
CDC	The Centers of Disease Control and prevention
ENT UK	British association of Ear Nose and Throat Surgery
ILBI	Intravascular Laser Blood Irradiation
ILIB	Inner Laser Irradiation of Blood
IITMS	Irradiação Intravascular Transmucosa Sublingual
LED	Light Emitting Diode
LLLT	Low Level Laser Therapy
OMS	Organização Mundial de Saúde
PBM	Photobiomodulation
RNA	<i>Ribonucleic Acid</i> , Ácido Ribonucleico
ROS	Reactive Oxygen Species
SNC	Sistema Nervoso Central
SNP	Sistema Nervoso Periférico
TFBM	Terapia de Fotobiomodulação
TMPRSS2	Transmembrane Serine Protease 2, Protease Transmembranar de Serina 2

LISTA DE SÍMBOLOS

C	Graus Celsius
nm	Nanômetros
g	Gramas
ml	Mililitros
s	Segundos
λ	Comprimento de Onda

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	29
2 REVISÃO DA LITERATURA	31
2.1 HISTÓRICO	31
2.2 MECANISMOS DE ETIOPATOGENIA DA COVID-19	33
2.3 ESTRUTURA E COMPOSIÇÃO DAS PAPILAS GUSTATIVAS	38
2.4 ESTRUTURA E COMPOSIÇÃO DAS ESTRUTURAS OLFATIVAS	39
2.5 ALTERAÇÕES DE PALADAR E OLFATO RELACIONADOS A COVID-19	40
2.6 HIPÓTESE DA PERDA OLFATO RELACIONADO A COVID-19	41
2.7 HIPÓTESE PERDA DE GUSTAÇÃO PELA COVID-19	42
2.8 HIPÓTESE PERDA DE PALADAR POR ALTERAÇÃO NO SISTEMA NERVOSO PERIFÉRICO	42
2.9 HIPÓTESE PERDA DE PALADAR POR ALTERAÇÃO NO SISTEMA NERVOSO CENTRAL	43
2.10 FLUXO SALIVAR E POTENCIAL RELAÇÃO COM PERDA DE PALADAR PELA COVID-19	44
2.11 EXPRESSÃO DE SINTOMAS PROLONGADOS COVID-19	44
2.12 PERDA DE PALADAR E OLFATO PROLONGADA	46
2.13 POSSIBILIDADE DE TRATAMENTOS	46
2.13.1 Fotobiomodulação (TFBM)	46
2.13.2 Irradiação Transdérmica do Sangue	49
2.13.3 Complexo B	51
3 PROPOSIÇÃO	53
4 CASUÍSTICA E MÉTODOS	55
4.1 CONSULTA INICIAL	55
4.1.1 Critérios de inclusão	56
4.1.2 Critérios de exclusão	56
4.1.3 Teste gustativo	56
4.2 OLFATO E DISTORÇÕES ALIMENTARES AUTO-REPORTADOS	59
4.3 RANDOMIZAÇÃO DOS PACIENTES	59
4.4 INTERVENÇÕES	61
4.4.1 Protocolos de laser utilizados	62
4.4.2 Utilização do complexo vitamínico B	65
4.5 REAVALIAÇÃO	65
4.6 TABULAÇÃO DADOS	65
4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA	66
5 RESULTADOS	67
5.1 RESULTADOS PRÉVIOS AO INÍCIO DO ESTUDO EXPERIMENTAL	67
5.1.1 Características da amostra inicial	67
5.1.2 Resultados ao teste de capacidade de gustação	70

5.2 RESULTADOS APÓS INTERVENÇÃO	77
5.2.1 Resultados ao teste quantitativo de percepção de substâncias hiperconcentradas	77
5.2.2 Avaliação da evolução de disgeusia	81
5.2.3 Avaliação de evolução do olfato auto reportado	83
5.3 ANÁLISE DADOS QUALITATIVOS	85
5.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA DO TRATAMENTO EXPERIMENTAL	88
5.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA INTERGRUPOS	92
6 DISCUSSÃO	97
7 CONCLUSÕES	104
REFERÊNCIAS	105

1 INTRODUÇÃO

A COVID-19 transformou a maneira como interagimos com a sociedade. Sua infecção foi inicialmente descrita na cidade de Wuhan, China. Por se tratar de um vírus de origem respiratória, com altas taxas de transmissibilidade, o mesmo se disseminou rapidamente pelo mundo, atingindo primeiramente o continente asiático ao final de 2019 e início de 2020, logo tendo se alastrado por todos os continentes. Caracterizada inicialmente como uma pneumonia de origem desconhecida, com altas taxas de evolução para insuficiência respiratória grave e levando a uma taxa de óbito alta (6,4%) naquele momento. (1) Devido a característica estrutural do COVID-19, o mesmo adentra o organismo por meio de receptores expressos em quase todo os sistemas humanos, sendo o principal responsável pela adesão e replicação os receptores de ACE2, TMPRSS2 e Furina. (2)

Ainda em 2020, a existência de outros sintomas, que não os respiratórios, começaram a ser reportados em pacientes infectados, dos quais a perda de paladar fazia parte. (3,4) Este sintoma foi posteriormente considerado preditor da infecção por grandes órgãos reguladores. (5,6) O paladar é um dos sentidos mais importantes para os humanos, uma vez que permite a identificação de alterações na comida e ambiente, servindo como proteção a intoxicação por diferentes alimentos, sendo essenciais para a sobrevivência. Sua alteração leva a grandes consequências na rotina dos indivíduos acometidos por tal, podendo trazer transtornos diretos à qualidade de vida. (7)

A alteração ou perda de paladar desencadeada pela COVID-19 começou a ser reportada como persistente em determinada parcela de infectados, mesmo após semanas ou meses da resolução da fase infecciosa. (8) A razão da persistência de tal sintoma até hoje ainda não foi esclarecida, bem como devido a tal fato a limitação de opções de tratamento para tal condição é evidente. Não se sabe se determinado desfecho é causado por uma alteração na homeostase do epitélio gustativo e olfativo, por alterações no sistema nervoso periférico, ou até mesmo no sistema nervoso central, bem como se tal alteração na homeostase é desencadeada por dano viral direto no momento da invasão inicial aos sistemas citados. (9–11)

Os números de infectados, só no Brasil, ultrapassam os 34 milhões de casos diagnosticados (Novembro 2022) (12), e considerando as estimativas do desenvolvimento de alterações de paladar persistente em aproximadamente 5% da população de infectados, tal condição torna-se um grande problema de saúde pública e afeta diretamente a vida de milhares de pessoas, que necessitam conviver com tal disfunção a longo prazo, afetando tanto a rotina quanto qualidade de vida dos acometidos por tal condição. (13)

Devido ao limitado entendimento de tal condição, e a ausência de potenciais meios de tratamento, um ensaio clínico randomizado foi idealizado pelos autores, com o objetivo de prover a tal parcela da população uma alternativa experimental de tratamentos. Os tratamentos propostos já são utilizados no manejo de danos causados por diferentes origens a percepção de paladar e olfato, sendo os tratamentos considerados e desenvolvidos a fotobiomodulação e uso de complexo vitamínico B. (14–16) Consideramos que o uso de tais tratamentos pode ser uma ferramenta inovadora para tal fim, não invasiva, segura e de fácil aplicação, para o manejo desses sintomas. A remissão parcial ou total desses sintomas pode ajudar essa população a remover restrições alimentares, auxiliar no correto aporte nutricional, retomar o prazer associado à alimentação, bem como uma melhora na qualidade de vida.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 HISTÓRICO

A COVID-19 inicialmente foi descrita como uma pneumonia de origem desconhecida em pacientes na cidade de Wuhan - China, nos meses finais do ano de 2019. (17) Posteriormente, a Comissão Nacional de Saúde da China associou essa pneumonia viral a um novo tipo de beta coronavírus, sendo este nomeado de COVID-19 pela Organização Mundial de Saúde (OMS). (18) A família de vírus nomeada de coronavírus abrange um grande espectro de estruturas, sendo eles vírus de RNA encapsulados que são difundidos entre humanos, outros mamíferos e pássaros, podendo desencadear alterações em diferentes sistemas do organismo. Os coronavírus são subdivididos em 4 grupos (alfa, beta, delta e gama), tendo cada um deles características específicas. (19,20)

As infecções por diferentes tipos de coronavírus não são algo novo, onde podemos mencionar surtos prévios ocorridos no Oriente Médio, onde um tipo de coronavírus denominado MERS-COV foi responsável por infecções respiratórias agudas. A própria China, nos anos de 2002 e 2003, também teve o surgimento de um tipo de coronavírus nomeado SARS-COV, este desencadeando surtos de infecções com consequências no sistema respiratório. Dentre a família dos coronavírus responsáveis por infectar humanos, os pertencentes à subdivisão beta coronavírus são os mais importantes a se considerar, sendo dessa família todos os vírus acima citados, incluindo o vírus responsável pela COVID-19. A explicação para eventuais surtos de tal vírus se dá pela natureza dos coronavírus, onde sua alta prevalência na natureza, alta diversidade genética e frequente recombinação genômica, permitem mutações que eventualmente os permitem infectar humanos. Soma-se a isso a grande interação entre humanos e animais dentro do contexto global atual, onde a criação em larga escala de animais em confinamento é muito prevalente e a recombinação genética acaba por ser acelerada nessas condições, bem como o consumo e contato com os mais diferentes tipos de animais, o que por

consequente, leva a ocorrência da transmissão inter-espécies de determinados vírus com relativa facilidade. (21,22)

Em relação ao SarS-CoV-2, a origem das primeiras infecções por COVID-19 foram descritas como uma misteriosa pneumonia desenvolvida em pessoas que frequentaram um mercado de frutos do mar, na cidade de Wuhan, província de Hubei, China. Essa condição foi inicialmente manifestada como uma infecção em 3 pessoas, tendo os sintomas de febre (37 a 38 °C) e tosse associada a desconforto no peito, com o desfecho de óbito de 1 dessas 3 pessoas inicialmente contaminadas. O genoma deste vírus misterioso foi analisado e identificado como similaridade de 85% a um coronavírus já descrito em morcegos no sul da China, o que sustenta a hipótese de o vírus causador de tal pneumonia ser advinda dos morcegos. O vírus não necessariamente foi transmitido diretamente dos morcegos aos humanos, tendo possivelmente outras espécies como intermediadoras, algo comum no histórico de mutações de outras espécies virais. A possibilidade de infecção em humanos se deu por uma mutação na proteína *Spike*, visto que a proteína *spike* é a responsável pela adesão inicial do SarS-CoV-2 às células, sendo essa mutação indispensável para permitir a invasão de células humanas. (23,24)

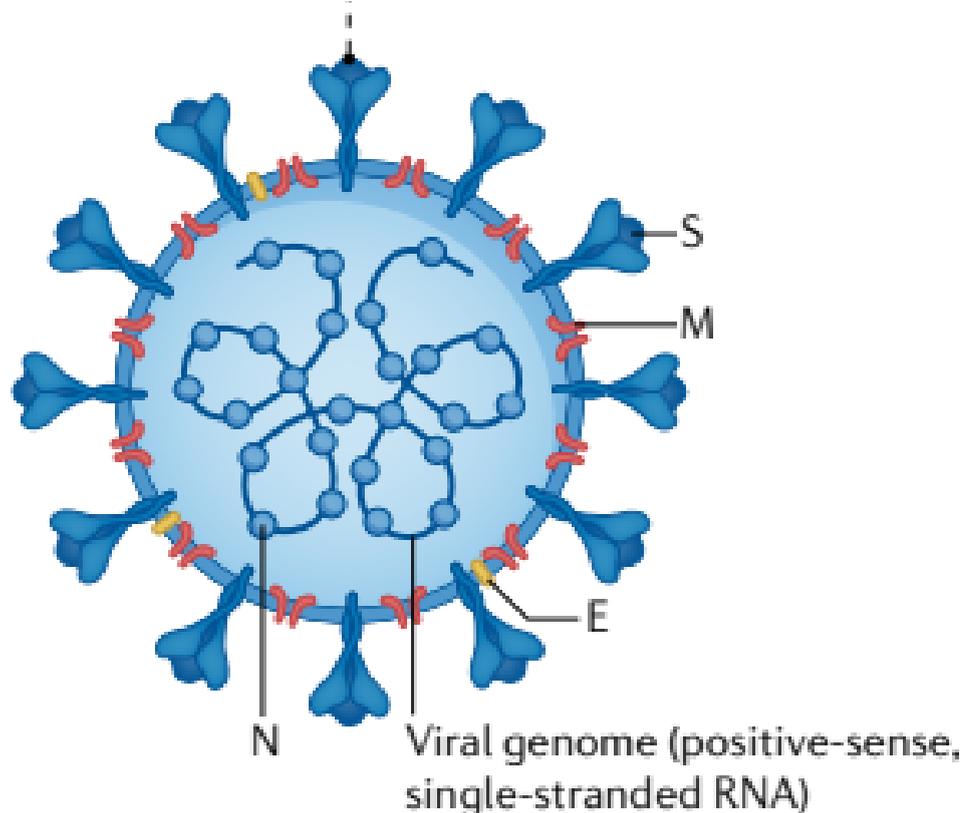
No transcorrer do ano de 2020, rapidamente o COVID-19 se propagou pelos diferentes continentes, levando a declaração da condição de pandemia global pela OMS no mês de março de 2020. Os números atuais (março de 2022) contabilizam aproximadamente 6 milhões de mortes causadas por essa condição, sendo a maior causa de mortes devido a um único vírus desde 1918, onde a pandemia de influenza (gripe espanhola) teve seu ápice. Considerando os levantamentos epidemiológicos recentes na literatura, a COVID-19 já registra casos em 223 países, com mais de 472 milhões de pessoas infectadas. Um dos principais agravantes relativos a tal infecção é a sua velocidade exponencial de propagação, de modo que o contato com gotículas ou fluídos contendo o vírus acaba permitindo a contaminação de várias pessoas por uma única pessoa que esteja em fase ativa da doença. Além de todos esses fatores, outro fator complicador é a existência de casos assintomáticos, onde indivíduos não expressam qualquer sintoma, entretanto possuem a capacidade de propagar a infecção, gerando uma necessidade gigantesca de controle social e circulação para limitação da propagação do vírus. As taxas de hospitalização em decorrência de tal infecção estavam em torno de 10-20% dos casos no ano de 2020, e a taxa de mortalidade de infectados de acordo com a OMS é de 2,2%, entretanto

essa taxa varia de acordo com a etnia, idade, doenças de base, dentre outros fatores dentro da população analisada. (25,26)

2.2 MECANISMOS DE ETIOPATOGENIA DA COVID-19

Para compreendermos o processo de invasão do vírus, primeiro necessitamos visualizar a estrutura viral do SarS-CoV-2, a qual consiste de 4 estruturas, sendo um nucleocapsídeo, envelope, *spike*, e membrana. Devido a disposição das estruturas externas, configuradas pela proteína *spike*, lembrando o posicionamento de uma coroa, tais vírus foram denominados coronavírus. (27)

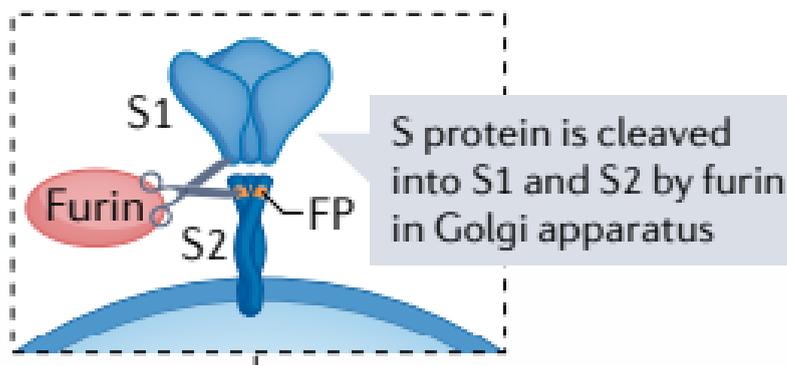
Figura 2.1 - Ilustração do SarS-CoV-2 e suas estruturas, sendo N - nucleocapsídeo, E - envelope, M - Membrana e S - Spike



Fonte: Jackson *et al.* (27)

Dentro da porção denominada *spike*, essa estrutura se divide em 2 partes, sendo cada uma responsável por uma etapa da invasão tecidual. S1 é responsável pelo processo de adesão direta às células. A região entre S1 e S2 é clivada pela proteína furina, permitindo a exposição de um peptídeo de fusão (FP) responsável pela invasão secundária de células vizinhas à primeira infectada. Tais estruturas podem ser observadas na Figura 2.2

Figura 2.2 - Diferentes estruturas componentes da proteína spike do SarS-CoV-2.



Fonte: Jackson *et al.* (27)

A infecção pela COVID-19 tem início no momento em que o vírus em forma viável entra em contato com a mucosa humana, sendo qualquer uma delas passível de ser infectada (oftálmica, nasal ou oral). Após o contato inicial com o tecido, o vírus se conecta por meio da capacidade de ligação estrutura chamada *spike*, no seu sítio S1 (Figura 2) presente em sua estrutura mais externa, onde essa acopla-se a tecidos não queratinizados onde exista a expressão de uma enzima expressa nas diferentes células, a qual possui o nome de Enzima Conversora de Angiotensina II, sendo esse o sítio de adesão primário para o SarS-CoV-2. (28)

Após a adesão inicial a esses receptores, o processo de entrada necessita ser realizado sem que o mesmo gere reações do sistema imune, tendo as etapas de endocitose e posterior fusão de membranas que irão liberar o conteúdo genético viral dentro da célula. Para que esta segunda etapa ocorra, outras estruturas celulares são necessárias, como as Serinoproteases Transmembrana II Humana (TMPRSS2), está responsável pelo processo de ativação e posterior invasão em membrana celular, e as Proteases Lisossomais, essas responsáveis pela clivagem e ativação viral endolisossomal (29) Existem dois modos de invasão celular, por duas vias conhecidas como invasão via superfície celular direta, e uma via onde o

SARS-CoV-2 é internalizado na célula. Cada via possui um mecanismo distinto, estes mediados pelas duas proteases acima citadas (Protease Lisossomais - via endolisossomal; TMPRSS2 - invasão direta à membrana celular). (27,29)

Posteriormente a consumação da infecção e a presença do RNA viral no citoplasma, surgem em regiões acessórias ao núcleo da célula infectada as “organelas de replicação”, essas como o próprio nome indica, refere-se às estruturas responsáveis por replicar o vírus. Após a replicação, as proteínas virais e RNA genômico são deslocadas para o Compartimento intermediário de Golgi do Retículo Endoplasmático (ERGIC), onde os novos vírus serão “montados”. Após a incorporação e das quatro unidades fundamentais já descritas (nucleocapsídeo, envelope, membrana e *spike*), os mesmos serão deslocados intracelularmente dentro de vesículas via lúmen do ERGIC, a qual atingirão posteriormente o citoplasma e serão excretadas ao meio extracelular por meio de vesículas que irão se fundir a parede celular da célula hospedeira (27)

Devido a relação direta entre a presença de determinadas estruturas e proteínas no processo de invasão e replicação do SARS-CoV-2, necessitamos avaliar a expressão desses marcadores em diferentes tecidos. Os receptores desempenham um fator crucial na adesão e infecção do SARS-CoV-2 às células humanas. A expressão da enzima ACE2 é observada em diferentes sistemas e órgãos do corpo humano, tendo importância crucial na fisiologia. Sua atuação fisiológica está ligada ao sistema de Renina-Angiotensina-Aldosterona, esse responsável pelo equilíbrio e manutenção da pressão arterial e homeostase de eletrólitos. O angiotensinogênio é produzido pelo fígado, clivado pela renina, resultando na formação da angiotensina I. Posteriormente a Enzima Conversora de Angiotensina (ACE) é uma das enzimas responsáveis por catalisar a conversão de Angiotensina I em Angiotensina II. (30)

Considerando a Angiotensina II, essa sim é o principal fator ativo do sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona, desencadeando efeitos nos receptores exclusivamente via receptores exclusivos de angiotensina II tipo 1. Os principais efeitos da Angiotensina II incluem a vasoconstrição, reabsorção renal de sódio e excreção de potássio, síntese de aldosterona, elevação da pressão arterial e indução das vias de inflamação e pró-fibrótica. A ACE2 cliva angiotensina II em angiotensina I, o qual é responsável pela vasodilatação, efeitos anti-inflamatórios e anti-fibróticos através de ligação ao receptor Mas. Vale ressaltar que a ACE2 atua

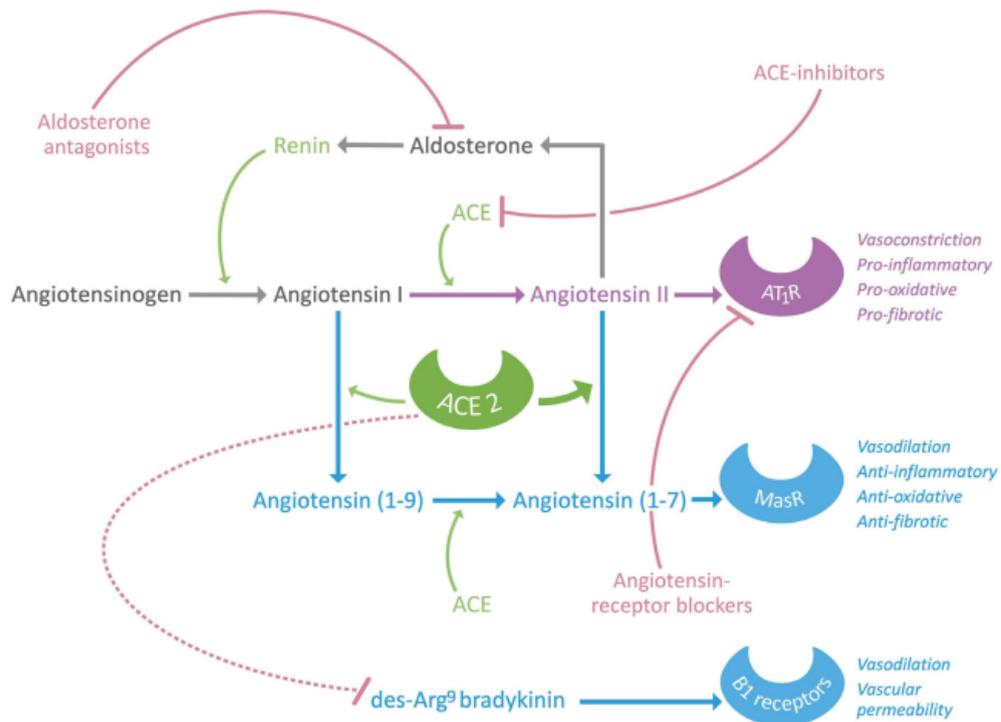
em oposição a função da ACE, e a correta atuação do sistema de Renina-Angiotensina-Aldosterona é diretamente relacionada ao equilíbrio fisiológico da expressão de ambas enzimas, modulando o desenvolvimento dos processos pró e anti inflamatórios, bem como pró e anti fibróticos. (31)

Esse desequilíbrio na expressão de ambos sistemas pode ser causado por muitos fatores, dentre eles o uso de fármacos bloqueadores do sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona. Além disso, outros fatores como riscos comportamentais para doenças cardiovasculares, como alta ingestão de sal, alta ingestão de gordura e ingestão de frutose podem levar a um desequilíbrio na expressão de tais receptores. (26)

Além dessas funções no sistema circulatório, a ACE2 também está ligada ao metabolismo da bradicinina no pulmão, inibindo a vasodilatação e elevação da permeabilidade vascular. (32) Outro ponto em que a ACE2 possui ação é no sistema gástrico, sendo responsável pelo equilíbrio digestivo de aminoácidos, expressão de peptídeos antimicrobianos, resposta imune local e manutenção do microbioma intestinal. (33)

Todo esquema dos moduladores e conversões da ACE2 estão dispostos na Figura 2.3.

Figura 2.3 - Estrutura do Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona, o papel do ACE2 na fisiologia e potenciais locais para atuação de moduladores.



Fonte: Bourgonje *et al.* (26)

Outra molécula de suma importância para a adesão e invasão do SARS-CoV-2 às células são as Serinoproteases Transmembrana II Humana (TMPRSS2), responsáveis pela via direta de invasão das células humanas. Essa molécula é expressa em diversos tecidos humanos, dentre eles o trato respiratório incluindo o pulmão, epitélio da próstata, endotélio cardíaco, células endoteliais do sistema circulatório, rins e trato digestivo, órgãos supostamente mais atingidos pelo COVID-19. O TMPRSS2 possui regulação por fatores andrógenos, sendo mais expressa em indivíduos do sexo masculino, onde determinadas polimorfismos genéticos estão conectados a uma maior expressão de câncer de próstata. Tal expressão modulada por fatores andrógenos baseia, em parte, a explicação dos pesquisadores para maiores taxas de mortalidade por COVID-19 em indivíduos do sexo masculino. (34)

2.3 ESTRUTURA E COMPOSIÇÃO DAS PÁPILAS GUSTATIVAS

Para melhor compreensão de tais sintomas, devemos analisar a característica de composição das estruturas responsáveis por tal, conhecidas por papilas gustativas. As papilas são divididas em 4 tipos principais: as circunvaladas, as fungiformes, filiformes e foliáceas, onde todas expressam a presença de estruturas gustativas, à exceção das filiformes. Cada papila gustativa possui entre 150 a 300 células epiteliais cilíndricas, e 4 tipos de células distintas que as compõem: Células do tipo I - que representam em torno de 50 a 70% do total de células expressas, Células do tipo II - 15 a 30%, células do tipo III - 5 a 15% e células do tipo IV, essas expressas na base das papilas gustativas. (35,36)

As células do tipo I estão relacionadas ao reconhecimento do sabor salgado, já as células do tipo II são responsáveis pela percepção via interação do Receptor Pareado de Proteína G e as moléculas advindas dos alimentos contendo os sabores doce, umami e amargo. As células do tipo III são responsáveis por mediar os sabores inicialmente captados e enviar a informação às terminações nervosas não mielinizadas por meio dos receptores de adenosina P2Y, sendo isso realizado por meio da emissão de serotonina. Essas células também são responsáveis pela transdução iônica do sabor ácido. As células do tipo III são denominadas de “pseudo neuronais”, devido a sua estrutura similar às células do Sistema Nervoso periférico e função desempenhada. Finalmente, as células do tipo IV são células precursoras, responsáveis pela regeneração das estruturas gustativas, permitindo um rápido *turnover* em caso de necessidade, tendo um tempo médio de 10 dias. As papilas gustativas são em sua maioria expressas na região dorsal e lateral de língua, tendo a seguinte proporção de distribuição: 30% de papilas fungiformes, 30% de papilas foliadas e 40% de papilas circunvaladas. Cabe ressaltar também a existência de outras regiões com expressão de papilas gustativas, como a orofaringe, laringe, e terço superior do esôfago. (11,37,38)

2.4 ESTRUTURA E COMPOSIÇÃO DAS ESTRUTURAS OLFATIVAS

O processo de percepção de olfato é em parte realizado no teto da cavidade nasal, onde a via de envio dos sinais percebidos se dá por meio do I par craniano. Moléculas advindas dos alimentos entram em contato com os neurônios sensitivos olfativos, onde cada prolongamento neuronal expressa um tipo de proteína receptora, todavia vale ressaltar que a mesma molécula odorante pode ligar-se a diferentes tipos de proteínas receptoras. Realizando a cobertura e proteção dessas estruturas dendríticas de neurônios de primeira ordem, está uma camada mucosa com epitélio adjacente. As glândulas de Bowman secretam esse fluido rico em glicoproteínas, o qual esquenta, umidifica e prende ar, ajudando a dissolver as partículas odorantes. Os componentes axonais individuais dos neurônios sensoriais se combinam para formar feixes nervosos que se projetam pela lâmina cribiforme. O conjunto desses axônios forma os nervos olfatórios, os quais fazem sinapse com os dendritos das células mitrales e tufoas em estruturas esféricas conhecidas como Glomérulo. O Glomérulo é uma estrutura crucial para o correto envio do sinal olfativo para o cérebro, onde acontece a transdução do sinal advindo da cavidade nasal. (39)

O ser humano possui por volta de 1100 a 1200 glomérulos em cada bulbo olfatório. São responsáveis pela ligação ao córtex piriforme, tubérculo olfativo, amígdala e entorrinal por projeções via tratos olfatórios células mitrales de segunda ordem. (40)

Acessório a todo processo de olfato, o V par craniano também é responsável por desempenhar papel na percepção e captação de odores e substâncias olfativas, complementando todo sistema de percepção do paladar. O tipo de percepção realizado pelo trigêmeo via cavidade nasal está ligado às sensações de frescor e ardor, sendo geralmente desencadeado pela substância mentol. Além disso tal sistema está responsável pela percepção de temperatura e textura dos alimentos (41,42)

O Sistema Nervoso Periférico também está intimamente ligado com a condução dos estímulos captados tanto em cavidade oral quanto nasal. A língua é innervada por três ramos, sendo os nervos Facial (VII), provendo innervação dos $\frac{2}{3}$ anteriores da língua, o nervo Glossofaríngeo (IX), o qual provém innervação do $\frac{1}{3}$

posterior da língua, e o nervo Vago (X), provendo a inervação da região da epiglote. Mais especificamente, a subdivisão do ramo do Facial (VII) que inerva a região é a corda do tímpano. Acessoriamente, outro ramo chamado de nervo petroso maior é responsável por transmitir as informações captadas pelas papilas gustativas localizadas no palato mole. Todos os ramos sensitivos do nervo facial juntam-se no Gânglio Genuculado, onde acessam o cérebro na junção pontomedular, viajando caudalmente em direção a medula oblongata, onde faz sinapse com o núcleo solitário. No tocante aos corpos celulares do nervo glossofaríngeo (gânglio petroso), o mesmo entra em contato com a parte rostral da medula e posteriormente faz sinapse com o núcleo solitário. O nervo vago também faz sinapse com o núcleo solitário. Todos esses ramos responsáveis pela gustação estão em contato a parte rostral do núcleo solitário, conhecida como a região gustatória do núcleo solitário. (43)

Já no sistema nervoso central, as fibras de segunda ordem ascendem do núcleo solitário para o tálamo, onde a nova sinapse ocorre. A próxima conexão é realizada agora por neurônios de terceira ordem, onde o destino de tais fibras será o opérculo frontal, córtex insular anterior e a parte rostral da área de Brodmann. A função geral desses neurônios de terceira ordem é permitir a correta discriminação das sensações gustativas. Paralelo a essas fibras, fibras de segunda ordem partem do córtex gustatório para a porção pósterolateral do córtex orbitofrontal, onde a interação entre odor e paladar será realizada, bem como o fenômeno de recompensa pela comida. (44,45)

2.5 ALTERAÇÕES DE PALADAR E OLFATO RELACIONADOS A COVID-19

Após a disseminação da COVID-19, novos sintomas além daqueles primeiro reportados (febre e dispnéia) relacionados à infecção começaram a ser descritos na literatura, onde sintomas relacionados a perda de paladar começaram a ser mencionados. Além da alta prevalência, estes sintomas podem ser os únicos sintomas expressos, sendo possíveis preditores da infecção. Em contraste a esses sinais clínicos, somente em março de 2020 a Associação Britânica de Otorrinolaringologia (ENT UK) e posteriormente o *Centers for Diseases Control*

(CDC) dos Estados Unidos consideraram os sintomas de anosmia e ageusia como preditores da infecção pela COVID-19. (5,6,8)

Os achados iniciais contrastavam essa característica única de perda de olfato e paladar ocasionada pelo SARS-CoV-2, uma vez que MERS-CoV e SARS-COV raramente expressavam essa característica em pacientes infectados. Outro dado interessante à época era que esses pacientes os quais desenvolviam tal sintoma, não possuíam obstrução nasal ou outros sintomas de rinite. A hipótese considerada para explicação do desenvolvimento dos sintomas estava no dano direto pela invasão viral aos tecidos de revestimento da cavidade oral e nasal, onde essas estruturas seriam danificadas alterando sua homeostase (9,46).

Paralelo a estes achados descritos, pesquisadores demonstraram a expressão dos receptores ACE2, TMPRSS2 e Furina no epitélio oral e olfativo, tanto em modelo animal quanto humanos, apoiando a idéia que tais receptores indispensáveis para adesão, invasão e replicação viral são abundantemente encontrados e justificariam o surgimento desses sintomas (9,47). Com o transcorrer da pandemia, a manutenção desses sintomas começou a ser evidenciada em estudos de acompanhamento, alguns com metodologia auto-reportada em formulários online e outros com testes quantitativos, onde uma característica única do SARS-CoV-2 em relação a seus pares foi relatada, em que participantes começaram a apresentar alteração de paladar e olfato por períodos de semanas e até meses. Questionamentos foram também levantados sobre a reversibilidade da condição, bem como ausência de explicação para manutenção de tal condição onde somente em parte da população que foi infectada. (4,48-50)

2.6 HIPÓTESE DA PERDA OLFATO RELACIONADO A COVID-19

A existência de receptores ACE2 tanto nas células neuronais sustentaculares do complexo olfativo, quanto nas células epiteliais de revestimento foram descritas.(51,52) Uma hipótese levantada por estudos é de que um processo inflamatório instalado pela infecção direta pode levar a disrupção, tanto das células epiteliais de revestimento, quanto dos prolongamentos neuronais da região, afetando também o processo de regeneração de tal tecido. (53) Outra possibilidade

discutida é o potencial neuro invasivo do SARS-CoV-2 via estruturas olfativas, podendo invadir o SNC via bulbo olfativo, o que explicaria o desenvolvimento de tais sintomas como a perda de olfato. (54,55)

A existência de alteração de percepção dos sentidos relacionados à percepção trigeminal também pode ser um indicativo de potencial invasivo do SNP pela COVID-19. (42)

2.7 HIPÓTESE PERDA DE GUSTAÇÃO PELA COVID-19

Estudos demonstram a expressão dos receptores ACE2 em papilas gustativas, em especial nas células do tipo III. A expressão dos receptores ACE2, TMPRSS2 e Furina também estão descritas tanto no tecido epitelial, de diferentes formas ao longo das diferentes camadas. As papilas gustativas especificamente possuem expressão de ACE2, além de grande manifestação dos receptores TMPRSS2, bem como expressam Furina nos tecidos logo abaixo da superfície epitelial, sendo possível um dano direto a essas estruturas a explicação para a alteração em sua função. (9,56)

2.8 HIPÓTESE PERDA DE PALADAR POR ALTERAÇÃO NO SISTEMA NERVOSO PERIFÉRICO

A correta percepção do paladar está diretamente ligada a uma série de eventos coordenados por 3 sistemas, sendo eles o sistema epitelial especializado da língua e mucosa nasal, os neurônios aferentes responsáveis (SNP) por captar o estímulo produzido pela porção terminal e enviar tal informação para o SNC, o qual irá processar e perceber o gosto dos alimentos. O SNP está envolvido diretamente nesse processo de percepção do paladar dos alimentos, sendo o VII, IX e X pares cranianos enviando informações captadas pela língua, além do V estar associado a percepção de sensações gustativas, bem como o I par craniano responsável pela olfação. A existência dos marcadores (ACE2 e TMPRSS2) que permitem a invasão

e replicação do SARS-CoV-2 nesses tecidos é controversa, sendo considerada de baixa ou pouca expressão. (11,57)

Vale ressaltar que apesar da menor probabilidade de danos devido a menor expressão de marcadores responsáveis pela adesão do SARS-CoV-2, existem relatos na literatura de complicações pós-COVID-19 onde o desenvolvimento de condições desencadeadas por possíveis alterações no SNP, como o surgimento de dores neuropáticas em cavidade oral. (58)

2.9 HIPÓTESE PERDA DE PALADAR POR ALTERAÇÃO NO SISTEMA NERVOSO CENTRAL

O acometimento do SNC pela COVID-19 é um dos fatores que surgiu como um dos potenciais sintomas relacionados a tal infecção, onde é comum os sintomas de cefaléia, perda de memória, dentre outros relacionados ao funcionamento alterado do cérebro estarem conectados à infecção por COVID-19. Ainda não se sabe se a invasão ocorre, ou se o SARS-CoV-2 adentra o SNC via barreira hemato-encefálica ou por invasão neurotrópica via SNP. O fato é que somente parte dos pacientes (hospitalizados e com sintomas brandos) possuem algum tipo de alteração na morfologia de estruturas como cérebro e bulbo olfatório a exames complementares, bem como expressão de sintomas em diferentes regiões do cérebro. Não se sabe, até o presente momento, as implicações que essas possíveis alterações neurológicas podem causar no curto e longo prazo, além de essas alterações estarem ligadas a sintomas como a perda de paladar (de curta ou longa duração). (10,59)

O ponto principal de invasão está novamente relacionado à expressão das estruturas responsáveis pela adesão do SARS-CoV-2 no tecido neural, sendo reportado por pesquisadores que tanto ACE2, quanto TMPRSS2 podem ser expressos no SNC. (57)

Considerando que as diferentes estruturas relacionadas com o processo fisiológico de captação e interpretação de paladar são distribuídas por diferentes regiões do SNC, qualquer parte que sofresse alteração de homeostase poderia desencadear um mau funcionamento desse complexo processo. Tanto dando físico

a nervos condutores quanto alterações em sinapses poderiam alterar todo processo gustativo. (60,61)

2.10 FLUXO SALIVAR E POTENCIAL RELAÇÃO COM PERDA DE PALADAR PELA COVID-19

Outra via plausível que explica a alteração de paladar em humanos é que os receptores envolvidos diretamente na infecção pelo SARS-CoV-2 (ACE2 e TMPRSS2) são expressos em tecidos glandulares, o que pode desencadear uma diminuição do fluxo salivar ou alteração na sua qualidade, desencadeando uma deficiência de manutenção do processo fisiológico gustativo. (9,62) A saliva é ativamente responsável pela proteção da mucosa, manutenção de pH, remineralização dentária, controle bacteriano, indução de reparo tecidual, digestão, além de auxílio nas funções gustativas, principalmente ao remover moléculas do poro gustativo. (63–65) No contexto de infecção pelo SARS-CoV-2, foi demonstrado que as glândulas maiores (parótida, submandibular e sublingual) possuem receptores que permitem a entrada do SARS-CoV-2 tanto em ácinos, quanto ductos das 3 estruturas. As glândulas salivares menores também expressam tais marcadores, sendo essas estruturas potenciais alvos para entrada e replicação viral, tendo por consequência alteração no fluxo salivar. (66,67) A existência de xerostomia por pacientes acometidos pela COVID-19 foi reportada, sendo esse dano direto ao tecido glandular uma possível explicação para a perda do paladar. (68)

Outro fator relatado em sintonia com a questão clínica apresentada em pacientes, está na relação direta entre expressão de RNA viral em saliva e perda de paladar e olfato auto-reportada em pacientes. (69)

2.11 EXPRESSÃO DE SINTOMAS PROLONGADOS COVID-19

O desenvolvimento e manutenção de sintomas relacionados à infecção pela COVID-19 por períodos prolongados hoje são reportados na literatura, e por alguma

razão ainda não explicada, determinadas pessoas desenvolvem sintomas que são manifestados por meses ou até mesmo anos. O papel do dano viral direto e desequilíbrio na homeostase explica somente em parte o desenvolvimento de tal condição, principalmente quando consideramos a velocidade de *turnover* dos tecidos responsáveis pelos sintomas como a perda de paladar. Contudo, a explicação para desenvolvimento e manutenção de tais sintomas pode estar na atuação e modulação do sistema imune, por meio da resposta imune inata desenvolvida frente a exposição ao SARS-CoV-2. Tal exposição e modulação do sistema imune pode desencadear processos inflamatórios crônicos, podendo ser a causa primária e a explicação para a manutenção de sintomas em diferentes regiões do corpo causados pela COVID-19, caracterizando assim uma nova condição descrita como “COVID Longa”. (70–72)

Este termo foi cunhado por pesquisadores pelo surgimento de condições onde pacientes permaneceram apresentando sintomas muito além do período de fase infecciosa da COVID-19. A manutenção desses sintomas por meses ou anos, de sintomas em diferentes sistemas do organismo, embasa questionamentos no tangente às alterações causadas pela disponibilidade de receptores em diferentes tecidos, adesão e replicação viral, bem como atuação do sistema imune em modular e perpetuar tal resposta. (70,72) A existência de alterações persistentes e/ou sintomas associados a COVID-19 é descrita em grande parte da população de infectados, entretanto sabe-se da dificuldade de determinar a sua prevalência e incidência. Em estudo de revisão sistemática com meta análise, os sintomas mais reportados relacionados a COVID Longa foram: Fadiga (37%), dispnéia (21%), disfunção olfatória (17%), mialgia (12%), tosse (11%) e disfunção gustativa (10%), ficando evidente a atuação do dano causado pelo dano direto ou pela resposta imune realizada nos mais diferentes sistemas do organismo, bem como a importância e alta porcentagem de pacientes com algum tipo de alteração relacionada a perda de olfato e paladar. (73)

2.12 PERDA DE PALADAR E OLFATO PROLONGADA

O desenvolvimento de uma perda de paladar e olfato prolongada inicialmente foi descrito por pesquisadores como uma condição que podia se estender até 60 dias em pacientes acometidos pela COVID-19, levantando questionamentos sobre a reversibilidade do quadro. (74) Com a evolução natural da pandemia, novos estudos demonstraram que 9,4% daqueles que foram afetados de alguma forma na sua capacidade de gustação e olfação, ainda reportaram algum tipo de alteração na percepção de paladar. (50)

Um dos grandes paradoxos de tratar de tal condição é que uma vez não explicado o mecanismo de invasão tecidual e determinado o fator causal e perpetuador da perda de paladar prolongada, todos os tratamentos acabam sendo experimentais, embasados em outras condições que não possuem relação com o COVID-19.

2.13 POSSIBILIDADE DE TRATAMENTOS

2.13.1 Fotobiomodulação (TFBM)

A Fotobiomodulação está embasada em um processo de retomada da homeostase, onde um tecido alvo já desequilibrado pode ter sua homeostase recuperada. Tal técnica inicialmente chamada de *Low Level Laser Therapy*, ou Terapia com Lasers de Baixa Potência (LLLT) foi descrita inicialmente por Endre Mester, na Hungria, com Lasers de Rubi (694 nm). Em recente consenso, a terminologia LLLT foi substituída por *Photobiomodulation*, ou Fotobiomodulação (PBM ou TFBM), devido a subjetividade do termo “baixa potência”, e também a introdução de dispositivos como os *Light Emitting Diode* (LED), onde luz não coerente também pode realizar tal terapia. (15,75,76)

No tocante a comprimentos de onda utilizados, usualmente se utiliza a variação entre 600 a 1200 nm, onde a grande maioria apresenta resultados favoráveis, à exceção do espectro entre 700 e 770 nm. Recentemente, comprimentos de onda como o azul e verde também começaram a ser estudados,

apesar de sua limitação de penetração tecidual, fato físico que limita a obtenção de resultados, uma vez que a entrega de energia aos cromóforos endógenos tem ligação direta com as características como a penetração tecidual e espalhamento. O comprimento de onda com maior utilidade terapêutica para PBM está entre 650 e 950 nm, visto que estes comprimentos de onda são absorvidos por moléculas biodisponíveis, como a hemoglobina, mioglobina, melanina e uma enzima presente nas mitocôndrias, chamada de Citocromo C Oxidase (CCO). Mais especificamente, a Citocromo C Oxidase é a IV unidade na cadeia de transporte de elétrons mitocondrial, transferindo um elétron (de cada uma das 4 moléculas presentes na enzima), em um único oxigênio, produzindo duas moléculas de água como subproduto. Ao mesmo tempo que os 4 prótons são requisitados, eles são translocados através da membrana mitocondrial, produzindo um gradiente de prótons necessários para que a enzima sintetizadora de ATP gere ATP. Devido a estrutura de sua composição em 4 centros (2 heme e 2 cobre), essa molécula pode absorver bem comprimentos de onda até 950 nm em ambos os 4 sítios (15,77)

Esse processo de absorção foi proposto por Tiina Karu, e posteriormente embasado pela teoria de que a absorção de fótons pela CCO remove a ligação não covalente do óxido nítrico das moléculas heme e cobre, aumentando a atividade enzimática, produção de ATP, além de aumentar o consumo de oxigênio. Uma vez que tal energia para romper tal ligação não covalente não precisa ser alta, tal rompimento pode ser realizado com doses baixas, permitindo a retomada do processo de respiração celular. (78,79)

Em paralelo a esse mecanismo, a entrega de energia aos tecidos também possuem potencial de atuação sobre os receptores pareados de proteína G, conhecidos como Opsinas. A expressão desses receptores e suas subdivisões se dá em diferentes tecidos do corpo, sendo um dos responsáveis pelo processo de modulação, dentre eles o gosto e olfato. A resposta desses receptores está geralmente ligada a abertura dos canais iônicos chamados Potencial Receptor Transiente, pelos comprimentos de onda azul e verde, onde os mesmos ficam não seletivamente permeabilizados a cálcio, sódio e magnésio. (80–83)

Ao se considerar a PBM em células sem alterações, temos o aumento do potencial de membrana das mitocôndrias, e por consequência o aumento da produção de espécies reativas de oxigênio (ROS). Esse aumento de ROS intracelular pode ser considerado como não ideal, porém o mesmo é o suficiente

para desencadear a expressão do fator de transcrição redox-sensitivo em fibroblastos humanos, todavia dependendo da dose entregue ao tecido, podemos levar a um efeito reverso ao esperado, uma vez que o aumento da produção de ROS acaba inibindo todos os processos da cadeia respiratória e suas consequências. Tal desfecho é conhecido na literatura como “dose bifásica” ou “curva de Arndt-Schulz”. (84–86)

Além do processo físico de entrega de energia e suas variáveis como reflexão, refração, absorção e espalhamento, a TFBM por definição é exclusivamente um processo fotoquímico, ou seja, não existe aumento de temperatura capaz de desnaturar proteínas ou alterar processos fisiológicos no tecido, muito menos gerar qualquer tipo de dano térmico. Tal entrega de energia induz a uma modulação na cascata de eventos responsável por manter o tecido alvo fora de equilíbrio, dentre os diferentes parâmetros clínicos observados após a irradiação estão: redução de marcadores inflamatórios circulatórios e marcadores teciduais como a modulação e redução de células do sistema inflamatório, bem como aumento do aporte sanguíneo local, diminuição de dor e aceleração da cicatrização tecidual, auxiliando o tecido irradiado ao retorno das funções normais em um espaço de tempo menor do que o esperado sem intervenção. (16,75)

Na busca de um embasamento para o tratamento experimental de tal condição desencadeada pela COVID-19, podemos considerar referências no tratamento de pacientes com sintomas semelhantes, tal como os pacientes submetidos a tratamentos oncológicos e que desenvolvem perda/alteração de paladar. Estes podem desenvolver sintomas, dentre eles a perda de paladar, seja ela por diferentes causas como o dano direto aos tecidos pela radioterapia, a atuação sobre diferentes tecidos responsáveis pela percepção de paladar, ou até mesmo uma alteração de percepção de paladar por alterações na composição e fluxo da saliva, ou dano as papilas em função de substâncias quimioterápicas secretadas na saliva, as quais entram em contato diretamente com as papilas. (38)

Quando desejamos induzir um reparo dessas estruturas, podemos lançar mão da TFBM, sendo essa uma estratégia para reduzir a manifestação e persistência de sintomas para a retomada da função desses pacientes no menor tempo possível. Vale mencionar a importância e impacto que as diferentes alterações de percepção como disgeusia, ageusia, e neuropatias periféricas desencadeadas pelo tratamento oncológico possuem no adequado aporte

nutricional. Muitas vezes a continuidade do tratamento oncológico está ligada ao prognóstico do tratamento. (87)

Com base nos achados já descritos em pacientes oncológicos, esse tipo de tratamento abre um leque de possibilidades, uma vez que um dos maiores problemas referentes aos danos causados pela COVID-19 estão no possível dano e resposta inflamatória persistente, bem como a incapacidade do organismo reverter tal quadro pela manutenção do estado inflamatório. Existem relatos na literatura de diferentes aplicações da TFBM, onde diferentes métodos de aplicação e diferentes órgãos são irradiados, tendo resultados positivos. (88,89)

Ao utilizar a TFBM diretamente nos tecidos responsáveis pela captação de olfato e paladar, estudos demonstram um potencial de resolutividade de quadros onde a perda de paladar prolongada está instalada, tendo resultados promissores dentro desta determinada condição. Esses resultados sustentam a hipótese que a manutenção da perda de paladar por períodos prolongados seja consequência de um desequilíbrio na porção inicial do processo de percepção de paladar, ou seja, nas respectivas estruturas presentes em cavidade nasal e oral. Foram utilizados aparelhos convencionais com o comprimento de onda de 660 nm, 100 mW de potência, com técnica pontual em língua, 2J por ponto, onde os padrões de irradiância podem ser facilmente replicados. Outro estudo realizado utilizando de técnica com aplicação intranasal, houve a aplicação 180 segundos de laser em 660 nm desfocados (100 mW). Em ambos estudos os autores obtiveram uma melhora auto-reportada dos parâmetros avaliados, tendo remissão completa tanto do olfato quanto do paladar. (90,91)

2.13.2 Irradiação Transdérmica do Sangue

Outra via possível de se utilizar fontes de luz para tratamento de condições como o possível desequilíbrio tecidual causado pela modulação de resposta inflamatória causada pelo dano direto ou imunomodulada pela COVID-19, é por meio de entrega de energia sistemicamente, usando como tecido alvo o sistema circulatório. Essa foi concebida por cientistas soviéticos e descrita inicialmente na década de 80, ficando conhecida como *Inner Laser Irradiation of Blood* (ILIB) -

Irradiação do sangue com Laser ou *Intravenous Laser Blood Irradiation* (ILBI) - Irradiação endovenosa do sangue com Laser. Tal técnica é baseada no conceito de modulação do sistema circulatório e todos seus componentes, onde essa modula a entrega de oxigênio aos tecidos, resposta imune e todas as suas células componentes, bem como controla diferentes patologias com ligação direta ao sistema circulatório, como hipertensão e diabetes. Foram reportados pelos pesquisadores ao longo de 30 anos de estudos alterações como o aumento na contagem total de células vermelhas, redução na taxa de sedimentação de eritrócitos, além do aumento de função do sistema linfático e macrófagos (92)

Uma adaptação não invasiva de tal técnica é feita pela irradiação indireta de vasos calibrosos e superficiais, sendo possível a realização de tais procedimentos tendo como alvo a artéria radial, carótida externa, ou tecidos extremamente vascularizados como o assoalho oral. Os comprimentos de onda utilizados para tal fim podem variar, entretanto devido a disponibilidade de aparelhos dessa gama de comprimentos de onda e maior interação o sangue os comprimentos entre 630-660 nm (vermelho) e 800-900 nm (infravermelho) são os mais utilizados, uma vez que esse comprimento de onda possui maior interação com o tecido sanguíneo. (93,94)

O mecanismo por trás de tal técnica ainda não está claro, entretanto seu possível mecanismo de ação está na atuação da energia entregue às células endoteliais, uma vez que essas desempenham um papel crítico na manutenção da homeostase do sistema circulatório. Devido a alterações no sistema redox, a ocorrência de um desbalanço nos mecanismos antioxidativos do endotélio leva a um aumento do estresse oxidativo, gerando vasoconstrição e descarga de citocinas responsáveis pela contração da musculatura lisa endotelial, tendo por desfecho final reações inflamatórias e mudanças no potencial proliferativo vascular (95)

Um aumento no estresse oxidativo desencadeia uma redução da biodisponibilidade de óxido nítrico, este um potente vasodilatador e componente anti-inflamatório. Posteriormente, essa alteração desencadeia uma série de eventos que levam a mudanças na função e estabilidade de proteínas, levando a um aumento de proteólise. A degradação de certas proteínas leva a expressão de determinados aminoácidos (dimetilarginina assimétrica), as quais são potentes inibidores da síntese de óxido nítrico e a qual é considerada ser um fator de risco para doenças cardiovasculares. Tais anormalidades alteram a biodisponibilidade de óxido nítrico, alterando o balanço entre síntese e degradação do mesmo, o que pode

promover inflamação e modificar a ação proliferativa dos vasos sanguíneos. Além da possível atuação nesses mecanismos citados, existe a possível modulação das funções endoteliais devido a sinalização parácrina após a irradiação de células sanguíneas. Apesar de todas hipóteses descritas, ainda não há comprovação de todo mecanismo de atuação e esse fenômeno ainda é vagamente compreendido (94,96,97).

2.13.3 Complexo B

Uma das possibilidades abertas frente aos desfechos causados pela COVID-19 está o potencial dano ao sistema nervoso periférico como causa e explicação para manutenção de sintomas como a perda de paladar e olfato prolongado, sem ainda aparente explicação da razão pela qual esses sintomas são sustentados por somente em determinadas pessoas infectadas, como já previamente descrito nos parágrafos anteriores. Usualmente, danos em tecido nervoso das mais diferentes origens (viral, traumática, infecciosa) desencadeiam quadros inflamatórios nas fibras nervosas ou gânglios, tendo a persistência desse quadro associada a situações com o desencadeamento de sintomas associados às estruturas que os mesmos inervam, independente do carácter motor ou sensitivo. (98)

Em casos onde há dano direto traumático no tecido (rompimento, compressão), o padrão ouro de tratamento é sempre cirúrgico, realizando a necessária correção. Já em casos onde não há dano cirúrgico, ou se deseja uma regeneração de fibras nervosas buscando retomada da função motora ou sensitiva, o uso de vitaminas do Complexo B é indicado pela sua atuação como coenzima numa grande fração dos processos celulares, além de serem importantes para o adequado funcionamento do sistema nervoso. (99) Adicionalmente, devido aos seus efeitos positivos em ambos SNC e SNP, são geralmente prescritos numa grande variedade de patologias. Podemos também considerar que a vitamina B12 demonstrou *in vivo* ser a vitamina mais eficiente na regeneração de fibras do SNP, devido a sua capacidade de aumentar a sobrevivência neuronal e crescimento axonal após trauma, pela ativação de certas quinases protéicas. (100–102)

Em casos onde há dano neuronal, estes podem ser tratados por meio do uso de complexo vitamínico do grupo B, onde diferentes partes do processo inflamatório podem ser moduladas e induzir a reversão do quadro inflamatório estabelecido, modulando tanto a expressão de marcadores inflamatórios quanto as células responsáveis pela modulação do processo, como macrófagos. (98)

3 PROPOSIÇÃO

Este estudo objetivou avaliar a eficácia de diferentes tratamentos (Fotobiomodulação, Irradiação Intravascular Transdérmica Sublingual e suplementação com Complexo B) na retomada do paladar em pacientes com perda de paladar prolongada desencadeada pela COVID-19.

4 CASUÍSTICA E MÉTODOS

O seguinte estudo foi realizado junto a Universidade de São Paulo, Departamento de Dentística, utilizando a estrutura física do Laboratório Especial de Lasers em Odontologia (LELO).

4.1 CONSULTA INICIAL

Os participantes com sintomas de perda de paladar, associado a infecção por COVID-19, foram captados tanto por meio de divulgação em mídias sociais, quanto por meio de divulgação no meio acadêmico da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, caracterizando assim uma amostra de conveniência. Os participantes eram selecionados com base no tempo mínimo de 2 meses com alteração de paladar, com sintomas concomitantes ao diagnóstico laboratorial de COVID-19.

Prévio a inclusão no estudo, todos os participantes foram alocados em sala individual, onde receberam uma cópia assinada pelos pesquisadores do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, este aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia de São Paulo (número de registro CAAE: 46075021.2.0000.0075; Registro REBeC: RBR-3tpvp8t; Universal Trial Register: U1111-1281-7082), onde todas as eventuais dúvidas foram sanadas por um único pesquisador (P.C.S) frente ao termo e andamento da pesquisa.

Após a assinatura do TCLE, os participantes preencheram um questionário semi estruturado, onde foram indagados a respeito da sua condição clínica prévia a fase infecciosa, presença de doenças crônicas, uso de medicação contínua, hipersensibilidade medicamentosa, período de persistência dos sintomas, necessidade de hospitalização, alteração de paladar e olfato por mais de 2 meses, sintomas persistentes de COVID-19 e uso de medicamentos durante a fase

infeciosa. Um questionário sobre qualidade de vida validado para o Português (OHIP-14) também foi aplicado aos participantes.

4.1.1 Critérios de inclusão

Todos os participantes que apresentaram o exame PCR-RT, de origem laboratorial ou rápido realizado em farmácia, associado a perda de paladar total ou parcial, com duração maior de 2 meses. A idade mínima para inclusão era de 18 anos ou mais, completados na data de inclusão no estudo.

4.1.2 Critérios de exclusão

Foram excluídos do estudo todos participantes que já possuíam algum tipo de alteração de paladar por outros motivos que não a infecção por COVID-19, tal como perda de paladar desencadeada por tratamento oncológico, radioterapia de cabeça e pescoço, uso de medicação crônica que causava hipossalivação, dano cirúrgico e/outra natureza que possa ter desencadeado alteração de paladar que não o COVID-19. Participantes com qualquer tipo de hipersensibilidade relacionada aos componentes do Citoneurin 5.000 U.I. também foram excluídos. Participantes grávidas, lactantes e/ou com suspeita de gravidez não foram incluídas no estudo. E por fim, participantes menores de idade também foram excluídos da participação no estudo.

4.1.3 Teste gustativo

Um teste gustativo foi aplicado aos participantes, para aferir sua capacidade de percepção das 4 principais substâncias percebidas pela língua. O sabor Umami

não foi utilizado para avaliação, devido a dificuldade de quantificação do mesmo pela metodologia empregada. Um único avaliador (P.C.S) conduziu todas as avaliações do estudo.

Tal teste foi desenvolvido com base no teste de Kale (103), adaptado para sua utilização em pacientes acometidos por perda de paladar prolongada desencadeada pela COVID-19, como principal alteração uso de substâncias em líquido, ao invés de impregnadas em papel e dispostas na língua. Todos os testes foram conduzidos no horário da manhã para evitar alterações causadas pelo ciclo circadiano, onde os participantes foram instruídos a não ingerir qualquer alimento ou líquido, a exceção de água, 1 hora previamente ao teste. Adicionalmente, os participantes também foram orientados a não escovarem os dentes 1 hora previamente ao teste em função da possível alteração causada pelos componentes da pasta de dentes.

O teste consistiu na avaliação da percepção de 4 sabores hiperconcentrados: salgado, doce, ácido e amargo. A quantidade total de líquido usado para todas as avaliações foi de 5 ml, dispostos em copos de 50 ml, aferidos por meio de seringa graduada. A água filtrada utilizada encontrava-se em temperatura ambiente (aproximadamente 20 graus Celsius).

A figura abaixo descreve as substâncias utilizadas e suas respectivas concentrações

Quadro 4.1 - Substâncias e diluições utilizadas para teste de paladar

Substância	Diluição
Café em pó extra forte (Nestlé - Brasil)	2 g dissolvidos em 5 ml água
Suco <i>Citrus Latifolia</i> puro	3 ml misturados a 2 ml de água
Sal cozinha (NaCl)	2 g dissolvidos em 5 ml de água
Açúcar refinado (C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁)	3 g dissolvidos em 5 ml de água

Fonte: O Autor

Após a solubilização dos diferentes solutos, os mesmos eram agitados manualmente durante 30 segundos para permitir a máxima solubilidade. Foram respeitadas as concentrações máximas de NaCl e de C₁₂H₂₂O₁₁ para obtenção de substância hiperconcentrada. Quanto às outras duas substâncias (café e limão), diferentes graduações foram testadas pelos pesquisadores previamente ao início do

estudo, havendo concordância de que tais concentrações geram substâncias altamente concentradas e facilmente detectáveis em pessoas sem alteração de paladar em períodos inferiores a 2 segundos em contato com a língua. Visto a rapidez de detecção de sabores hiperconcentrados em pessoas sem alteração de paladar, acessório ao teste prévio realizado pelos autores, os mesmos pré-determinaram arbitrariamente que 5 segundos seria o tempo dado aos participantes para detecção e discernimento das diferentes substâncias.

O teste sempre foi realizado no período da manhã, sendo os participantes instruídos a não ingerir quaisquer líquidos, alimentar-se, escovar os dentes, usar enxaguantes bucais, ou usar qualquer produto (goma de mascar, balas) ou medicação 1 hora antes da avaliação.

No protocolo de pesquisa seguido, os participantes foram vendados e instruídos a colocar em contato com a língua todo conteúdo do copo em um único momento, permanecendo com o líquido em boca por 5 segundos. Após os 5 segundos os participantes eram instruídos a expelir a substância e induzidos a discernir qual era a composição do sabor de modo livre, bem como a concentração (0 a 10). Em caso de acerto da base da composição da substância em pergunta aberta, o escore de resposta era colocado na ficha de avaliação como SABOR (0 ausência de qualquer sabor e 10 gosto hiperconcentrado). Entretanto, caso o sabor descrito fosse distorcido (qualquer substância que não do gênero alimentício ou discrepante ao testado), o valor era incluído na tabela acessória do teste como Disgeusia. Em caso de resposta dupla, ambos valores eram considerados e tabulados, tanto como sabor quanto disgeusia (ex: Suco de limão junto a gosto de fumaça, sendo ambos quantificados de 0-10). Após tal avaliação, os participantes realizavam enxágue da cavidade oral com água filtrada, com bochechos vigorosos, por um período de 1 minuto. Após esse período os mesmos expeliam o volume de água, dando continuidade ao teste.

Água filtrada era disponibilizada para ingestão após o período de lavagem da cavidade oral. A ordem de entrega dos sabores do teste foi totalmente aleatória, não seguindo padrão previamente estabelecido, a fim de evitar memorização pelos participantes dos sabores testados. Tal teste foi conduzido na primeira consulta de inclusão e nas subsequentes consultas de reavaliação.

No tocante a pontuação, cada sabor era aferido como 0-10, totalizando 40 pontos (4 sabores) como escore máximo, ou 0 como mínimo (ageusia completa).

Disgeusia também pode ser verificada da mesma forma, com pontuação máxima de 40, ou 0 caracterizando ausência de qualquer distorção de paladar.

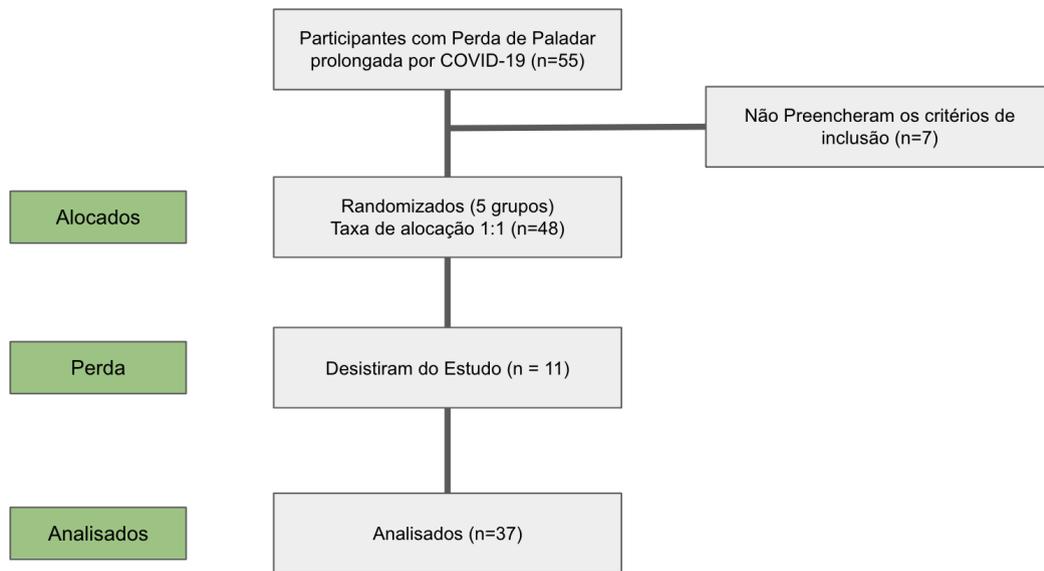
4.2 OLFATO E DISTORÇÕES ALIMENTARES AUTO-REPORTADOS

Posteriormente ao teste de paladar, os participantes foram indagados sobre alterações em suas rotinas de 4 tipos de alimentos específicos de modo dicotômico: proteínas, café, refrigerante de cola e chocolate. Neste mesmo momento os participantes também foram requisitados a quantificarem sua capacidade olfativa rotineira, em um escore de 0-10, sendo 10 a capacidade olfativa prévia à infecção por COVID-19.

4.3 RANDOMIZAÇÃO DOS PACIENTES

Após a realização do teste de percepção de paladar, os pacientes foram randomizados e alocados em seus determinados grupos por uma única pesquisadora (L.H.A.), de modo bloqueado, para que todos os grupos mantivessem uma proporção semelhante (1:1). O único avaliador (P.C.S) não obteve qualquer tipo de informação sobre a disposição dos participantes em seus grupos (cegamento quanto a randomização). A figura abaixo descreve o processo de acordo com CONSORT para inclusão e randomização.

Figura 4.1 Fluxograma CONSORT de inclusão e randomização dos participantes



Fonte: O Autor

4.4 INTERVENÇÕES

5 grupos de intervenção foram realizados, sendo 4 com aplicações de diferentes técnicas de TFBM e IITMS, e um grupo com uso de complexo vitamínico B. Os aplicadores receberam os aparelhos com visores obstruídos por papel alumínio já previamente configurados, sendo então orientados individualmente sobre os pontos e modo de aplicação. Os grupos e suas respectivas intervenções estão listados abaixo.

Quadro 4.2 - Grupos e tratamentos experimentais propostos pelo estudo

Grupo	Intervenção
1	TFBM em 660 nm
2	TFBM em 808 nm
3	TFBM em 660 e 808 nm simultâneos
4	Irradiação Intravascular Transcutânea Modificada Sublingual 660 nm
5	Complexo vitamínico grupo B

Fonte: O autor

No quadro abaixo fica explícito o número de sessões propostas para cada tratamento, bem como a posologia utilizada para o complexo vitamínico.

Quadro 4.3 - Número de sessões e frequência dos tratamentos experimentais propostos, bem como posologia do grupo 5.

Grupo	Número de sessões
1	8 sessões TFBM, 2x na semana
2	8 sessões TFBM, 2x na semana
3	8 sessões TFBM, 2x na semana
4	8 sessões IITMS, 2x na semana
5	30 dias de uso contínuo, 3x ao dia

Fonte: O autor

4.4.1 Protocolos de laser utilizados

Dentre os protocolos de TFBM dos grupos 1 e 2, a dosimetria utilizada está especificada no quadro abaixo.

Quadro 4.4 - Parâmetros de dosimetria de TFBM dos grupos 1 e 2

Comprimento de Onda (λ)	660 ou 808 nm
Potência	0.1 W
Energia por Ponto	1 J
Tempo de Aplicação (ponto)	10 s
Densidade de Energia	11.11 J/cm ²
Densidade de Potência	1.11 W/cm ²
Número de pontos	40
Spot Size	0.0984 cm ²

Fonte: O autor

Já no Grupo 3, onde irradiamos ambos os comprimentos de onda simultaneamente (660 e 808 nm), o aparelho marca a dosagem de 1 J no visor, todavia o mesmo entrega 0,5 J de cada comprimento. Os seguintes parâmetros individuais de dose são especificados na tabela abaixo:

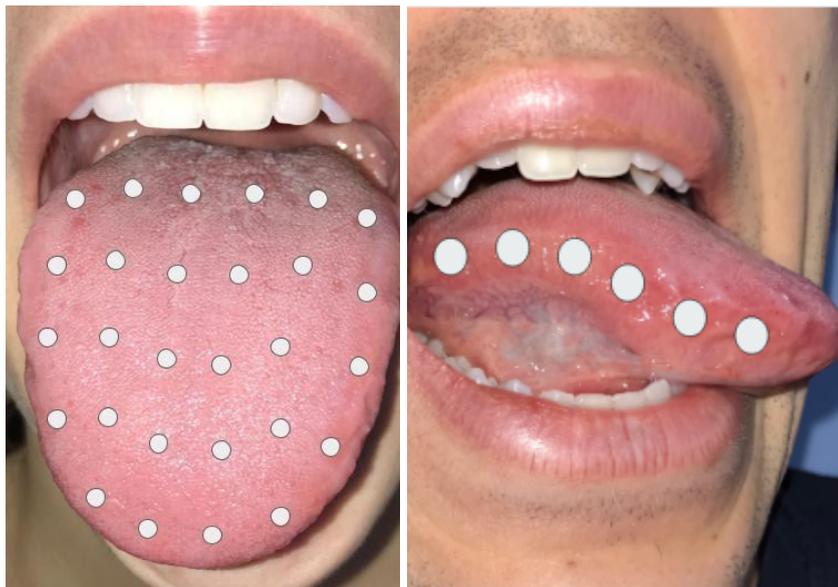
Quadro 4.5 - Parâmetros de dosimetria de TFBM do grupo 3

Comprimento de Onda (λ)	660 e 808 nm
Potência	0,1 W (cada λ)
Energia por Ponto	0,5 J (cada λ)
Tempo de Aplicação (ponto)	5 s
Densidade de Energia	11,11 J/cm ² (cada λ)
Densidade de Potência	1,11 W/cm ² (cada λ)
Número de pontos	40
Spot Size	0,0984 cm ² (cada λ)

Fonte: O autor

Em todos os grupos onde a técnica de TFBM foi utilizada, os pontos de aplicação foram os mesmos (Figura 4 e 5). Um total de 28 pontos em dorso de língua, com limite posterior a irradiação das papilas circunvaladas, adicionalmente a 12 pontos em bordo de língua bilateral foram realizados. Ao total 40 pontos foram irradiados em bordo e dorso de língua.

Figura 4.2 - 40 pontos de aplicação da técnica TFBM (660 (1 J), 808(1 J), 660 (0,5 J) e 808 (0,5 J) nm combinados - 100 mW) utilizados como referência nos grupos 1, 2 e 3.



Fonte: O autor

Já no grupo 4, uma técnica de irradiação transcutânea sublingual foi utilizada, de acordo com os parâmetros abaixo descritos

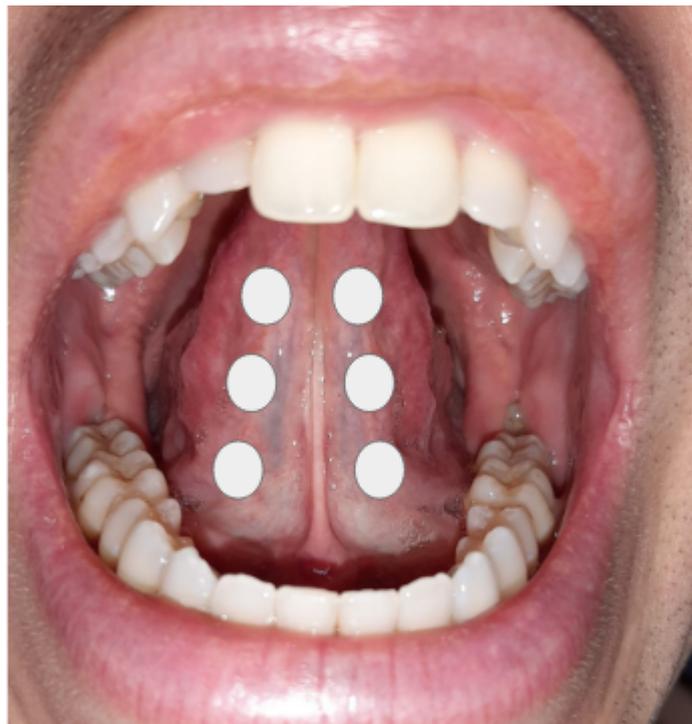
Quadro 4.6 - Parâmetros de dosimetria de IITMS do grupo 4.

Comprimento de Onda (λ)	660 nm
Potência	0.1 W (cada λ)
Energia por Ponto	9 J (cada λ)
Tempo de Aplicação (ponto)	90 s
Densidade de Energia	11.11 J/cm ² (cada λ)
Densidade de Potência	1.11 W/cm ² (cada λ)
Número de pontos	6
Spot Size	0.0984 cm ² (cada λ)

Fonte: O autor

Os pontos de referência para aplicação da técnica sublingual podem ser visualizados na figura 4.2 abaixo.

Figura 4.3 - Pontos de aplicação da técnica IITMS, 660 nm, 9 J por ponto, 100 mW.



Fonte: O autor

O aparelho utilizado para a realização de todos protocolos de irradiação foi o Therapy EC (DMC, São Carlos, São Paulo, Brasil), aparelhos este tendo sua potência mensurada em ambos comprimentos de onda rotineiramente com dispositivo específico para tal (Laser Check - MMOptics, São Carlos, SP, Brasil). A rotina de avaliação de potência de emissão de tal aparelho foi realizada semanalmente junto ao Laboratório Especial de Lasers em Odontologia.

4.4.2 Utilização do complexo vitamínico B

O complexo vitamínico do grupo B (Citoneurin[®] 5000 U.I.) foi utilizado de acordo com o protocolo proposto em bula para tratamento de condições onde há dano de sistema nervoso periférico, onde a posologia é de ingestão de 3 comprimidos por dia, após as refeições. Aos participantes foram disponibilizados 90 comprimidos, para tratamento durante 30 dias.

4.5 REAVALIAÇÃO

As reavaliações foram realizadas em um período aproximado de 30 dias ou 8 sessões de TFBM ou IITMS, para todos os grupos.

Os participantes foram entrevistados inicialmente frente a melhora na percepção geral dos alimentos, em desfecho dicotômico, bem como melhora em determinados grupos de alimentos verificados na consulta inicial (proteínas, café, refrigerante de cola, chocolate). Novamente foram solicitados a quantificar a sua capacidade olfativa em 0 a 10, bem como a persistência de alteração de paladar de qualquer natureza.

4.6 TABULAÇÃO DADOS

Os dados foram transpostos de ficha clínica utilizada em consulta de avaliação para programa de planilhas digitais (Google Planilhas) pelo pesquisador

avaliador (P.C.S), transpondo todos os dados qualitativos e quantitativos, com revisão final de valores ao final do tratamento individual de cada participante.

4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

O cálculo amostral foi obtido *a priori* por meio de estudo piloto, sendo considerando efeito de amostra de 0,2, erro alpha de 0,05, poder em 0,8, tendo o tamanho total da amostra calculado em 54 participantes (ANOVA, diferença entre fatores, 2 medidas, 6 grupos (G-Power - Erdfelder, Faul, & Buchner 1996). Posteriormente, devido à natureza não paramétrica dos dados quantitativos obtidos, foi optado pela avaliação dos dados analisando mediana e amplitude interquartil. Para análise dos dados quantitativos referentes ao teste de paladar final, o teste de Kruskal-Wallis foi escolhido. Adicionalmente, os dados qualitativos foram descritos por meio de análise descritiva em frequências, e sua relação como fatores preditores do desfecho de melhora auto reportada foi realizada utilizando-se Regressão Logística binomial. Os dados foram analisados utilizando dois programas estatísticos, The jamovi project (2022). *jamovi* (Versão 2.3) [Software de computador]. obtido de <https://www.jamovi.org> e MedCalc 15.8 (MedCalc bvba, Ostend, Bélgica). Intervalos de confiança foram pré-determinados em 95%, $p = 0.05$.

5 RESULTADOS

A amostra inicial do estudo foi de 55 participantes, destes atenderam aos critérios de inclusão 48 participantes, tendo completado o protocolo de pesquisa 37 participantes. A quantidade de sessões realizadas prévias a reavaliação foi de 8 aplicações, 2 sessões semanais (Grupos 1 a 4) ou 30 dias de uso do complexo vitamínico (Grupo 5).

5.1 RESULTADOS PRÉVIOS AO INÍCIO DO ESTUDO EXPERIMENTAL

5.1.1 Características da amostra inicial

Os parâmetros descritivos da amostra estão dispostos abaixo, sendo estes dados baseados na amostragem inicial incluída no estudo (n=48).

Tabela 5.1 - Distribuição da amostra inicial por sexo (n=48)

Sexo	n	%
Mulheres	33	68.80%
Homens	15	31.30%

Fonte: O autor

A análise dos dados de idade dos participantes está descrita na tabela abaixo.

Tabela 5.2 - Dados da amostra inicial por idade

	Idade
N	48
Média	41,5
Desvio Padrão	11,9
Mínimo	22
Máximo	68
Shapiro-Wilk p	0.19

Fonte: O autor

Ao considerar a duração dos sintomas de perda de paladar prolongada, os dados podem ser observados abaixo.

Tabela 5.3 - Duração dos sintomas da perda de paladar, registrado em meses

	Duração sintomas (meses)
N	48
Média	13.25
Desvio Padrão	7
Mínimo	2
Máximo	31
Shapiro-Wilk p	0.08

Fonte: O autor

Considerando o total de participantes fumantes, podemos observar os seguintes dados abaixo:

Tabela 5.4 - Fumantes ativos, amostra inicial

Fumo	n	%
N	42	87.50%
S	6	12.50%

Fonte: O autor

Outras condições médicas pré-existent, considerando toda e qualquer condição sistêmica diagnosticada (auto-reportada), como diabetes, hipertensão, ou qualquer outra condição que possa ter relevância clínica foi levada em conta, e pode ser observada abaixo.

Tabela 5.5 - Comorbidades reportadas, diagnosticadas previamente à infecção por COVID-19.

Comorbidades	n	%
N	31	64.60%
S	17	35.40%

Fonte: O autor

O uso de medicações de modo crônico previamente a infecção por COVID-19 pode ser observado abaixo, sendo que todo e qualquer medicamento e/ou suplementação vitamínica foi considerado.

Tabela 5.6 - Uso de qualquer medicamento ou complexo vitamínico de modo crônico, prévio à infecção por COVID-19.

Medicação Contínua	n	%
N	20	41.70%
S	28	58.30%

Fonte: O autor

No tocante à hipersensibilidade medicamentosa e ou alimentar, os participantes foram indagados quanto a existência de condições prévias ao aparecimento dos sintomas após a COVID-19.

Tabela 5.7 - Hipersensibilidade a fármacos e/ou alimentos auto-reportados previamente à infecção por COVID-19.

Hipersensibilidade Medicamentosa/Alimentar	n	%
N	34	70.80%
S	14	29.20%

Fonte: O autor

Já avaliando a proporção de participantes hospitalizados pela COVID-19, podemos observar os resultados abaixo.

Tabela 5.8 - Hospitalização devido a infecção por COVID-19.

Hospitalização	n	%
N	47	97.90%
S	1	2.10%

Fonte: O autor

Ao se analisar os dados de alteração olfativa (auto-reportada), podemos observar os resultados abaixo.

Tabela 5.9 - Alteração olfativa auto-reportada, após a infecção por COVID-19

Alteração Olfativa	n	%
N	1	2.10%
S	47	97.90%

Fonte: O autor

Conhecida como síndrome da COVID Longa, outros sintomas acessórios à expressão da perda de paladar, também foram observados em parte da amostra avaliada. Os dados estão descritos abaixo.

Tabela 5.10 - Manifestação de outros sintomas persistentes associados à infecção por COVID-19.

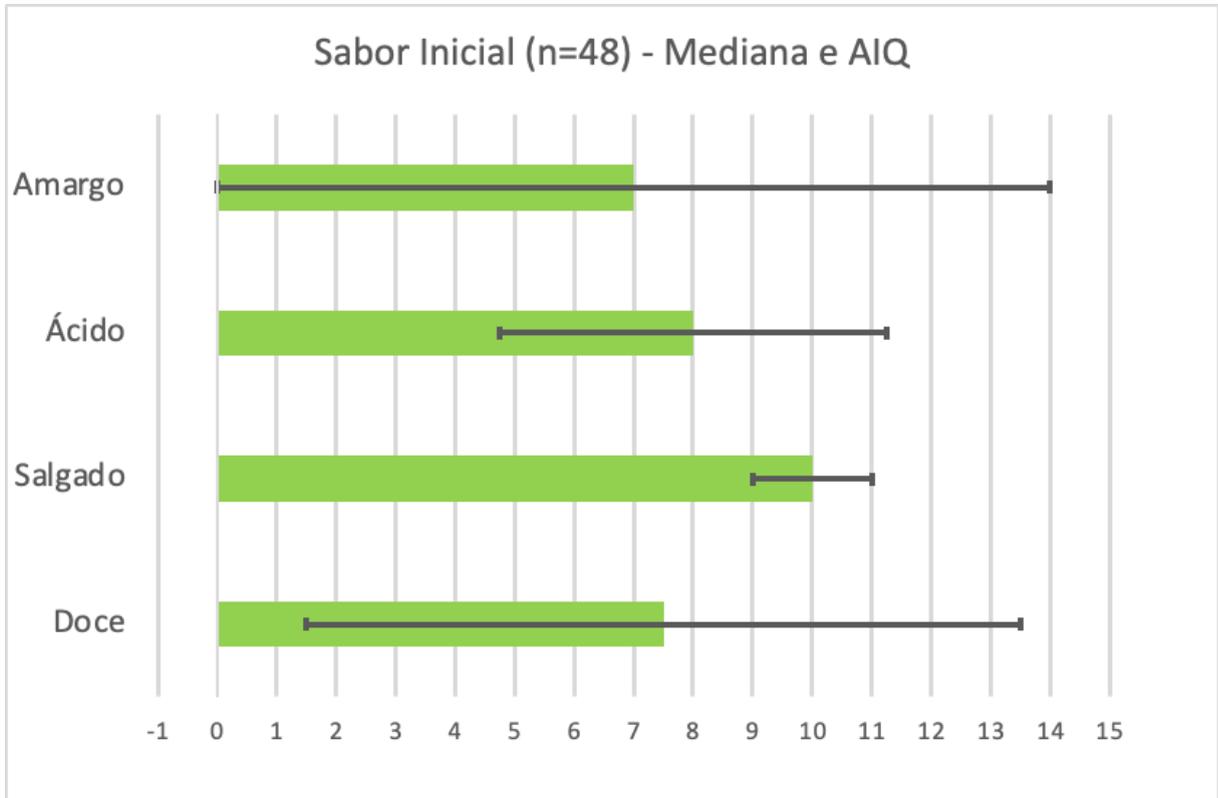
Outros Sintomas COVID	n	%
N	12	25.00%
S	36	75.00%

Fonte: O autor

5.1.2 Resultados ao teste de capacidade de gustação iniciais

Inicialmente, podemos considerar a característica da amostra total (48 participantes), onde é possível verificar a resposta aos 4 sabores testados quando analisados individualmente.

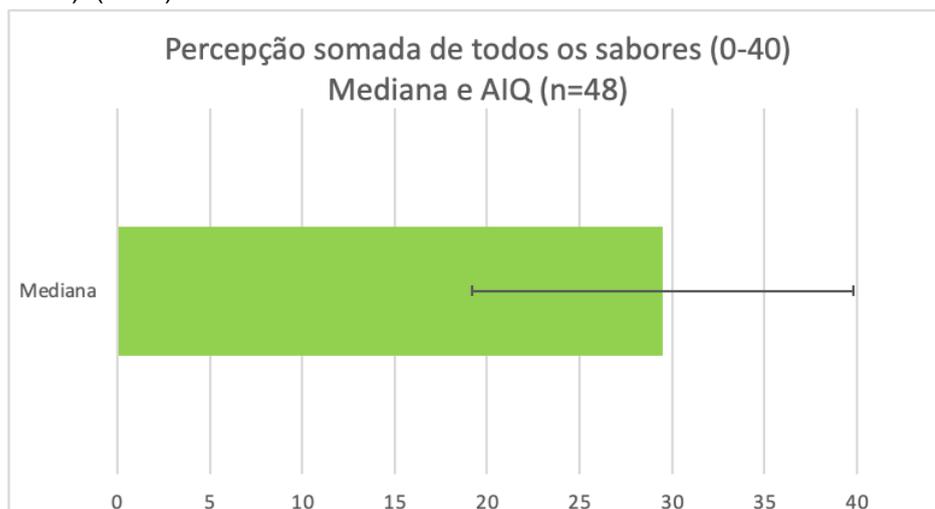
Figura 5.1 - Percepção gustativa de substâncias hiperconcentradas, frente a todos os sabores (0 a 10), prévios à intervenção. (n=48)



Fonte: O autor

Ao se avaliar o somatório desses valores (0-40), é possível observar os seguintes valores descritos abaixo, expressos em mediana e amplitude interquartil.

Figura 5.2 - Percepção gustativa de substância hiperconcentrada somatório de todos os sabores (0 a 40). (n=48)



Fonte: O autor

Podemos também visualizar os dados expressos na tabela abaixo, especificando aspectos como Mediana, AIQ, Mínimo, Máximo dos dados já descritos em gráficos anteriormente.

Tabela 5.11 - Dados quantitativos teste gustativo prévio à intervenção, considerando percepção a substâncias hiperconcentradas individualmente (0-10) e somatório (0-40).

	Total (40 max)	Doce (0-10)	Salgado (0-10)	Ácido (0-10)	Amargo (0-10)
N	48	48	48	48	48
Mediana	29.5	7.5	10	8	7
Amplitude Interquartil	10.25	6	1	3.2	7
Mínimo	14	0	3	0	0
Máximo	40	10	10	10	10
Shapiro-Wilk p	0.036	<0.001	<.001	<.001	<.001

Fonte: O autor

A disposição de participantes nos grupos pode ser observada na tabela abaixo. Considerando os participantes que finalizaram o protocolo de pesquisa (n=37), cada grupo recebeu entre 8 e 7 participantes. A tabela abaixo demonstra a situação final de randomização.

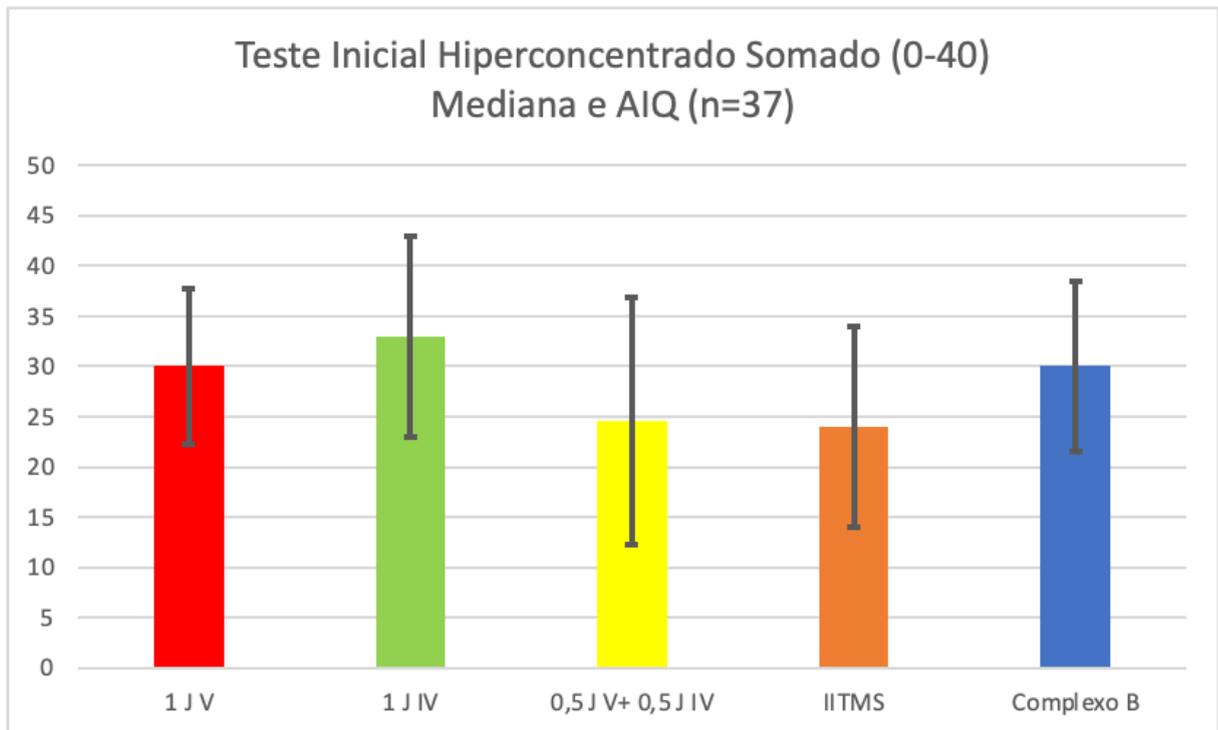
Tabela 5.12 - Número de participantes alocados por grupo, considerando participantes que finalizaram o protocolo de pesquisa.

N = 37	Grupo
8	V 1 J
7	IV 1J
8	V 0,5 J+ IV 0,5 J
7	IITMS
7	Complexo B

Fonte: O autor

Ao final da randomização, podemos observar as características de resposta a testes hiperconcentrados por participantes já divididos em grupos de intervenção, considerando o somatório de sabores (0-40) e o n final analisado de 37 participantes.

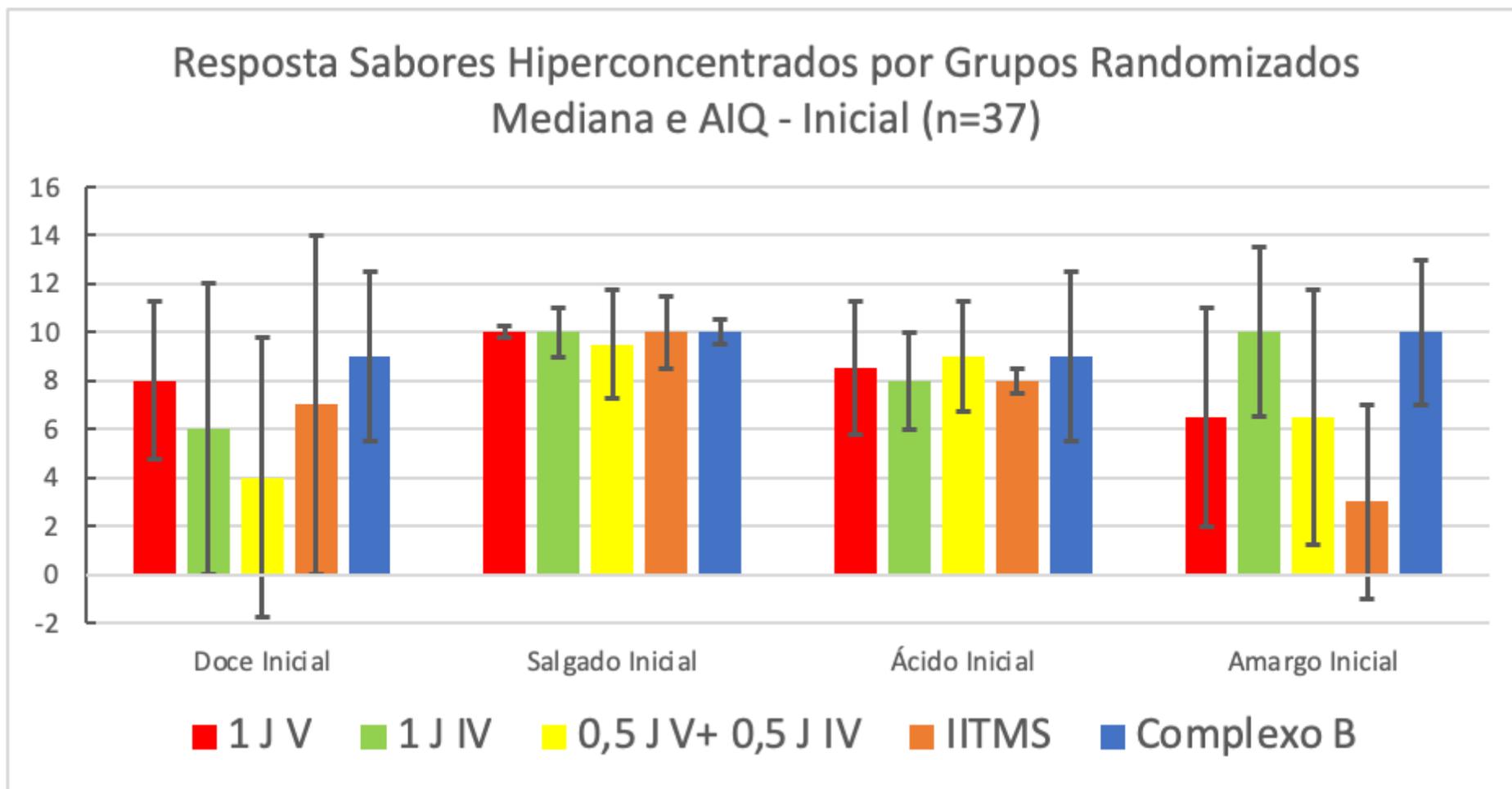
Figura 5.3 - Resposta inicial ao somatório de substâncias hiperconcentradas (0-40), separada por grupos de intervenção.



Fonte: O autor

Para uma melhor compreensão dos dados e análise, os seguintes dados abaixo serão explorados: cada sabor individualmente e sua pontuação dentro dos diferentes grupos randomizados. Pode-se observar a diferente resposta média dos diferentes sabores.

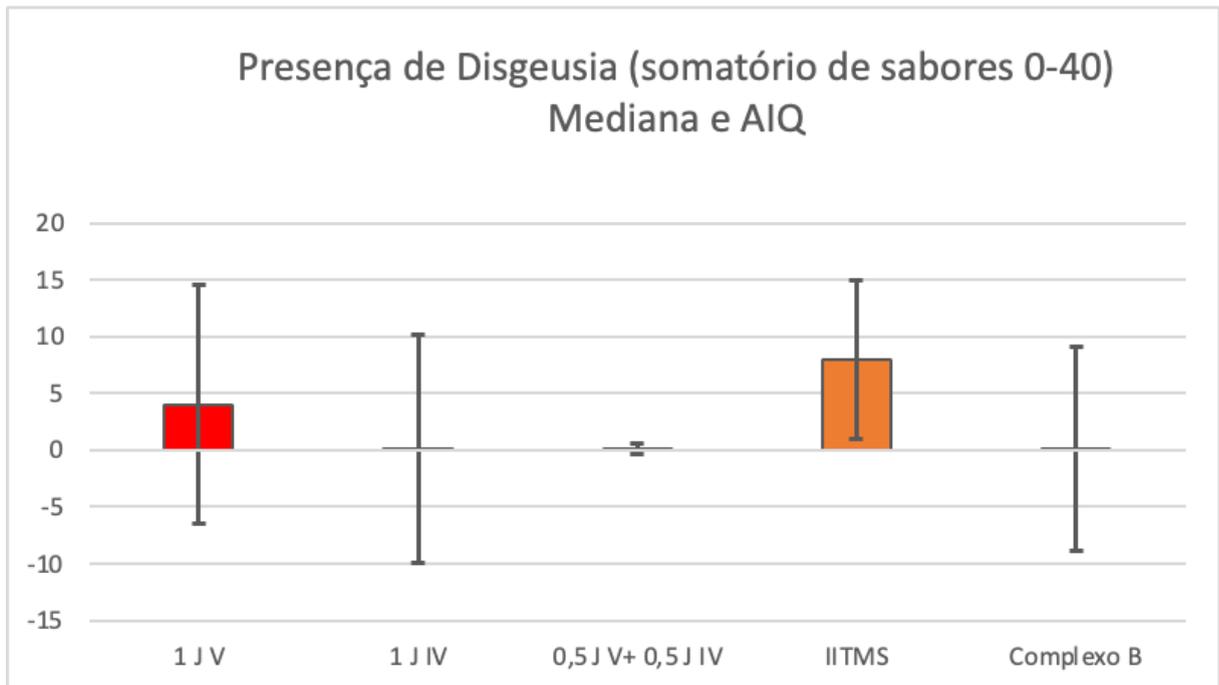
Figura 5.4 - Resposta inicial frente a todas substâncias hiperconcentrada (0-10), separada por grupos de intervenção



Fonte: O autor

Outro fator avaliado neste estudo foram as distorções de sabor, essas observadas na amostra inicial total (0-40), onde foram somadas todas as distorções em uma única escala.

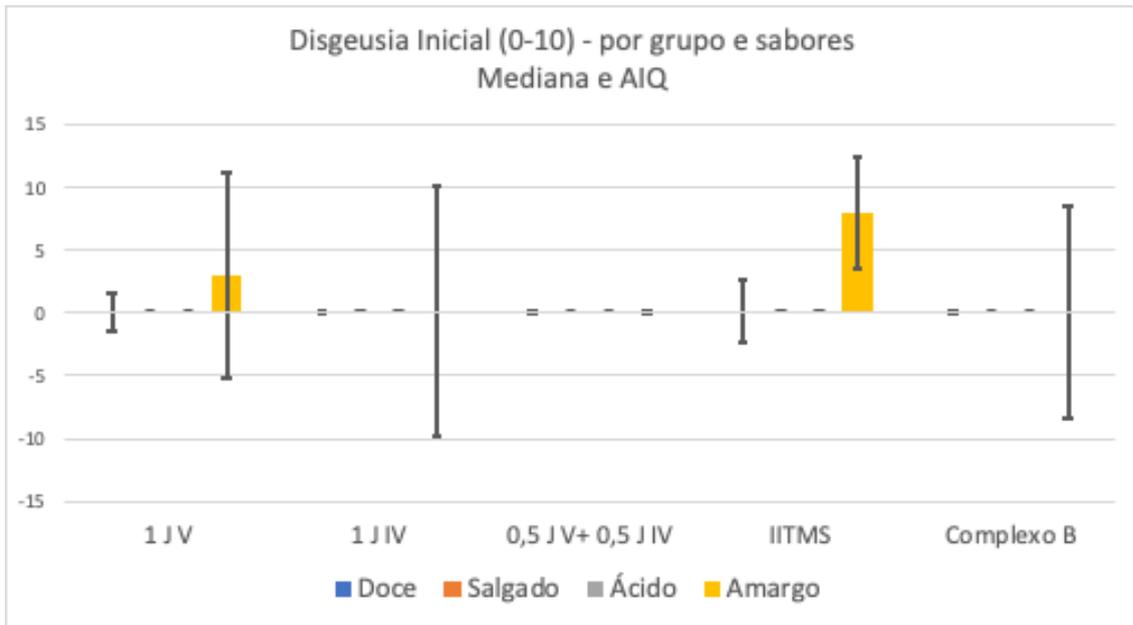
Figura 5.5 - Distribuição de Disgeusia, somatório de todas as substâncias (0-40) (n= 37)



Fonte: O autor

Quando analisamos os sabores individualmente, podemos observar a expressão de disgeusia somente em três sabores, visto que o sabor salgado não teve distorção gustativa reportada. Os seguintes dados podem ser observados no gráfico seguinte.

Figura 5.6 - Distribuição de Disgeusia inicial, separado por diferentes sabores (0-10) n=37.



Fonte: O Autor

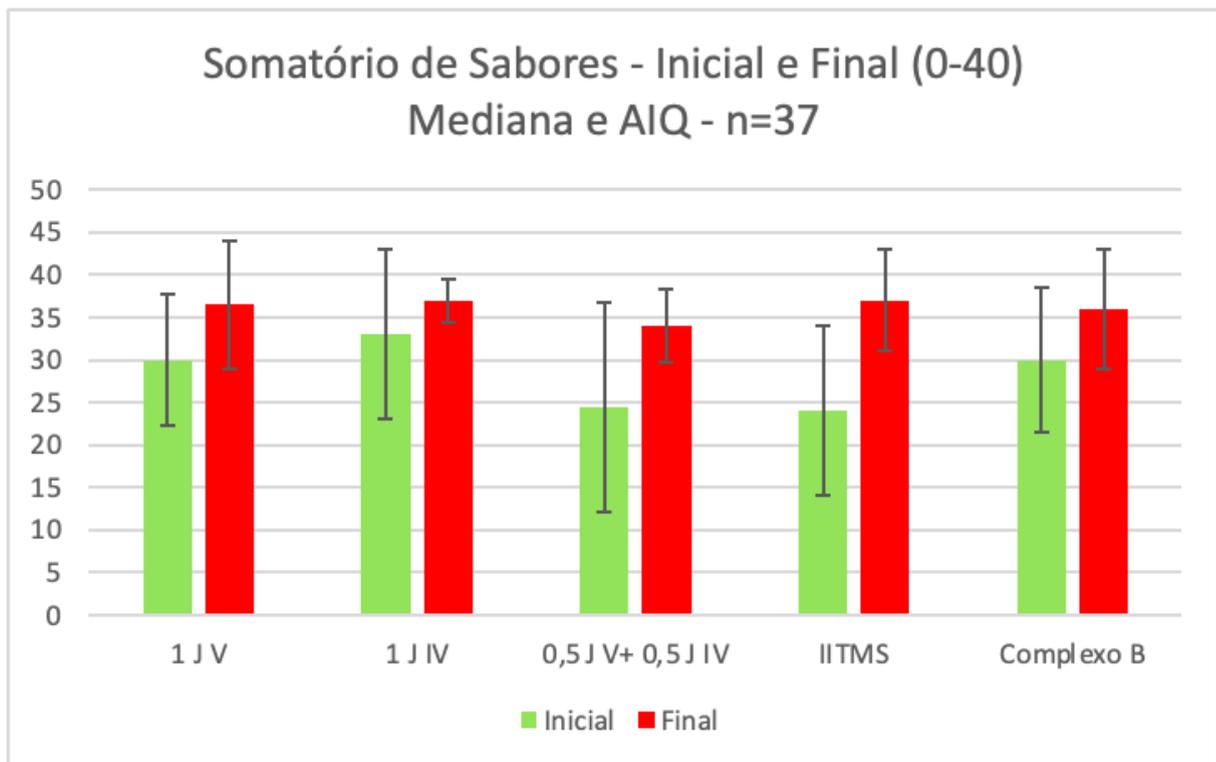
Nota-se neste último gráfico a disposição da distorção gustativa presente majoritariamente no sabor amargo e doce, tendo menor expressão nos sabores ácido e salgado.

5.2 RESULTADOS APÓS INTERVENÇÃO

5.2.1 Resultados ao teste quantitativo de percepção de substâncias hiperconcentradas

A análise descritiva dos dados relativos à comparação entre substâncias hiperconcentradas, prévio e posterior a aplicação dos protocolos experimentais, pode ser visualizada abaixo.

Figura 5.7 - Percepção total de sabores hiperconcentrados somados, inicial e final (0-40) (n=37).

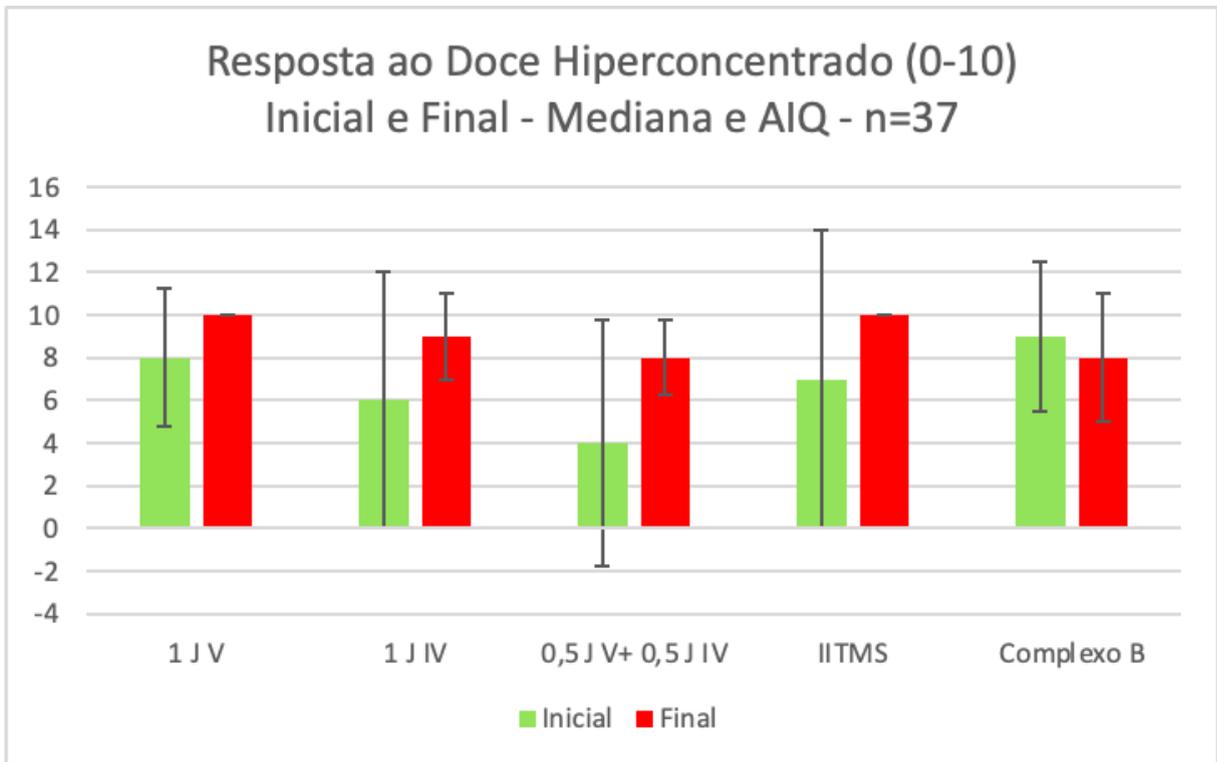


Fonte: O autor

Não houveram diferenças estatísticas entre os diferentes grupos ($p > 0.05$).

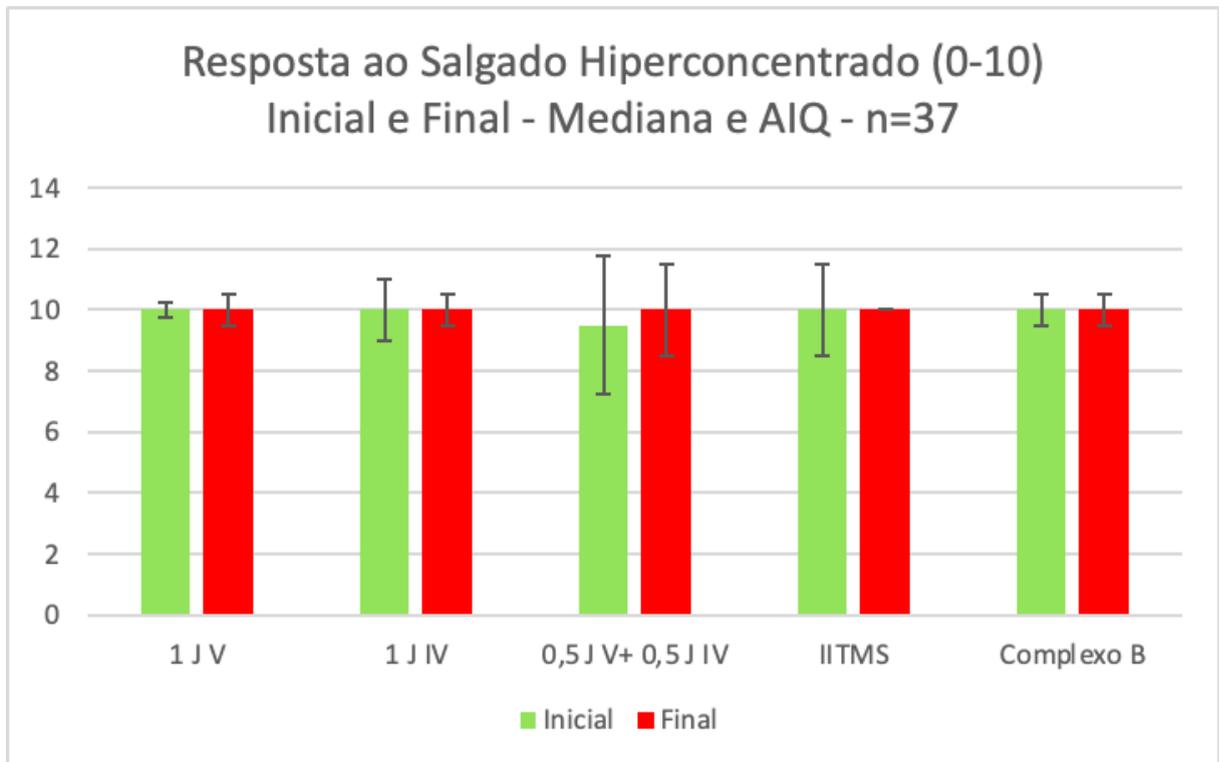
Os sabores individualmente também foram afetados pelo tratamento, tendo seus resultados observados, separados por grupos, como pode ser observado nas figuras abaixo:

Figura 5.8 - Percepção do sabor doce hiperconcentrado (0-10), inicial e final (n =37).



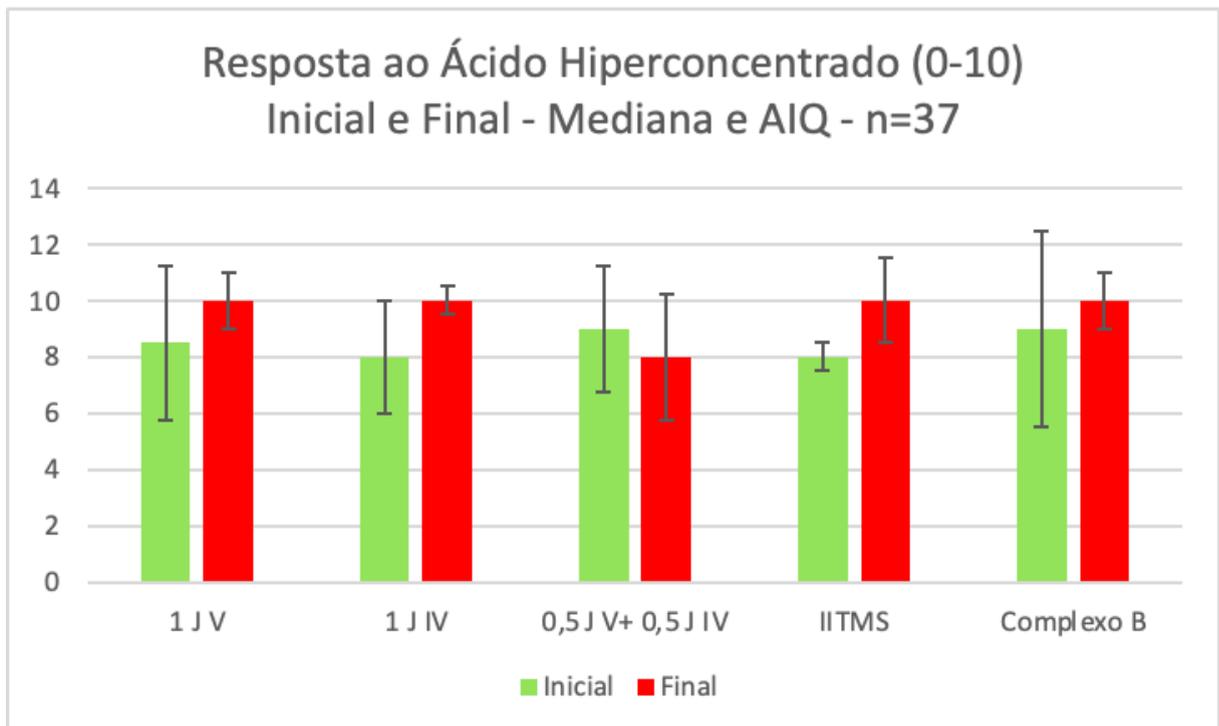
Fonte: O autor

Figura 5.9 - Percepção do sabor salgado hiperconcentrado (0-10), inicial e final (n=37)



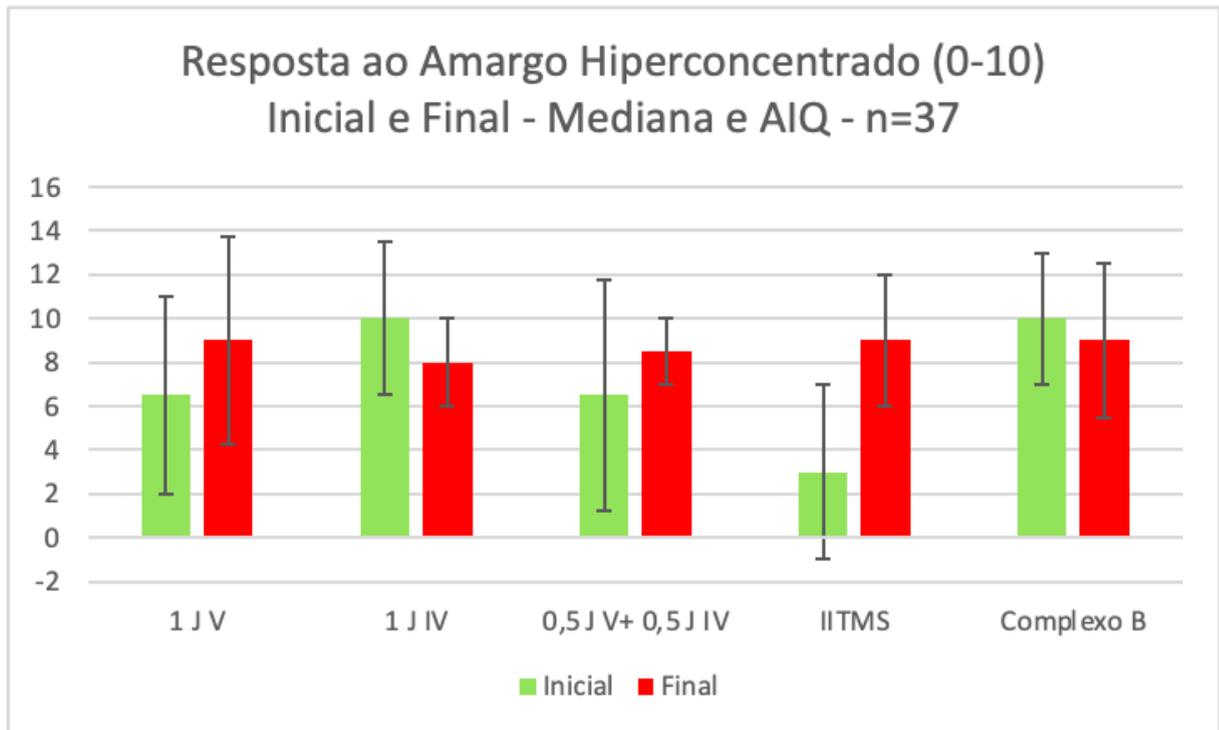
Fonte: O autor

Figura 5.10 - Percepção do sabor ácido hiperconcentrado (0-10), inicial e final (n=37)



Fonte: O autor

Figura 5.11 - Percepção do sabor amargo hiperconcentrado (0-10), inicial e final (n=37)



Fonte: O autor

Podemos verificar também os dados de mediana e amplitude interquartil em gráficos previamente expostos, na tabela 5.13.

Tabela 5.13 - Mediana e Amplitude Interquartil de todos os sabores, separados por grupo de intervenção. (n=37).

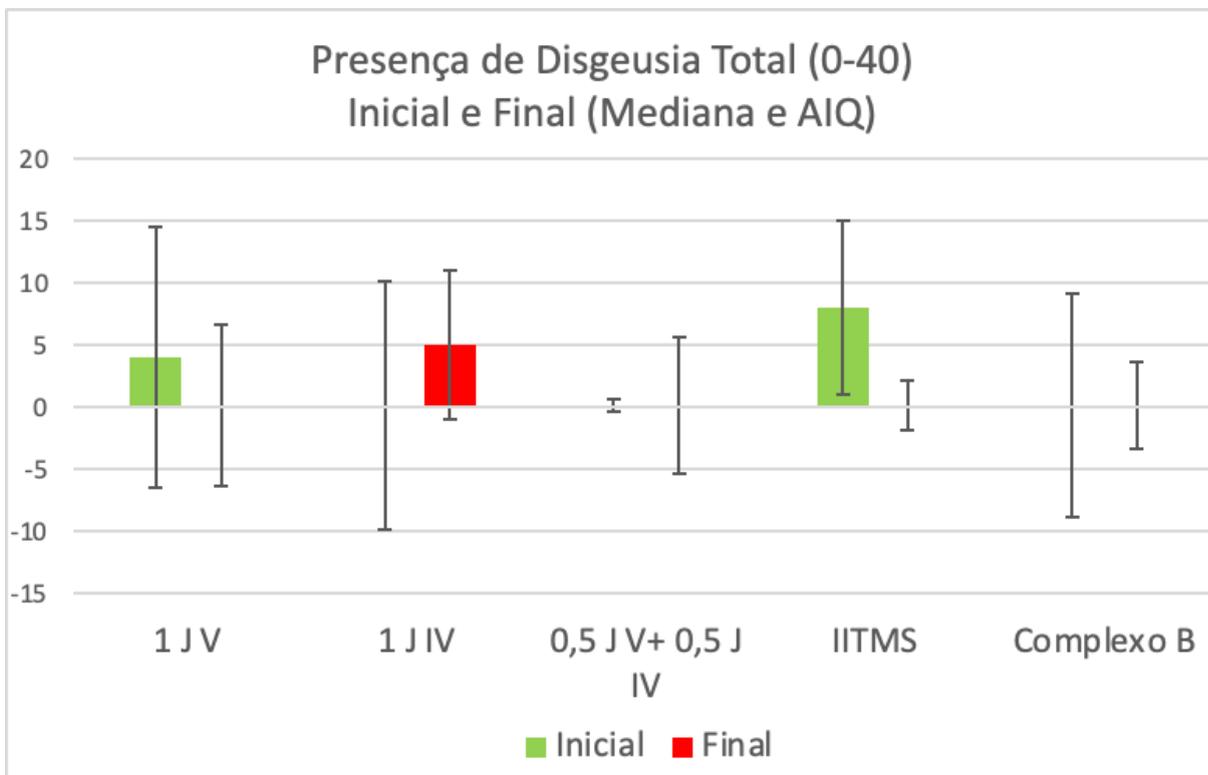
		Doce	Salgado	Ácido	Amargo
Mediana	V 1 J	10.000	10.000	10.000	9.000
	IV 1 J	9	10	10	8
	V 0.5 J + IV 0.5 J	8.000	10.000	8.000	8.500
	IITMS	10	10	10	9
	Complexo b	8	10	10	9
Amplitude Interquartil	V 1 J	0	0.500	1.000	4.750
	IV 1 J	2.000	0.500	0.500	2.000
	V 0.5 J + IV 0.5 J	1.750	1.5	2.250	1.500
	IITMS	0	0	1.500	3.000
	Complexo b	3.000	0.500	1.000	3.500
Mínimo	V 1 J	8	0	9	0
	IV 1 J	8	9	9	8
	V 0.5 J + IV 0.5 J	5	6	5	0
	IITMS	5	10	7	3
	Complexo b	5	7	6	3
Máximo	V 1 J	10	10	10	10
	IV 1 J	10	10	10	10
	V 0.5 J + IV 0.5 J	10	10	10	10
	IITMS	10	10	10	10
	Complexo b	10	10	10	10

Fonte: O autor

5.2.2 Avaliação da evolução de disgeusia

Ao se observar a expressão de disgeusia combinada de todos os sabores (0-40), podemos verificar os parâmetros avaliados nos gráficos abaixo.

Figura 5.12 - Percepção de distorção de sabores hiperconcentrado somados (0-40), inicial e final (n=37)



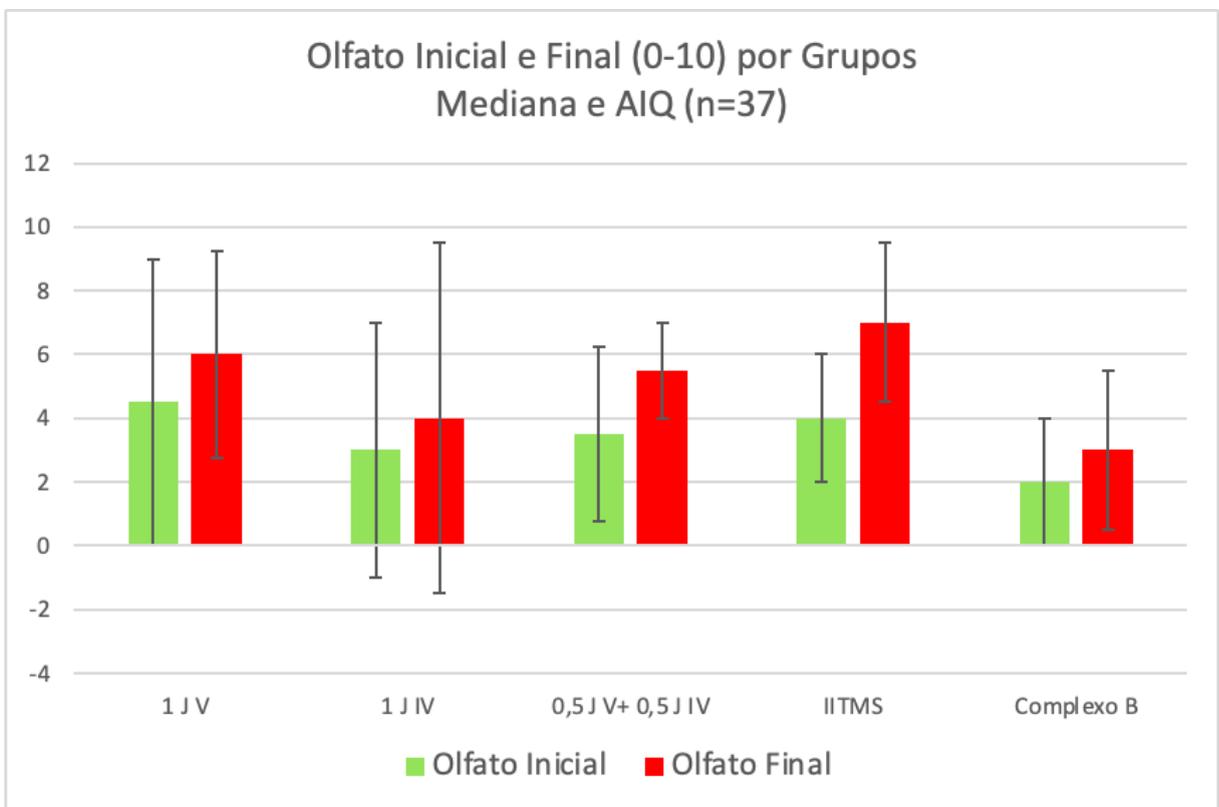
Fonte: O autor

A presença de disgeusia também foi reduzida, quando comparada a avaliação inicial, sendo expressa uma diminuição percentual de 41,7% (n=48) para 35,1% (n=37) no sabor amargo, ácido de 6,3% (n=48) contra 5,4% (n=37) e de 10,4% (n=48) para 0% (n=37), porém sem relevância estatística.

5.2.3 Avaliação de evolução do olfato auto reportado

O olfato neste estudo foi avaliado de modo auto-reportado. O valor 10 foi considerado como a percepção prévia a infecção por COVID-19, e 0 anosmia. No gráfico abaixo podemos avaliar as diferenças dos valores médios e desvio padrão dos diferentes grupos previamente e posteriormente ao protocolo de pesquisa. Não houveram diferenças estatísticas quando avaliamos os diferentes grupos ($p > 0,05$).

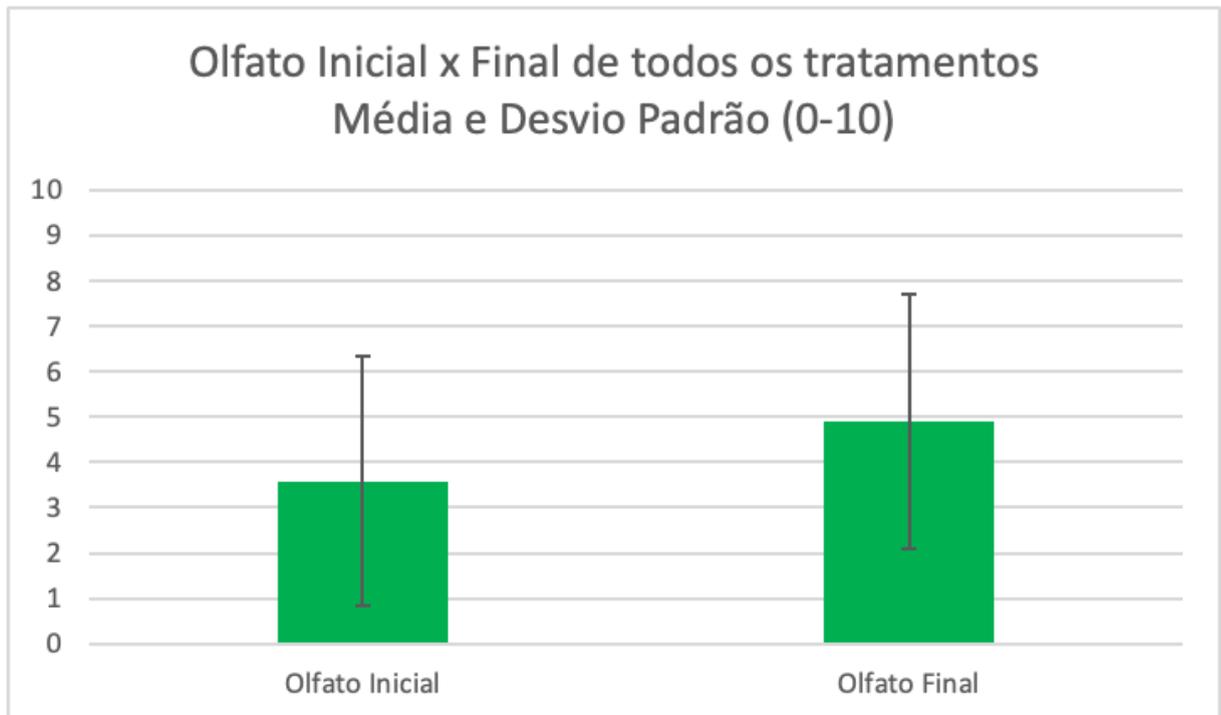
Figura 5.13 - Olfato Inicial e Final dos diferentes Grupos 0-10 (Mediana e AIQ)



Fonte: O autor

Quando analisamos a eficiência de todos os grupos, como um único tratamento, é possível observar a evolução da percepção. Aplicando-se o teste de Wilcoxon, podemos observar diferença estatística quando consideramos os dois tempos avaliados. ($p < 0,001$)

Figura 5.14 - Gráfico de medidas de tendência central Olfato Inicial e Final (n=37).



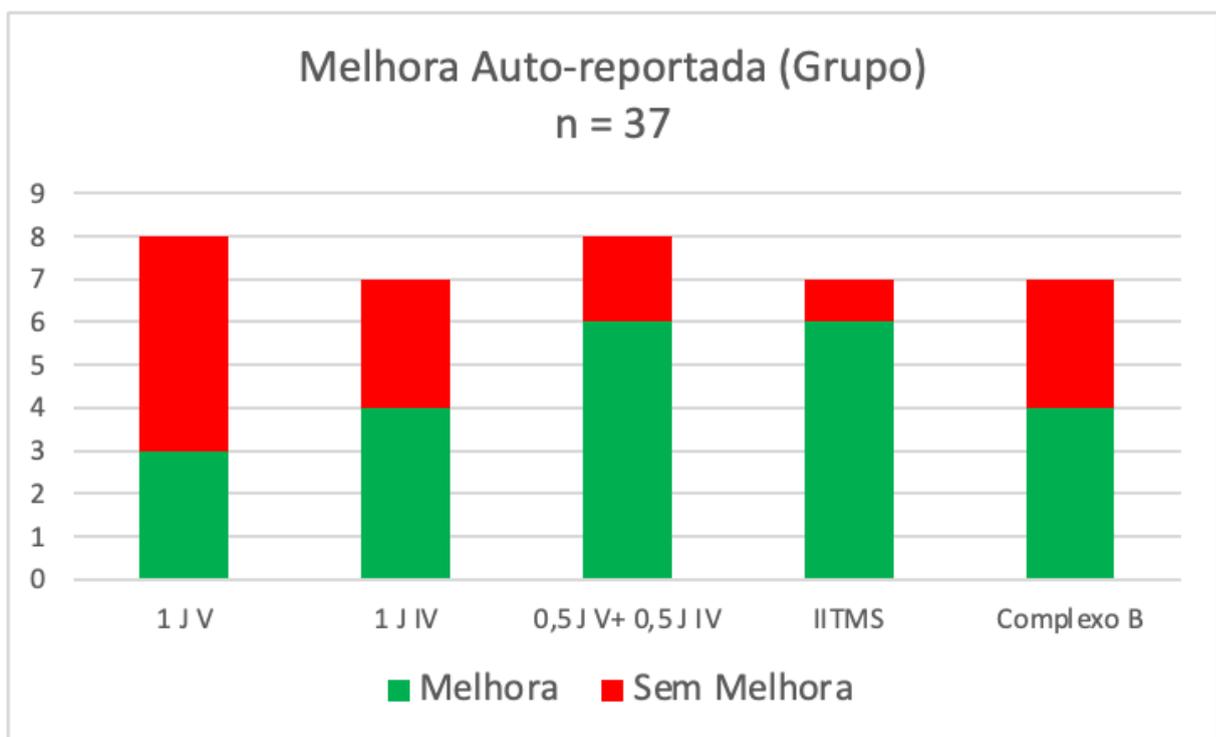
Fonte: O autor

5.3 ANÁLISE DADOS QUALITATIVOS

Foram analisadas as respostas de melhora geral de paladar, e frente a alimentos específicos (Proteínas, café, refrigerante de cola e chocolate), ambos auto reportados, após o tratamento.

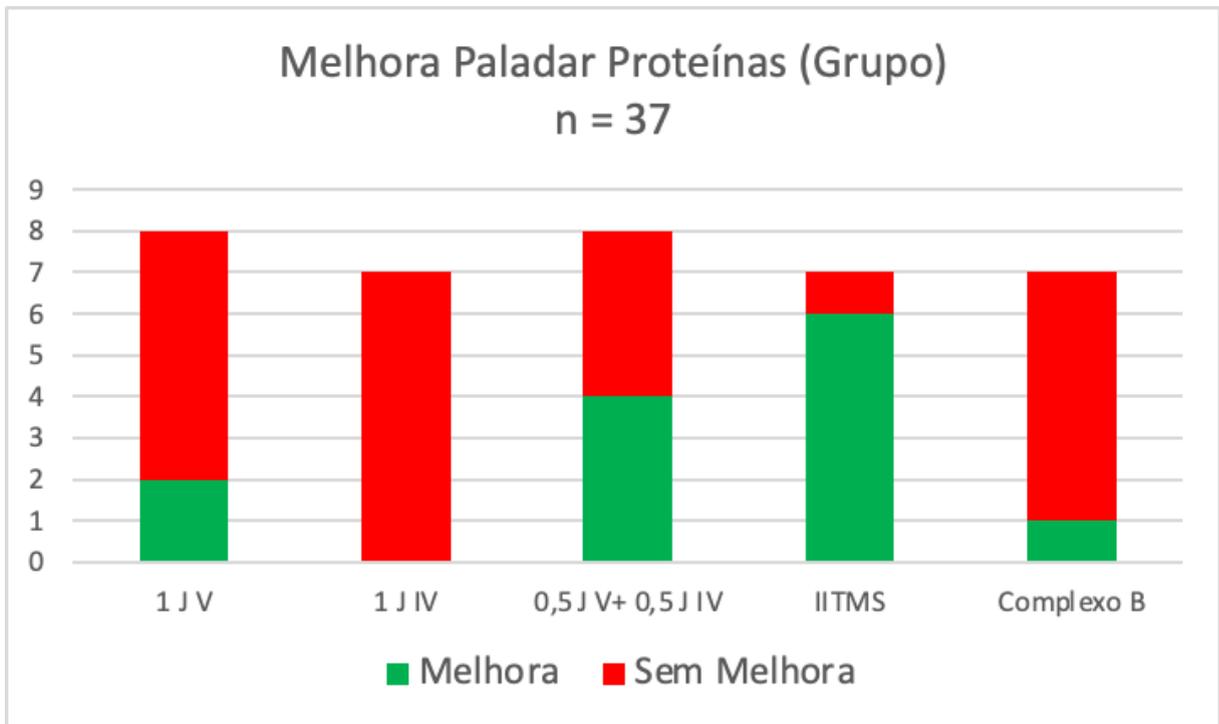
O gráfico a seguir traz as informações referentes a resposta frente a melhora geral, por número de participantes, separados por grupo. Podemos analisar a tendência de melhores resultados nos grupos 3 e 4.

Figura 5.15 - Melhora Auto Reportada de Paladar Geral (n=37), dividido por grupo de intervenção.



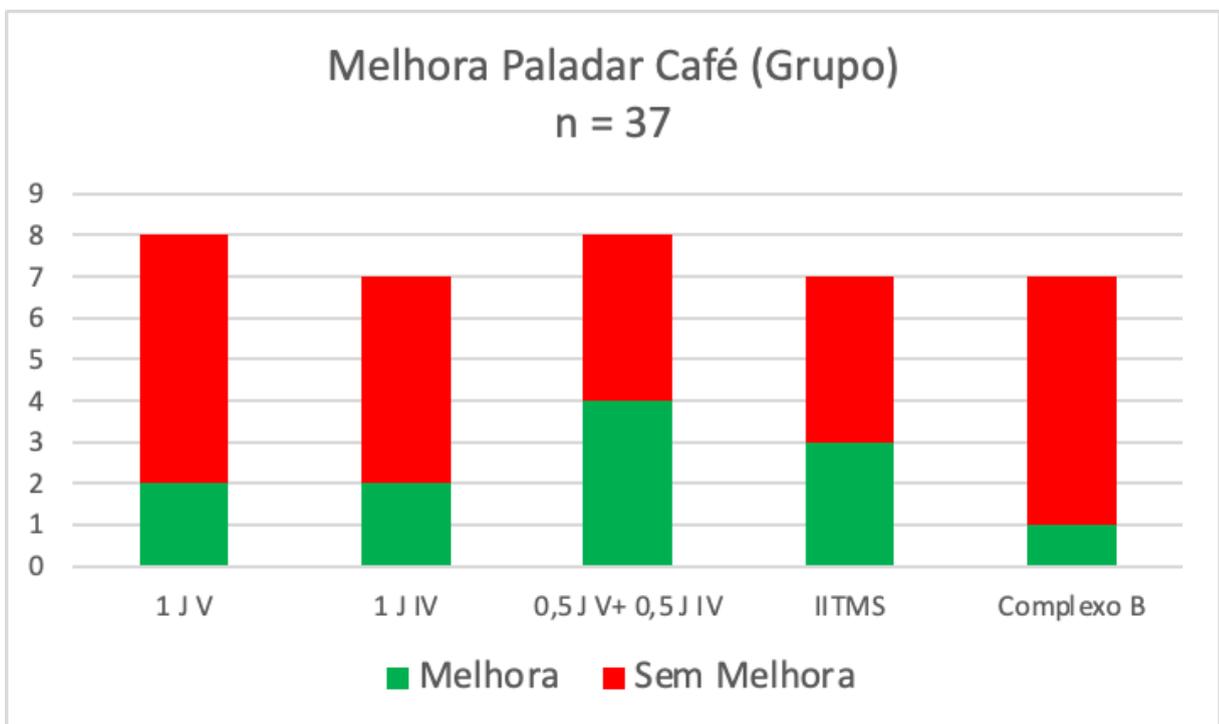
Fonte: O autor

Figura 5.16 - Melhora na percepção de paladar de proteínas em geral, dividido por grupo (n=37).



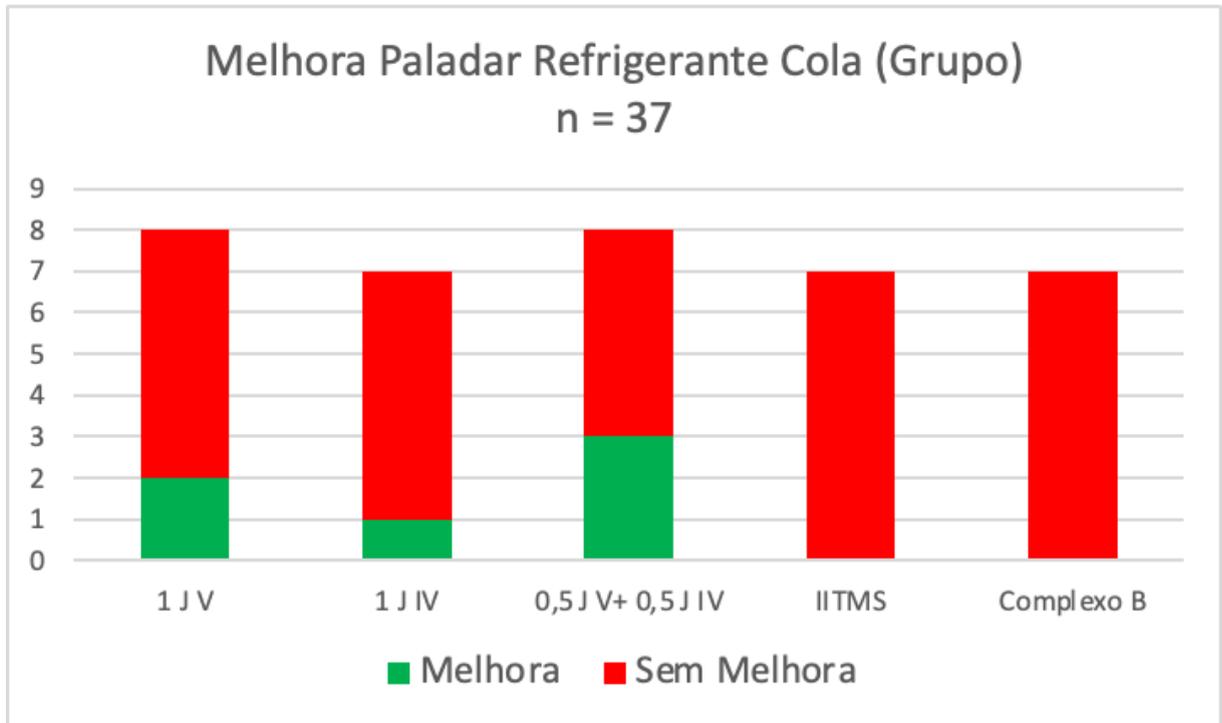
Fonte: O autor

Figura 5.17 - Melhora na percepção de paladar auto reportado de café, dividido por grupo (n=37).



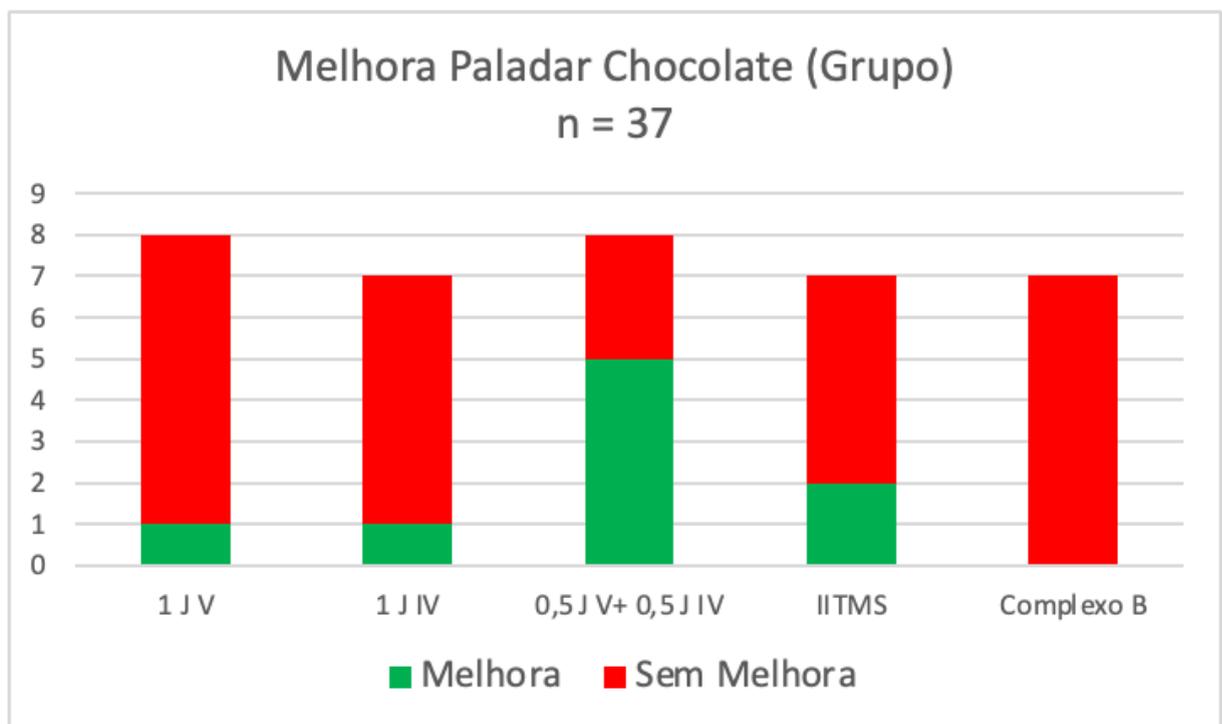
Fonte: O autor

Figura 5.18 - Melhora na percepção de paladar auto reportado de refrigerante de cola, dividido por grupo (n=37)



Fonte: O autor

Figura 5.19 - Melhora na percepção de paladar auto reportado de chocolate, dividido por grupo (n=37)



Fonte: O autor

Tabela 5.14 - Melhora auto reportada de paladar por grupo de intervenção (n=37)

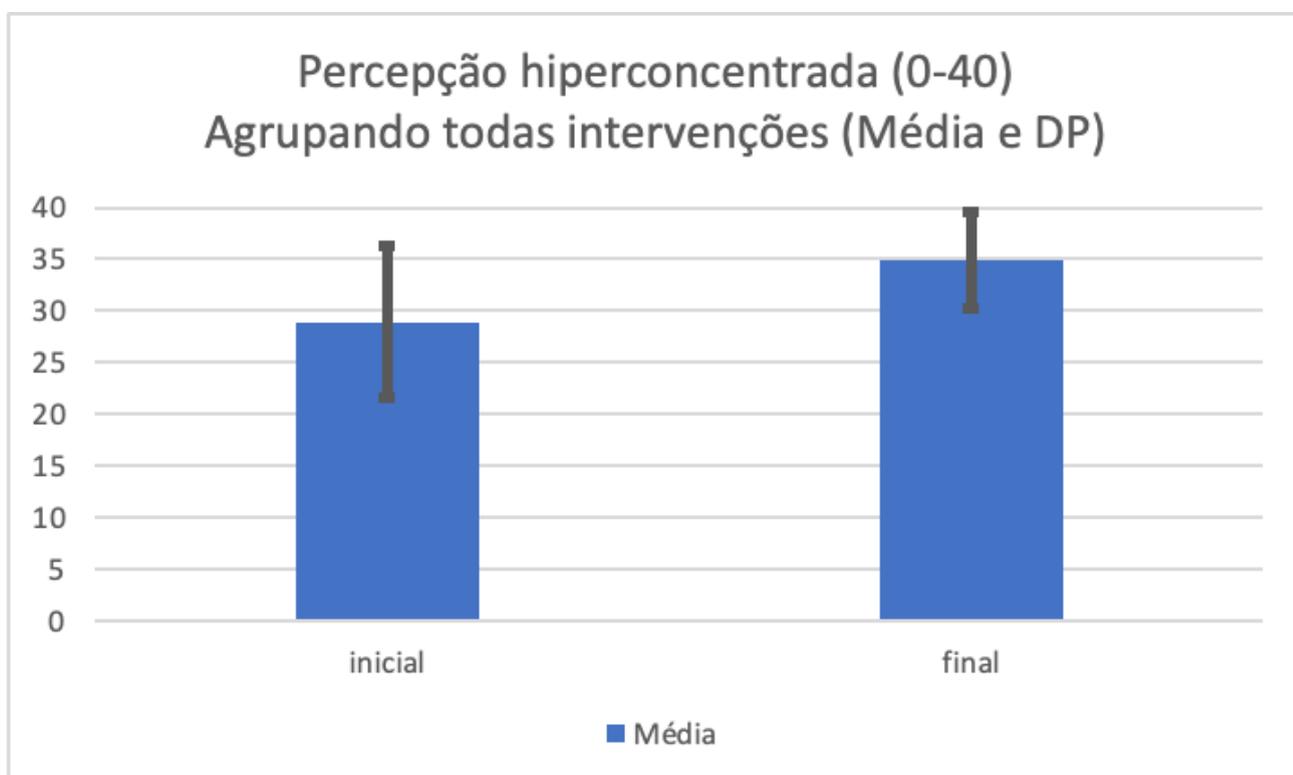
Melhora auto reportada	V 1 J	IV 1 J	V 0,5 J + IV 0,5 J	IITMS	complexo B	Total
n	5	3	2	1	3	14
s	3	4	6	6	4	23
Total	8	7	8	7	7	37

Fonte: O autor

5.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA DO TRATAMENTO EXPERIMENTAL

Inicialmente podemos considerar a diferença estatisticamente relevante obtida por meio de teste de Wilcoxon (medidas repetidas, não paramétricas) entre todos os valores iniciais e finais, somando todos os grupos de intervenção.

Figura 5.20 - Gráfico de mediana, média e amplitude interquartil e Teste Wilcoxon (abaixo do gráfico), considerando todos sabores somados (0-40), de todos os grupos somados, prévio e após a intervenção (n=37).



Teste t para amostras emparelhadas

			Estatística	p
S. Total Inicial	S. Total Final	W de Wilcoxon	56.5 ^a	< .001

^a 3 par(es) de valores empatados

Fonte: O autor

Todavia, quando analisamos os grupos e seus valores iniciais e finais podemos verificar a existência de diferenças estatísticas nos sabores doce, ácido e amargo, tendo o sabor salgado não apresentado diferenças estatísticas entre os valores iniciais e finais, como pode ser observado no quadro abaixo.

Figura 5.21 - Teste W considerando todos os grupos de intervenção, prévio e após aplicação de protocolo experimental. (n=37)

Teste t para amostras emparelhadas

			Estatística	p
Salgado Inicial	Salgado Final	W de Wilcoxon	13.0 ^a	0.081
Doce Inicial	Doce Final	W de Wilcoxon	22.0 ^b	< .001
Ácido Inicial	Ácido Final	W de Wilcoxon	44.0 ^d	< .001
Amargo Inicial	Amargo Final	W de Wilcoxon	40.5 ^e	0.003

^a 26 par(es) de valores empatados

^b 13 par(es) de valores empatados

^d 11 par(es) de valores empatados

^e 14 par(es) de valores empatados

Fonte: O autor

Ao se analisar a relação entre o desfecho auto reportado de melhora, e sua relação com parâmetros como exposição a diferentes fatores durante a fase infecciosa da COVID-19, condições prévias e fatores comportamentais, não foram observados diferenças estatisticamente relevantes.

Tabela 5.15 - Associação entre melhora auto reportada e diferentes fatores de exposição prévios, e durante a fase infecciosa da COVID-19, além da relação entre melhora com sexo e idade

Coefficientes do modelo - Melhora auto reportada

Preditor	Estimativas	Erro-padrão	Z	p
Intercepto	-1.8961	1.7103	-1.1086	0.268
Fumo:				
s – n	-0.9189	1.2765	-0.7199	0.472
Sexo:				
F – M	0.0533	0.8769	0.0608	0.951
Doença Prévia:				
s – n	-1.2827	0.9604	-1.3356	0.182
Uso de medicação:				
s – n	1.2614	1.0158	1.2417	0.214
Sintomas Covid Longa:				
s – n	0.2590	0.9422	0.2749	0.783
Cloroquina:				
s – n	1.2057	1.3818	0.8725	0.383
Ivermectina:				

s – n	0.4051	1.4369	0.2819	0.778
Corticóide:				
s – n	0.1650	1.1458	0.1440	0.885
Azitromicina:				
s – n	-0.4669	1.0946	-0.4266	0.670
Idade	0.0177	0.0355	0.4992	0.618

Nota. As estimativas representam o Log das Chances de "Melhora auto reportada = n" vs. "Melhora auto reportada = s"

Fonte: O autor

Outro fator de análise é o cruzamento dos dados entre melhora auto reportada e melhora quantitativa obtida, considerando qualquer valor superior a 1 no teste quantitativo como desfecho positivo. Tais dados podem ser apreciados na tabela abaixo.

Tabela 5.16 - Melhora auto reportada e melhora quantitativa da percepção de paladar, em números absolutos. (n=37)

Melhora Quantitativa	Melhora auto reportada		Total
	n	s	
n	3	5	8
s	11	18	29
Total	14	23	37

Fonte: O autor

5.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA INTERGRUPOS

A análise intergrupos se deu por meio do teste de Kruskal-Wallis, devido à natureza dos dados. A diferença entre os tempos inicial e final entre grupos foi considerada, sendo divididos os diferentes sabores, total de percepção e olfato auto-reportado. Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os diferentes grupos de tratamento, ao se considerar como desfecho a melhora na percepção de paladar somado, ou individualmente por sabor testado. Os resultados referentes às análises dos sabores individualmente avaliados estão descritos abaixo.

Tabela 5.17 - Teste de Kruskal-Wallis considerando percepção do sabor Ácido, entre grupos, após aplicação do protocolo experimental.

Ácido		
N		37
Teste Estatístico		1,9568
Ajuste valores repetidos (Ht)		2,0292
Graus Liberdade		4
Nível de Significância	p= 0,7304	
Grupos	n	Ranking médio
	1	8
	2	7
	3	8
	4	7
	5	7
		20,81
		21,64
		14,69
		18,5
		19,71

Tabela 5.18 - Teste de Kruskal-Wallis considerando percepção do sabor Amargo, entre grupos, após aplicação do protocolo experimental.

Amargo			
N		37	
Teste Estatístico		5,418	
Ajuste valores repetidos (Ht)		5,909	
Graus Liberdade		4	
Nível de Significância	p= 0,2060		
Grupos	n		Ranking médio
	1	8	20,69
	2	7	16,71
	3	8	20,44
	4	7	24,64
	5	7	12,07

Fonte: O autor

Tabela 5.19 - Teste de Kruskal-Wallis considerando percepção do sabor Doce, entre grupos, após aplicação do protocolo experimental.

Doce			
N		37	
Teste Estatístico		4,1301	
Ajuste valores repetidos (Ht)		4,3487	
Graus Liberdade		4	
Nível de Significância	p= 0,3609		
Grupos	n		Ranking médio
	1	8	20
	2	7	20,71
	3	8	21,87
	4	7	20,21
	5	7	11,64

Fonte: O autor

Tabela 5.20 - Teste de Kruskal-Wallis considerando percepção do sabor Salgado, entre grupos, após aplicação do protocolo experimental.

Salgado		
N		37
Teste Estatístico		0,7041
Ajuste valores repetidos (Ht)		1,019
Graus Liberdade		4
Nível de Significância	p= 0,9069	
Grupos	n	Ranking médio
	1	8 17,5
	2	7 19,64
	3	8 21
	4	7 19,71
	5	7 17,07

Fonte: O autor

Referente as alterações observadas entre grupos ao final do experimento, quando observado o desfecho quantitativo de disgeusia, podemos observar as tabelas abaixo que não demonstram relevância estatística para o n=37, quando comparando diferentes resultados obtidos entre grupos.

Tabela 5.21 - Teste de Kruskal-Wallis considerando percepção de sabores alterados, entre grupos, após aplicação do protocolo experimental.

Disgeusia		
N		37
Teste Estatístico		6,4313
Ajuste valores repetidos (Ht)		7,8733
Graus Liberdade		4
Nível de Significância	p= 0,0963	
Grupos	n	Ranking médio
	1	8
	2	7
	3	8
	4	7
	5	7
		21,37
		17,29
		11,88
		25,29
		19,86

Fonte: O autor

Já o olfato auto reportado, quantificado de 0-10, também não teve diferenças estatísticas quando consideramos como desfecho quantitativo a melhora entre grupos avaliados.

Tabela 5.22 - Teste de Kruskal-Wallis considerando percepção de olfato auto-reportado, entre grupos, após aplicação do protocolo experimental.

Olfato			
N		37	
Teste Estatístico		3,1029	
Ajuste valores repetidos (Ht)		3,4767	
Graus Liberdade		4	
Nível de Significância	p= 0,4814		
Grupos	n		Ranking médio
	1	8	18,75
	2	7	13,79
	3	8	21,37
	4	7	23,07
	5	7	17,71

Fonte: O autor

6 DISCUSSÃO

Um dos motivos de debate na literatura são as causas da alteração de paladar desencadeada pela infecção por COVID-19, bem como se a mesma é resultado de alterações gustativas, olfativas ou neurológicas. Além da razão não estar elucidada, ainda não há explicação da razão de sintomas se estendem por vários meses em determinados grupos de pessoas (42,60). Observamos uma maior quantidade de mulheres afetadas, o que se assemelha a condição do COVID Longo reportado na literatura, no qual mulheres apresentam uma maior predisposição a desenvolverem esta condição (104,105). Os mecanismos envolvidos e estruturas afetadas, bem como se é tal desfecho é desencadeado por um dano direto viral, ou por resposta imunológica inata ainda necessita ser melhor explorado. Alguns autores apresentam grandes variações na resposta imune inata e na função de suas células, mesmo em pacientes não hospitalizados, além de alterações persistentes no sistema imunológico após longos períodos, mantendo determinados pacientes a um estado hiper inflamatório persistente (62,106,107). A manutenção dos sintomas por períodos prolongados, como os observados nesta pesquisa, demonstram a possibilidade de conexão entre a resposta imune desenvolvida e o quadro de perda de paladar prolongado. Esta apresenta-se como a via mais plausível de explicação dessa condição, visto que a persistente manutenção dos sintomas, onde reportamos casos de mais de 2 anos, além da variada apresentação dos sintomas entre os indivíduos.

Uma outra possibilidade viável de explicação para tal condição é o dano celular inicialmente gerado pelo SARS-CoV-2 no seu processo de entrada e replicação, causando a perda de homeostase em função deste dano direto. Suportando esta idéia, em recente meta-análise focada em perda gustativa direta desencadeada pela COVID-19, foram incluídos estudos onde a alteração de paladar (auto reportada e metodologias quantitativas) que a função das papilas gustativas fica alterada, e adicionalmente em 39,2% (IC 95% 35.34%–43.12%) por períodos prolongados, suportando a tese de que a COVID-19 leva a alteração na percepção gustativa pela língua (108). Mais uma vez não há evidências que expliquem

categoricamente por que motivo essas células persistem em disfunção, e ainda, a razão da manutenção dessa condição que leva ao mau funcionamento.

Ao considerarmos o paladar, devemos avaliar o grau de complexidade envolvido em tal processo. É de conhecimento dos autores, que olfato, paladar e sensações trigeminais e percepções são responsáveis pela captação do que conhecemos por paladar, sendo o retro olfato nasal o maior responsável pela composição de tal, entretanto dado o panorama atual e embasamento prévio, os autores optaram por realizar tratamentos experimentais para tentar reduzir o dano provocado pela perda prolongada de paladar desencadeada pela COVID-19 no processo relacionado a gustação pela língua. (109) Este estudo avaliou a resposta ao olfato das diferentes terapias experimentais, apesar das limitações de avaliação (auto-reportadas), podemos ter uma noção real do impacto desta melhora na rotina dos participantes.

A avaliação de diferentes sabores, bem como a resposta deles frente aos tratamentos experimentais foram observadas neste estudo. Um total de 37 participantes foram submetidos ao protocolo experimental, destes, somente 3 não obtiveram qualquer tipo de evolução na percepção (auto reportada e avaliação qualitativa).

No tangente a diferentes sabores, estes aparentam ser diferentemente afetados pela perda de paladar prolongada pela COVID-19, levando os autores a hipotetizaram que as células que compõe as papilas gustativas do tipo II, responsáveis pela transdução química indireta dos sabores doce e amargo, por meio de proteína G, são possivelmente mais afetadas que as estruturas que são captadas por meio iônico, tal qual o salgado e ácido. (43). Tal característica de alteração não é unanimidade na literatura, onde existem relatos de maiores alterações de percepção em outros gostos mais afetados do que amargo e doce. (110) Adicionalmente, devemos considerar outros fatores plausíveis de alteração dos fatores analisados, como as diferenças genéticas das diferentes populações globais e sua resposta frente aos desenvolvimento de diferentes sintomas relacionados à infecção por COVID-19, e subtipos e variantes do SarS-CoV-2, que potencialmente podem desenvolver diferentes sintomas na população infectada. (111)

Outro fator limitante a interpretação dos resultados é a existência de diferentes variantes disseminadas ao longo do percurso da pandemia, bem como fatores externos como taxa de vacinação e taxa de transmissão. (112) Este estudo

possui uma amostragem ampla de diferentes variantes, dado explícito pelo tempo médio de infecção dos pacientes 13.25 meses, e pelo período de captação de participantes realizado desde Setembro de 2021, totalizando mais de um ano até o presente momento. Não existem diferenças auto reportadas, quantitativas ou qualitativas analisadas em nosso estudo que, aparentemente, relacionem diferentes sintomas relativos a alteração de paladar prolongada as diferentes variantes. Tal dado é de extrema dificuldade de obtenção e comparação, visto os graus de subnotificação de diagnóstico e presença de pacientes assintomáticos, bem como o limitado diagnóstico de variantes na população em geral, sendo geralmente associados ao período da infecção. (113,114)

Os resultados obtidos demonstram uma melhora na condição de percepção de sabores de modo geral, porém com taxas não estatisticamente diferentes entre grupos de tratamento, e com variações de acordo com a análise quantitativa e/ou qualitativa, visto que notoriamente este estudo possui a limitação de poder estatístico para análises mais profundas, restringindo seus achados a análise de tendências. A maioria dos grupos demonstram uma variação de medianas com aumento de valores comparados à própria avaliação inicial. Entretanto, o grupo Complexo B e o grupo IV foram os dois únicos a apresentarem redução entre as avaliações iniciais e finais. Ao analisar as características dos grupos, os mesmo já demonstrava um alto grau de percepção ao teste quantitativo, tendência que fica clara nos gráficos de mediana de resposta aos testes quantitativos. Outro grupo que apresentou redução de um ponto na mediana, foi o grupo de associação dos comprimentos de onda 660 e 808 nm, mais especificamente o sabor ácido. Tais resultados podem ser explicados pela variação de percepção natural ou até mesmo falha metodológica pontual. Essa variação percebida entre diferentes tempos de avaliação também levanta pontos a respeito da condição da perda de paladar prolongada pela COVID-19, visto que a variabilidade de sintomas entre os participantes é relativamente alta, com alguns participantes exibindo baixos limiares de percepção a substâncias, e em outros, a percepção está muito próxima do que se espera em pessoas normais.

Dentre poucos estudos passíveis de comparação na literatura, podemos mencionar uma série de relatos de caso, onde é demonstrada recuperação quase total dos sentidos de gustação e olfação, em todos participantes irradiados e avaliados, onde os parâmetros de irradiações utilizados foram: 660 nm, 2J, 100 mW,

por ponto em dorso de língua, e outro estudo do mesmo grupo realizou aplicações intranasais de 660 nm, 18 J, 100 mW em cada narina. (90,91) O protocolo de irradiação utilizado em nosso estudo demonstrou uma tendência de melhora olfativa auto reportada em diferentes grupos, mesmo sem a irradiação direta do mesmo. Tais resultados podem ser especulados como um efeito sistêmico da TFBM, ou até mesmo como sucesso objetivado ao se realizar uma irradiação sistêmica sublingual (grupo IITMS), apesar da falta de confirmação de diferença estatística. Existem relatos de efeitos sistêmicos da irradiação com baixas potências, entretanto seu mecanismo preciso de ação ainda é desconhecido. (93)

Adicionalmente, o uso do complexo B para tratamento de alteração olfativa obteve a menor das medianas observadas ao final do estudo, demonstrando uma discreta melhora, não sendo comparáveis os resultados obtidos por outros estudos (115)

Diferentes comprimentos de onda possuem diferentes características físicas e interação fotobiomoduladora, tendo como variável também o tipo de tecido irradiado. (116) Neste estudo, ao considerar somente os grupos de irradiação laser em regime de baixa potência, podemos considerar duas técnicas distintas, uma com irradiação de dorso e lateral de língua e um grupo com uma técnica modificada de irradiação de ventre lingual, com maior dosagem. Esta última (IITMS) visava irradiação do sangue via transmucosa, por meio da região altamente capilarizada sublingual. Os dados apresentados demonstram que todas as técnicas apresentam diferenças entre os padrões iniciais, porém a técnica sublingual com maior dosagem apresentou resultados similares ou superiores aos outros grupos. Tal técnica pode atuar por via indireta, modulando via sistêmica os processos inflamatórios que perpetuam ou desencadeiam a alteração de paladar prolongada pela COVID, ou pela via direta pela irradiação do ventre de língua e suas estruturas afetadas, efetuando reparo necessário para a retomada da função fisiológica. Se faz necessário um maior esclarecimento por meio de novos estudos a respeito de tal mecanismo de atuação, indicações clínicas, pontos de irradiação, dosimetria e padronização de uso da técnica de irradiação do sangue sublingual, visto a limitada presença de trabalhos desenvolvidos.

Ao se discutir os grupos de irradiação em dorso e bordo de língua, a discussão de dosimetria também deve ser considerada. Tratamentos de outras condições, onde desejamos o reparo de danos específicos, não possuem padrões

pré-estabelecidos, tendo relatos de uso que variam entre 0,24 J por ponto a 2 J em estudos em modelo animal. Dada a ausência de explicação do processo fisiopatológico da alteração de paladar prolongada pela COVID, os autores optaram por realizar grupos com dosagens intermediárias de diferentes comprimentos de onda, totalizando 1 J por ponto de cada comprimento de onda individual, bem como associando 0,5 J de 660 nm e 808 nm. (117)

A presença de distorções gustativas foi observada, na sua grande maioria, em substância amarga. Retomando o conceito de possível acometimento maior do processo de percepção das estruturas responsáveis pela captação e transdução do gosto amargo, é possível supor que tal desfecho se dê em função da possível maior alteração de funcionamento das estruturas responsáveis por esse sabor. (118,119)

Apesar dessas tendências demonstradas, não podemos afirmar categoricamente que determinados desfechos são mais prevalentes em toda população de infectados, observando sempre com cuidado a natureza da amostra, de uma determinada região e grupo étnico limitado, não podendo extrapolar tais achados para todas as outras populações. O que podemos observar, ainda que sem relevância estatística, é a existência de tendência de redução percentual de disgeusia em pacientes em tratamento, considerando todos os sabores acometidos. Cabe a menção de que pacientes com hipogeusia, ao longo do tratamento, ao retomarem a percepção dos diferentes sabores, estes podem retornar e serem convertidos de hipogeusia a disgeusia, fato ocorrido em alguns casos desse estudo.

O limitação de embasamento científico sobre as alterações de gustação e olfativas prolongadas causadas pela COVID-19 também soma-se a um quadro maior, onde eles são uns dos mais expressos, também conhecido como sintomas relacionados a “COVID Longa”. Tal termo foi cunhado e engloba diferentes perspectivas de expressão de sintomas nos mais diferentes sistemas do organismo, como circulatório, renal, digestivo, dentre outros. (73,120) A percepção de paladar alterada entra como um dos sintomas expressos por tais pacientes, sendo ela um dos sintomas mais prevalentes. Nosso estudo analisou a presença de sintomas acessórios à perda de paladar, e 75% dos participantes acometidos por perda de paladar prolongada, expressa também um ou mais sintomas relacionados a tal condição.

A principal motivação de desenvolvimento de tais protocolos de tratamento se deu devido a escassa disponibilidade de opções de tratamento a pacientes com

esse desfecho, sendo relatadas na literatura principalmente o uso de corticoideterapia tópica intranasal, treinamento olfativo, uso de complexos vitamínicos e uso de outras substâncias. (121) Tais estudos ainda apresentam pouca evidência de utilidade para grandes populações, e ao se considerar as possibilidades de uso da TFBM, com sessões bi semanais, de 15 minutos, apresentando resultados similares ou superiores aos descritos, permite o desenvolvimento de um campo de estudo promissor.

Vários estudos realizados no início da pandemia descreviam a alteração de paladar prolongada com diferentes metodologias, como uma situação reversível e de curto prazo (até 62 dias) (48,50,74). No delineamento de nosso estudo, consideramos esse valor de 60 dias como critério de inclusão, visto à época (Junho de 2021), que tal valor era um preditor de perda prolongada de paladar. Com a progressão temporal da pandemia, relatos de perda de paladar prolongadas começaram a ser reportados, e tal sintoma caracterizava-se por uma diminuição na capacidade gustativa e/ou distorção gustativa prolongadas, sem melhoras significativas por longos períodos. (13,122,123) Esse dado é de suma importância para validar os dados obtidos em nossa pesquisa, visto que sim, existe a possibilidade de remissão espontânea dos sintomas, apesar da falta de literatura embasando o processo natural de retomada de paladar após a alteração prolongada desencadeada pela COVID-19. Considerando outras limitações desse estudo, vale ressaltar o período demandado para tratamento, sendo esse um dos motivos da alta taxa de *drop-out* (22,92%), considerando 2 sessões semanais durante 1 mês.

O teste de avaliação utilizado vai de encontro ao proposto por diferentes estudos na literatura, apesar de possuir uma metodologia adaptada de Kale et al 2019 (103), a grande maioria dos estudos que avaliam o desfechos quantitativos e foram avaliados em meta-análise possuem similar método de avaliação ao realizado. (108) O mesmo possui a limitação de somente considerar o limiar altíssimo de percepção, expondo participantes a gostos hiperconcentrados, e não sendo possível a avaliação mais detalhada e minuciosa das diferentes alterações de paladar, em especial no seu limiar de detectar substâncias variadas. Apesar disso, a simplificação da metodologia, permite uma facilidade maior de descrição de dados, bem como o cruzamento com variáveis auto reportadas de melhora, permite a visualização adequada de parâmetros de melhora dentro da rotina dos participantes.

Outra limitação evidente do estudo conduzido é o limitado número amostral, alta quantidade de grupos e teste estatístico não paramétrico realizado, onde não foi possível visualizar com dados estatisticamente significativos, qual tratamento é o mais eficaz para reduzir os sintomas causados pela perda de paladar prolongada pela COVID-19. Adicionalmente, a ausência de grupo controle também é um fator limitante.

Este estudo demonstrou uma melhora na condição de percepção de paladar, dos diferentes grupos quando comparados a sua condição inicial, sendo um dos ensaios clínicos randomizados triplo cego pioneiros no uso de Fotobiomodulação e Complexo B para o tratamento da alteração de paladar prolongada desenvolvida após a infecção por COVID-19. Considerando o conhecimento dos autores, esse é o primeiro estudo clínico randomizado a comparar diferentes comprimentos de onda e diferentes técnicas (direta ou indireta) para tratar tal condição, apresentando-se como uma nova maneira para tratar tal desfecho, reduzindo os danos e melhorando a qualidade de vida da população que foi diretamente afetada por tal doença. Este estudo foi pioneiro ao comparar um tratamento com complexo vitamínico B para tratamento da perda de paladar prolongada pela COVID-19, já previamente descrito na literatura para perda de paladar por outros motivos, aos demais grupos de intervenção com Terapia de Fotobiomodulação.

7 CONCLUSÕES

A Terapia de Fotobiomodulação, Irradiação Intravascular Transmucosa Sublingual e o uso de Complexo Vitamínico do grupo B possuem potencial utilidade no tratamento da alteração de paladar prolongada desencadeada pela infecção por COVID-19. A percepção de diferentes sabores aparenta ser diferentemente acometida pela alteração de paladar por COVID-19, sendo o sabor salgado menos acometido que os demais. O presente estudo verificou a existência de pessoas com desenvolvimento de alteração de paladar pela COVID-19 de até 31 meses, com uma maior prevalência de mulheres (68.80%) com idade média de 41,5 anos de idade.

Em nenhum caso (n=37), houve remissão completa dos sintomas com 8 sessões de Fotobiomodulação com as dosagens e comprimentos de onda propostos, ou uso de Complexo B por 30 dias.

REFERÊNCIAS¹

1. Organização Mundial de Saúde. Coronavirus Disease (COVID-19) Situation Report - 127 [Internet]. [citado 14 de novembro de 2022]. Disponível em: https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/situation-reports/20200526-covid-19-sitrep-127.pdf?sfvrsn=7b6655ab_8
2. Hoffmann M, Kleine-Weber H, Schroeder S, Krüger N, Herrler T, Erichsen S, et al. SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. *Cell*. 2020;181(2):271-280.e8.
3. Parma V, Ohla K, Veldhuizen MG, Niv MY, Kelly CE, Bakke AJ, et al. More Than Smell-COVID-19 Is Associated With Severe Impairment of Smell, Taste, and Chemesthesis. *Chem Senses*. 2020;45(7):609–22.
4. Lechien JR, Chiesa-Estomba CM, De Siati DR, Horoi M, Le Bon SD, Rodriguez A, et al. Olfactory and gustatory dysfunctions as a clinical presentation of mild-to-moderate forms of the coronavirus disease (COVID-19): a multicenter European study. *Eur Arch Oto-Rhino-Laryngol Off J Eur Fed Oto-Rhino-Laryngol Soc EUFOS Affil Ger Soc Oto-Rhino-Laryngol - Head Neck Surg*. 2020;277(8):2251–61.
5. ENTUK. Loss of sense of smell as marker of COVID-19 infection [Internet]. [citado 27 de maio de 2022]. Disponível em: https://www.entuk.org/news_and_events/news/57/loss_of_sense_of_smell_as_marker_of_covid19_infection/
6. CDC. Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) – Symptoms [Internet]. Centers for Disease Control and Prevention. 2022 [citado 27 de maio de 2022]. Disponível em: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/symptoms-testing/symptoms.html>
7. Malaty J, Malaty IAC. Smell and taste disorders in primary care. *Am Fam Physician*. 2013;88(12):852–9.
8. Giacomelli A, Pezzati L, Conti F, Bernacchia D, Siano M, Oreni L, et al. Self-reported Olfactory and Taste Disorders in Patients With Severe Acute Respiratory Coronavirus 2 Infection: A Cross-sectional Study. *Clin Infect Dis*. 2020;71(15):889–90.
9. Sakaguchi W, Kubota N, Shimizu T, Saruta J, Fuchida S, Kawata A, et al. Existence of SARS-CoV-2 Entry Molecules in the Oral Cavity. *Int J Mol Sci*. 2020;21(17):6000.

¹De acordo com a norma Vancouver

10. Baig AM, Khaleeq A, Ali U, Syeda H. Evidence of the COVID-19 Virus Targeting the CNS: Tissue Distribution, Host–Virus Interaction, and Proposed Neurotropic Mechanisms. *ACS Chem Neurosci*. 2020;11(7):995–8.
11. Scotto G, Fazio V, Lo Muzio E, Lo Muzio L, Spirito F. SARS-CoV-2 Infection and Taste Alteration: An Overview. *Life*. 2022;12(5):690.
12. Ministério da Saúde. Dados COVID-19 Brasil [Internet]. Disponível em: <https://covid.saude.gov.br/>
13. Tan BKJ, Han R, Zhao JJ, Tan NKW, Quah ESH, Tan CJW, et al. Prognosis and persistence of smell and taste dysfunction in patients with covid-19: meta-analysis with parametric cure modelling of recovery curves. *BMJ*. 2022;378:e069503.
14. Ehmedah A, Nedeljkovic P, Dacic S, Repac J, Draskovic Pavlovic B, Vucevic D, et al. Vitamin B Complex Treatment Attenuates Local Inflammation after Peripheral Nerve Injury. *Molecules*. 2019;24(24):4615.
15. Hamblin MR. Mechanisms and applications of the anti-inflammatory effects of photobiomodulation. *AIMS Biophys*. 2017;4(3):337–61.
16. Courtois E, Bouleftour W, Guy JB, Louati S, Bensadoun RJ, Rodriguez-Lafrasse C, et al. Mechanisms of PhotoBioModulation (PBM) focused on oral mucositis prevention and treatment: a scoping review. *BMC Oral Health*. 2021;21:220.
17. Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet Lond Engl*. 2020;395(10223):497–506.
18. WHO | World Health Organization [Internet]. [citado 12 de setembro de 2022]. Disponível em: <https://www.who.int/>
19. Sharma S, Rathod P, Ukey U. An overview of corona virus disease 19 - COVID 19. *Int J Res Med Sci*. 2020;8(7):2730–9.
20. Weiss SR, Leibowitz JL. Coronavirus Pathogenesis. *Adv Virus Res*. 2011;81:85–164.
21. Zhong N, Zheng B, Li Y, Poon L, Xie Z, Chan K, et al. Epidemiology and cause of severe acute respiratory syndrome (SARS) in Guangdong, People's Republic of China, in February, 2003. *Lancet Lond Engl*. 2003;362(9393):1353–8.
22. Zaki AM, van Boheemen S, Bestebroer TM, Osterhaus ADME, Fouchier RAM. Isolation of a Novel Coronavirus from a Man with Pneumonia in Saudi Arabia. *N Engl J Med*. 2012;367(19):1814–20.
23. Zhu N, Zhang D, Wang W, Li X, Yang B, Song J, et al. A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019. *N Engl J Med*. 2020;382(8):727–33.

24. Zhou H, Ji J, Chen X, Bi Y, Li J, Wang Q, et al. Identification of novel bat coronaviruses sheds light on the evolutionary origins of SARS-CoV-2 and related viruses. *Cell*. 2021;184(17):4380-4391.e14.
25. Features, Evaluation, and Treatment of Coronavirus (COVID-19) - StatPearls - NCBI Bookshelf [Internet]. [citado 12 de setembro de 2022]. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK554776/>
26. Bourgonje AR, Abdulle AE, Timens W, Hillebrands JL, Navis GJ, Gordijn SJ, et al. Angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2), SARS-CoV-2 and the pathophysiology of coronavirus disease 2019 (COVID-19). *J Pathol*. 2020;251(3):228–48.
27. Jackson CB, Farzan M, Chen B, Choe H. Mechanisms of SARS-CoV-2 entry into cells. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2022;23(1):3–20.
28. Hu K, Patel J, Swiston C, Patel BC. Ophthalmic Manifestations Of Coronavirus (COVID-19) [Internet]. StatPearls [Internet]. StatPearls Publishing; 2022 [citado 12 de setembro de 2022]. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK556093/>
29. Shang J, Wan Y, Luo C, Ye G, Geng Q, Auerbach A, et al. Cell entry mechanisms of SARS-CoV-2. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2020;117(21):11727–34.
30. Voors AA, Pinto YM, Buikema H, Urata H, Oosterga M, Rooks G, et al. Dual pathway for angiotensin II formation in human internal mammary arteries. *Br J Pharmacol*. 1998;125(5):1028–32.
31. The emerging role of ACE2 in physiology and disease - PubMed [Internet]. [citado 14 de setembro de 2022]. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17464936/>
32. Kinins and Cytokines in COVID-19: A Comprehensive Pathophysiological Approach[v1] | Preprints [Internet]. [citado 14 de setembro de 2022]. Disponível em: <https://www.preprints.org/manuscript/202004.0023/v1>
33. Hashimoto T, Perlot T, Rehman A, Trichereau J, Ishiguro H, Paolino M, et al. ACE2 links amino acid malnutrition to microbial ecology and intestinal inflammation. *Nature*. 2012;487(7408):477–81.
34. Strobe JD, PharmD CHC, Figg WD. TMPRSS2: Potential Biomarker for COVID-19 Outcomes. *J Clin Pharmacol*. 2020;60(7):801–7.
35. Asselta R, Paraboschi EM, Mantovani A, Duga S. ACE2 and TMPRSS2 variants and expression as candidates to sex and country differences in COVID-19 severity in Italy. *Aging*. 2020;12(11):10087–98.

36. Zhao GQ, Zhang Y, Hoon MA, Chandrashekar J, Erlenbach I, Ryba NJP, et al. The receptors for mammalian sweet and umami taste. *Cell*. 2003;115(3):255–66.
37. Suzuki T. Cellular mechanisms in taste buds. *Bull Tokyo Dent Coll*. 2007;48(4):151–61.
38. Epstein JB, Barasch A. Taste disorders in cancer patients: Pathogenesis, and approach to assessment and management. *Oral Oncol*. 2010;46(2):77–81.
39. Branigan B, Tadi P. Physiology, Olfactory [Internet]. StatPearls [Internet]. StatPearls Publishing; 2022 [citado 16 de setembro de 2022]. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK542239/>
40. Pinching AJ, Powell TP. The neuropil of the glomeruli of the olfactory bulb. *J Cell Sci*. 1971;9(2):347–77.
41. Moteki H. Anosmia, trigeminal nerve dysfunction, and COVID-19: A personal account. *Acta Oto-Laryngol Case Rep*. 2021;6(1):88–90.
42. Otte MS, Bork ML, Zimmermann PH, Klußmann JP, Lüers JC. Patients with COVID-19-associated olfactory impairment also show impaired trigeminal function. *Auris Nasus Larynx*. 2022;49(1):147–51.
43. Gibbons JR, Sadiq NM. Neuroanatomy, Neural Taste Pathway [Internet]. StatPearls [Internet]. StatPearls Publishing; 2022 [citado 18 de setembro de 2022]. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK545236/>
44. Kaas JH. The future of mapping sensory cortex in primates: three of many remaining issues. *Philos Trans R Soc B Biol Sci*. 2005;360(1456):653–64.
45. Small DM, Bender G, Veldhuizen MG, Rudenga K, Nachtigal D, Felsted J. The role of the human orbitofrontal cortex in taste and flavor processing. *Ann N Y Acad Sci*. 2007;1121:136–51.
46. Vaira LA, Salzano G, Deiana G, De Riu G. Anosmia and Ageusia: Common Findings in COVID - 19 Patients. *The Laryngoscope*. 2020;130(7):1787–1787.
47. Ueha R, Kondo K, Kagoya R, Shichino S, Ueha S, Yamasoba T. Understanding olfactory dysfunction in COVID-19: Expression of ACE2, TMPRSS2 and Furin in the nose and olfactory bulb in human and mice [Internet]. *bioRxiv*; 2020 [citado 14 de setembro de 2022]. p. 2020.05.15.097352. Disponível em: <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2020.05.15.097352v2>
48. Soler ZM, Patel ZM, Turner JH, Holbrook EH. A primer on viral-associated olfactory loss in the era of COVID-19. *Int Forum Allergy Rhinol*. 2020;10.1002/alr.22578.
49. Hopkins C, Surda P, Vaira LA, Lechien JR, Safarian M, Saussez S, et al. Six month follow-up of self-reported loss of smell during the COVID-19 pandemic. *Rhinol J*. 2020;0(0):0–0.

50. Chiesa-Estomba CM, Lechien JR, Barillari MR, Saussez S. Patterns of Gustatory Recovery in Patients Affected by the COVID-19 Outbreak. *Virol Sin.* 3 2020;35(6):833–7.
51. Pang KW, Chee J, Subramaniam S, Ng CL. Frequency and Clinical Utility of Olfactory Dysfunction in COVID-19: a Systematic Review and Meta-analysis. *Curr Allergy Asthma Rep.* 2020;20(12):76.
52. Bilinska K, Butowt R. Anosmia in COVID-19: A Bumpy Road to Establishing a Cellular Mechanism. *ACS Chem Neurosci.* 2020;11(15):2152–5.
53. Whitcroft KL, Hummel T. Olfactory Dysfunction in COVID-19: Diagnosis and Management. *JAMA.* 2020;323(24):2512–4.
54. De Santis G. SARS-CoV-2: A new virus but a familiar inflammation brain pattern. *Brain Behav Immun.* 2020;87:95–6.
55. Netland J, Meyerholz DK, Moore S, Cassell M, Perlman S. Severe acute respiratory syndrome coronavirus infection causes neuronal death in the absence of encephalitis in mice transgenic for human ACE2. *J Virol.* 2008;82(15):7264–75.
56. Wang Z, Zhou J, Marshall B, Rekaya R, Ye K, Liu HX. SARS-CoV-2 Receptor ACE2 Is Enriched in a Subpopulation of Mouse Tongue Epithelial Cells in Nongustatory Papillae but Not in Taste Buds or Embryonic Oral Epithelium. *ACS Pharmacol Transl Sci.* 2020;3(4):749–58.
57. Dong M, Zhang J, Ma X, Tan J, Chen L, Liu S, et al. ACE2, TMPRSS2 distribution and extrapulmonary organ injury in patients with COVID-19. *Biomed Pharmacother Biomedecine Pharmacother.* 2020;131:110678.
58. Gomes FCG, Naurath C, Azevedo LH, Zezell DM. Photobiomodulation therapy to treat neuropathic oral pain after contagion by COVID-19. *Braz Dent Sci* [Internet]. 2021 [citado 27 de agosto de 2022];24(4 suppl 1). Disponível em: <https://ojs.ict.unesp.br/index.php/cob/article/view/2962>
59. Ibrahim W. Neurological manifestations in coronavirus disease 2019 (COVID-19) patients: a systematic review of literature. *CNS Spectr.* 2022;27(2):145–56.

60. Mao L, Jin H, Wang M, Hu Y, Chen S, He Q, et al. Neurologic Manifestations of Hospitalized Patients With Coronavirus Disease 2019 in Wuhan, China. *JAMA Neurol.* 2020;77(6):1–9.
61. Paterson RW, Brown RL, Benjamin L, Nortley R, Wiethoff S, Bharucha T, et al. The emerging spectrum of COVID-19 neurology: clinical, radiological and laboratory findings. *Brain J Neurol.* 2020;143(10):3104–20.
62. Okada Y, Yoshimura K, Toya S, Tsuchimochi M. Pathogenesis of taste impairment and salivary dysfunction in COVID-19 patients. *Jpn Dent Sci Rev.* 2021;57:111–22.
63. Ghannam MG, Singh P. Anatomy, Head and Neck, Salivary Glands [Internet]. StatPearls [Internet]. StatPearls Publishing; 2022 [citado 16 de setembro de 2022]. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK538325/>
64. Bordoni B, Varacallo M. Anatomy, Head and Neck, Temporomandibular Joint [Internet]. StatPearls [Internet]. StatPearls Publishing; 2021 [citado 16 de setembro de 2022]. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK538486/>
65. Salivary secretion in health and disease - Pedersen - 2018 - Journal of Oral Rehabilitation - Wiley Online Library [Internet]. [citado 16 de setembro de 2022]. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/joor.12664>
66. Xu J, Li Y, Gan F, Du Y, Yao Y. Salivary Glands: Potential Reservoirs for COVID-19 Asymptomatic Infection. *J Dent Res.* 2020;99(8):989–989.
67. Zhu F, Zhong Y, Ji H, Ge R, Guo L, Song H, et al. ACE2 and TMPRSS2 in human saliva can adsorb to the oral mucosal epithelium. *J Anat.* 2022;240(2):398–409.
68. Chen L, Zhao J, Peng J, Li X, Deng X, Geng Z, et al. Detection of SARS-CoV-2 in saliva and characterization of oral symptoms in COVID-19 patients. *Cell Prolif.* 2020;53(12):e12923.
69. Huang N, Pérez P, Kato T, Mikami Y, Okuda K, Gilmore RC, et al. SARS-CoV-2 infection of the oral cavity and saliva. *Nat Med.* 2021;27(5):892–903.
70. Rank A, Tzortzini A, Kling E, Schmid C, Claus R, Löll E, et al. One Year after Mild COVID-19: The Majority of Patients Maintain Specific Immunity, But One in Four Still Suffer from Long-Term Symptoms. *J Clin Med.* 2021;10(15):3305.
71. Ganesh R, Grach SL, Ghosh AK, Bierle DM, Salonen BR, Collins NM, et al. The Female-Predominant Persistent Immune Dysregulation of the Post-COVID Syndrome. *Mayo Clin Proc.* 2022;97(3):454–64.
72. Peluso MJ, Deitchman AN, Torres L, Iyer NS, Munter SE, Nixon CC, et al. Long-term SARS-CoV-2-specific immune and inflammatory responses in individuals recovering from COVID-19 with and without post-acute symptoms.

- Cell Rep. 2021;36(6):109518.
73. Healey Q, Sheikh A, Daines L, Vasileiou E. Symptoms and signs of long COVID: A rapid review and meta-analysis. *J Glob Health*. 2022;12:05014.
 74. Paolo G. Does COVID-19 cause permanent damage to olfactory and gustatory function? *Med Hypotheses*. 2020;143:110086.
 75. Dentistry (WFLD) WF for L. *Laser Dentistry: Current Clinical Applications*. Universal-Publishers; 2018. 562 p.
 76. FREITAS, Patricia M S Alyne. *Lasers in dentistry: guide for clinical practice*. John Wiley & Sons; 2015.
 77. Mason MG, Nicholls P, Cooper CE. Re-evaluation of the near infrared spectra of mitochondrial cytochrome c oxidase: Implications for non invasive in vivo monitoring of tissues. *Biochim Biophys Acta*. 2014;1837(11):1882–91.
 78. Lane N. Cell biology: power games. *Nature*. 2006;443(7114):901–3.
 79. Pannala VR, Camara AKS, Dash RK. Modeling the detailed kinetics of mitochondrial cytochrome c oxidase: Catalytic mechanism and nitric oxide inhibition. *J Appl Physiol Bethesda Md* 1985. 2016;121(5):1196–207.
 80. Fernandes AM, Fero K, Driever W, Burgess HA. Enlightening the brain: linking deep brain photoreception with behavior and physiology. *BioEssays News Rev Mol Cell Dev Biol*. 2013;35(9):775–9.
 81. Poletini MO, Moraes MN, Ramos BC, Jerônimo R, Castrucci AM de L. TRP channels: a missing bond in the entrainment mechanism of peripheral clocks throughout evolution. *Temp Austin Tex*. 2015;2(4):522–34.
 82. Caterina MJ, Pang Z. *TRP Channels in Skin Biology and Pathophysiology*. Pharm Basel Switz. 2016;9(4):E77.
 83. The history of TRP channels, a commentary and reflection - PubMed [Internet]. [citado 26 de setembro de 2022]. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21287198/>
 84. Huang YY, Sharma SK, Carroll J, Hamblin MR. Biphasic dose response in low level light therapy - an update. *Dose-Response Publ Int Hormesis Soc*. 2011;9(4):602–18.

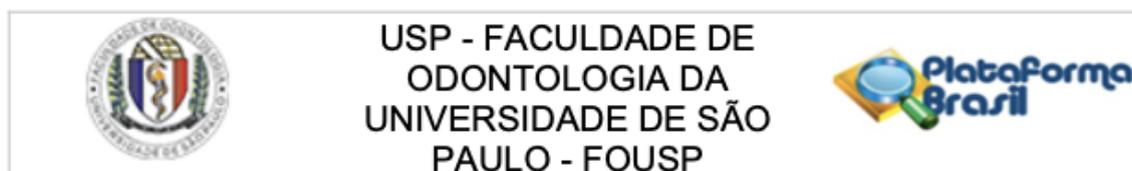
85. Chen ACH, Huang YY, Arany PR, Hamblin MR. Role of reactive oxygen species in low level light therapy. SPIE [Internet]. 2009 [citado 26 de setembro de 2022]; Disponível em: <https://dspace.mit.edu/handle/1721.1/52743>
86. Chen ACH, Arany PR, Huang YY, Tomkinson EM, Sharma SK, Kharkwal GB, et al. Low-level laser therapy activates NF- κ B via generation of reactive oxygen species in mouse embryonic fibroblasts. *PLoS One*. 2011;6(7):e22453.
87. Robijns J, Nair RG, Lodewijckx J, Arany P, Barasch A, Bjordal JM, et al. Photobiomodulation therapy in management of cancer therapy-induced side effects: WALT position paper 2022. *Front Oncol*. 2022;12:927685.
88. Williams RK, Raimondo J, Cahn D, Williams A, Schell D. Whole-organ transdermal photobiomodulation (PBM) of COVID-19: A 50-patient case study. *J Biophotonics*. 2022;15(2):e202100194.
89. Nejatifard M, Asefi S, Jamali R, Hamblin MR, Fekrazad R. Probable positive effects of the photobiomodulation as an adjunctive treatment in COVID-19: A systematic review. *Cytokine*. 2021;137:155312.
90. Campos L, Soares LES, Berlingieri G, Ramires MCCH, Guirado MMG, Lyra LA de OP, et al. A Brazilian multicenter pilot case series on the efficacy of photobiomodulation therapy for COVID-19-related taste dysfunction. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2022;37:102643.
91. Soares LES, Guirado MMG, Berlingieri G, Ramires MCCH, Lyra LA de OP, Teixeira IS, et al. Intranasal photobiomodulation therapy for COVID-19-related olfactory dysfunction: A Brazilian multicenter case series. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2021;36:102574.
92. Mikhaylov V. The use of Intravenous Laser Blood Irradiation (ILBI) at 630–640 nm to prevent vascular diseases and to increase life expectancy. *Laser Ther*. 2015;24(1):15–26.
93. Tomé RFF, Silva DFB, dos Santos CAO, de Vasconcelos Neves G, Rolim AKA, de Castro Gomes DQ. ILIB (intravascular laser irradiation of blood) as an adjuvant therapy in the treatment of patients with chronic systemic diseases—an integrative literature review. *Lasers Med Sci*. 2020;35(9):1899–907.
94. Szymczyszyn A, Doroszko A, Szahidewicz-Krupska E, Rola P, Gutherc R, Jasiczek J, et al. Effect of the transdermal low-level laser therapy on endothelial function. *Lasers Med Sci*. 2016;31(7):1301–7.
95. Lum H, Roebuck KA. Oxidant stress and endothelial cell dysfunction. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2001;280(4):C719-741.
96. Helium-neon laser irradiation stimulates cell proliferation through photostimulatory effects in mitochondria - PubMed [Internet]. [citado 20 de setembro de 2022]. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17446900/>

97. Passarella S. He-Ne laser irradiation of isolated mitochondria. *J Photochem Photobiol B*. 1989;3(4):642–3.
98. Ehmedah A, Nedeljkovic P, Dacic S, Repac J, Draskovic-Pavlovic B, Vučević D, et al. Effect of Vitamin B Complex Treatment on Macrophages to Schwann Cells Association during Neuroinflammation after Peripheral Nerve Injury. *Molecules*. 2020;25(22):5426.
99. Kennedy DO. B Vitamins and the Brain: Mechanisms, Dose and Efficacy--A Review. *Nutrients*. 2016;8(2):68.
100. Hoane MR, Wolyniak JG, Akstulewicz SL. Administration of riboflavin improves behavioral outcome and reduces edema formation and glial fibrillary acidic protein expression after traumatic brain injury. *J Neurotrauma*. 2005;22(10):1112–22.
101. Kuypers NJ, Hoane MR. Pyridoxine administration improves behavioral and anatomical outcome after unilateral contusion injury in the rat. *J Neurotrauma*. 2010;27(7):1275–82.
102. Maiese K, Chong ZZ, Hou J, Shang YC. The vitamin nicotinamide: translating nutrition into clinical care. *Mol Basel Switz*. 2009;14(9):3446–85.
103. Kale Y, Vibhute N, Belgaumi U, Kadashetti V, Bommanavar S, Kamate W. Effect of using tobacco on taste perception. *J Fam Med Prim Care*. 2019;8(8):2699.
104. Fernández-de-Las-Peñas C, Martín-Guerrero JD, Pellicer-Valero ÓJ, Navarro-Pardo E, Gómez-Mayordomo V, Cuadrado ML, et al. Female Sex Is a Risk Factor Associated with Long-Term Post-COVID Related-Symptoms but Not with COVID-19 Symptoms: The LONG-COVID-EXP-CM Multicenter Study. *J Clin Med*. 2022;11(2):413.
105. Characterising long COVID: a living systematic review | *BMJ Global Health* [Internet]. [citado 15 de novembro de 2022]. Disponível em: <https://gh.bmj.com/content/6/9/e005427>
106. Zuo Y, Estes SK, Ali RA, Gandhi AA, Yalavarthi S, Shi H, et al. Prothrombotic autoantibodies in serum from patients hospitalized with COVID-19. *Sci Transl Med*. 2020;12(570):eabd3876.
107. Liu B, Han J, Cheng X, Yu L, Zhang L, Wang W, et al. Reduced numbers of T cells and B cells correlates with persistent SARS-CoV-2 presence in non-severe COVID-19 patients. *Sci Rep*. 2020;10(1):17718.
108. Hannum ME, Koch RJ, Ramirez VA, Marks SS, Toskala AK, Herriman RD, et al. Taste loss as a distinct symptom of COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *Chem Senses*. 2022;47:bjac001.

109. Zang Y, Han P, Burghardt S, Knaapila A, Schriever V, Hummel T. Influence of olfactory dysfunction on the perception of food. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 2019;276(10):2811–7.
110. Catton G, Gardner A. COVID-19 Induced Taste Dysfunction and Recovery: Association with Smell Dysfunction and Oral Health Behaviour. *Med Kaunas Lith.* 2022;58(6):715.
111. Secolin R, de Araujo TK, Gonsales MC, Rocha CS, Naslavsky M, Marco LD, et al. Genetic variability in COVID-19-related genes in the Brazilian population. *Hum Genome Var.* 2021;8(1):1–9.
112. Silva JP, de Lima AB, Alvim LB, Malta FSV, Mendonça CPTB, Fonseca PLC, et al. Delta Variant of SARS-CoV-2 Replacement in Brazil: A National Epidemiologic Surveillance Program. *Viruses.* 2022;14(5):847.
113. Blom K, Havervall S, Marking U, Norin NG, Bacchus P, Groenheit R, et al. Infection Rate of SARS-CoV-2 in Asymptomatic Healthcare Workers, Sweden, June 2022. *Emerg Infect Dis.* 2022;28(10):2119–21.
114. COVID-19 Cumulative Infection Collaborators. Estimating global, regional, and national daily and cumulative infections with SARS-CoV-2 through Nov 14, 2021: a statistical analysis. *Lancet Lond Engl.* 2022;399(10344):2351–80.
115. Pissurno NSCA, Lichs GG de C, dos Santos E JL, Druzian AF, de Oliveira SM do VL, Paniago AMM. Anosmia in the course of COVID-19. *Medicine (Baltimore).* 2020;99(31):e21280.
116. Gonçalves SE de P, Azevedo LH, Ribeiro MS, Eduardo C de P. Laser Panorama in Dentistry in the international year of light. *Braz Dent Sci.* 2015;18(4):1–4.
117. Cotomacio CC, Calarga CC, Yshikawa BK, Arana-Chavez VE, Simões A. Wound healing process with different photobiomodulation therapy protocols to treat 5-FU-induced oral mucositis in hamsters. *Arch Oral Biol.* 2021;131:105250.
118. Kumarhia D, He L, McCluskey LP. Inflammatory stimuli acutely modulate peripheral taste function. *J Neurophysiol.* 2016;115(6):2964–75.
119. Lozada-Nur F, Chainani-Wu N, Fortuna G, Sroussi H. Dysgeusia in COVID-19: Possible Mechanisms and Implications. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 2020;130(3):344–6.
120. Srinivasan M. Taste Dysfunction and Long COVID-19. *Front Cell Infect Microbiol.* 2021;11:716563.
121. Khani E, Khiali S, Beheshtirouy S, Entezari-Maleki T. Potential pharmacologic treatments for COVID-19 smell and taste loss: A comprehensive review. *Eur J Pharmacol.* 2021;912:174582.

122. Subramanian A, Nirantharakumar K, Hughes S, Myles P, Williams T, Gokhale KM, et al. Symptoms and risk factors for long COVID in non-hospitalized adults. *Nat Med.* 2022;28(8):1706–14.
123. Vehar S, Boushra M, Ntiamoah P, Biehl M. Post-acute sequelae of SARS-CoV-2 infection: Caring for the 'long-haulers'. *Cleve Clin J Med.* 2021;8

ANEXO A - Aprovação do Comitê de Ética



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: Uso da fotobiomodulação e complexo vitamínico B em pacientes com alteração de paladar decorrente da infecção por COVID 19. Estudo in vivo, randomizado e duplo-cego

Pesquisador: PEDRO CARDOSO SOARES

Área Temática:

Versão: 4

CAAE: 46075021.2.0000.0075

Instituição Proponente: Universidade de São Paulo - Faculdade de Odontologia

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 5.403.892

Apresentação do Projeto:

As informações aqui apresentadas foram retiradas dos seguintes documentos:

"PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1733527.pdf" e "Projeto.pdf" anexados em 05/08/2021 e 15/06/2021, respectivamente. "Este estudo consistirá em um ensaio clínico randomizado, duplo-cego, controlado em paralelo. A amostra será composta por participantes adultos com idades mínima de 18, de ambos os sexos e independentemente de etnia ou classe social, com comprovação de exame PCR ou sorológico IGG IGM, os quais ainda referem ageusia ou disgeusia concomitante ao período de infecção por COVID 19. A todos os candidatos será solicitada a assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido. Serão excluídos participantes com disgeusia ou ageusia não relacionada com o diagnóstico de COVID 19, pacientes que não possuírem exame PCR ou hematológico que comprove a infecção por COVID, pacientes com menos de 18 anos bem como pacientes gestantes. Caso paciente relate hipersensibilidade a qualquer componente da fórmula do Citoneurim® junto ao termo de consentimento livre e esclarecido, o paciente será automaticamente randomizado aos grupos teste Laser (grupos 2,3,4,5) ou Placebo (grupo 0). Os grupos de randomização adotados serão: grupo 0: TFBM em regime de placebo grupo 1: terapia medicamentosa - Citoneurim® 5.000 mcg + 100 mg + 100 mg (3 comprimidos ao dia);

Endereço: Av Prof Lineu Prestes 2227 - 1º andar , sala 02 da administração
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 05.508-900
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)3091-7960 **Fax:** (11)3091-7960 **E-mail:** cepfo@usp.br



USP - FACULDADE DE
ODONTOLOGIA DA
UNIVERSIDADE DE SÃO
PAULO - FOU SP



Continuação do Parecer: 5.403.892

grupo 2: TFBM com laser vermelho (1J) grupo 3: TFBM com infravermelho (1J); grupo 4: TFBM usando os dois comprimentos de onda juntos – vermelho(0,5J) e infravermelho (0,5J); grupo 5: ILIB posicionando o laser v por 90 segundos em cada ponto, totalizando 6 pontos por aplicação; com n=30 para cada grupo. O desfecho primário será a recuperação sensorial por meio de limiares de sensibilidade aos diferentes sabores aferida em tempos pré-determinados. As avaliações do grupo 1, submetido a tratamento medicamentoso, serão realizadas: na primeira sessão clínica (pré-intervenção terapêutica), e após 30 dias do uso de medicação e após 60 dias. Os Grupos 2, 3, 4 e 5 submetidos a TFBM, e ILIB, serão avaliados: na primeira sessão clínica (pré-intervenção com TFBM), após 8 sessões de tratamento (30 dias da primeira avaliação) e após 16 sessões de tratamento (60 dias da primeira avaliação). Grupo 0 - placebo será avaliado na primeira sessão clínica, após 8 sessões (30 dias) e 16 sessões (60 dias)". A presente emenda (PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_1938657_E1.pdf), submetida em 24/04/2022 não compreende alterações nos objetivos e metodologias do protocolo, apenas sendo solicitado alterações no cronograma conforme abaixo detalhado.

Objetivo da Pesquisa:

As informações aqui apresentadas foram retiradas dos seguintes documentos: "PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1733527.pdf" e "Projeto.pdf" anexados em 05/08/2021 e 15/06/2021, respectivamente. "Avaliar clinicamente o sucesso da fotobiomodulação em seus diferentes regimes de dosagem e comprimento de onda, bem como a atuação de um complexo vitamínico B para reduzir a disgeusia ou ageusia decorrente da infecção por COVID 19, em pacientes com período prolongado de sintomatologia."

A presente emenda, de 24.04.2022 não prevê alterações relacionadas a esse item.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

As informações aqui apresentadas foram retiradas dos seguintes documentos: "PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1733527.pdf" e "TCLE.pdf" anexados em 05 de agosto de 2021. "Riscos: Tanto a Terapia de fotobiomodulação, ILIB quanto o uso do complexo vitamínico não surtirem efeito sobre a disgeusia/ageusia relacionada ao COVID19. Existem riscos inerentes ao uso do Laser relacionados a sensações desagradáveis e lesões por excesso de dosagem, causando lesões de queimadura leve na pele do participante. O risco de efeitos adversos no grupo no complexo vitamínico também existe, principalmente hipersensibilidade desconhecida a algum

Endereço: Av Prof Lineu Prestes 2227 - 1º andar , sala 02 da administração
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 05.508-900
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)3091-7960 **Fax:** (11)3091-7960 **E-mail:** cepfo@usp.br



USP - FACULDADE DE
ODONTOLOGIA DA
UNIVERSIDADE DE SÃO
PAULO - FOUSP



Continuação do Parecer: 5.403.892

componente da fórmula.

Benefícios: A possível descoberta de uma terapia eficaz na redução de um dos sintomas mais prolongados da COVID 19, gerando um aumento na qualidade de vida de toda população que sofre com a persistência da disgeusia e ageusia."

A presente emenda, de 24.04.2022 não prevê alterações relacionadas a esses itens.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Este estudo será em um ensaio clínico randomizado, duplo-cego, controlado em paralelo, realizado com 6 grupos e 180 pacientes (n=30 pacientes/grupo) com alteração de paladar prolongada, em decorrência de COVID. Será usado um grupo placebo, um grupo que receberá uma intervenção medicamentosa a base de vitamina B12 e outros quatro grupos que receberão terapias com laser, em diferentes formas. Será avaliada a recuperação sensorial aos diferentes sabores, como desfecho primário, imediatamente, 30 e 60 dias após as intervenções. O estudo será realizado em blocos de 60 pacientes, e mediante análises interinas, o delineamento revisto após essa primeira fase, podendo eliminar grupos ou placebo caso haja alguma(s) terapia(s) mais eficaz(es). A presente emenda, submetida em 24.04.2022, não prevê alterações na proposição ou metodologia do estudo, apenas solicitando alteração no cronograma. Assim, a inclusão dos participantes que se iniciaria em setembro de 2021 e encerraria em junho de 2022 está sendo alterada para o período de abril de 2022 a dezembro de 2022, estando as etapas de análise e divulgação previstas para serem finalizadas em abril de 2023.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Ver lista de pendências e inadequações.

Recomendações:

Ver lista de pendências e inadequações.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

A emenda apresentada não apresenta óbices éticos.

Considerações Finais a critério do CEP:

Diante do exposto, o CEP_FOUSP, de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS nº 466 de 2012 e na Norma Operacional nº 001 de 2013 do CNS, manifesta-se pela aprovação do protocolo de pesquisa.

Endereço: Av Prof Lineu Prestes 2227 - 1º andar , sala 02 da administração
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 05.508-900
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)3091-7960 **Fax:** (11)3091-7960 **E-mail:** cepfo@usp.br



USP - FACULDADE DE
ODONTOLOGIA DA
UNIVERSIDADE DE SÃO
PAULO - FOUSP



Continuação do Parecer: 5.403.892

Qualquer alteração no projeto original deve ser apresentada "EMENDA", por meio da Plataforma Brasil, de forma objetiva e com justificativas para nova apreciação (Norma Operacional 001/2013 – letra H).

Ressalta-se que cabe ao pesquisador responsável encaminhar os relatórios parciais e final da pesquisa, por meio da Plataforma Brasil, via notificação do tipo "relatório" para que sejam devidamente apreciados no CEP, conforme Norma Operacional CNS nº 001/13, item XI.2.d..

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_193865_7_E1.pdf	28/04/2022 11:10:58		Aceito
Cronograma	cronograma.pdf	28/04/2022 11:08:34	PEDRO CARDOSO SOARES	Aceito
Solicitação registrada pelo CEP	carta.pdf	05/08/2021 11:29:31	PEDRO CARDOSO SOARES	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Termo.pdf	05/08/2021 11:25:38	PEDRO CARDOSO SOARES	Aceito
Folha de Rosto	ficha.pdf	19/06/2021 12:04:16	PEDRO CARDOSO SOARES	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto.pdf	15/06/2021 21:50:05	PEDRO CARDOSO SOARES	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	autorizacao.pdf	09/04/2021 20:06:22	PEDRO CARDOSO SOARES	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: Av Prof Lineu Prestes 2227 - 1º andar , sala 02 da administração
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 05.508-900
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)3091-7960 **Fax:** (11)3091-7960 **E-mail:** cepfo@usp.br



USP - FACULDADE DE
ODONTOLOGIA DA
UNIVERSIDADE DE SÃO
PAULO - FOUSP



Continuação do Parecer: 5.403.892

SAO PAULO, 12 de Maio de 2022

Assinado por:
Alyne Simões Gonçalves
(Coordenador(a))

Endereço: Av Prof Lineu Prestes 2227 - 1º andar , sala 02 da administração
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 05.508-900
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)3091-7960 **Fax:** (11)3091-7960 **E-mail:** cepfo@usp.br

