

***A DISFUNÇÃO OLFACTIVA NA FORMA
PRIMÁRIA PROGRESSIVA DA ESCLEROSE
MÚLTIPLA – ESTUDO PRELIMINAR***

- ARTIGO CIENTÍFICO -

Fátima Nélia Mendes de Abreu

Aluna do 6º ano do Mestrado Integrado em Medicina

Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra

Email: neliamabreu@gmail.com

Orientadora: **Dra. Lúvia Maria de Abreu Freire Diogo de Sousa**

Coorientador: **Dr. João Carlos Gomes Silva Ribeiro**

Área científica de Neurologia

Serviço de Neurologia do Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra

Morada: Praceta Prof. Mota Pinto, 3000-075 Coimbra, Portugal

Coimbra, Fevereiro de 2016

ÍNDICE

LISTA DE ABREVIATURAS	3
RESUMO	4
INTRODUÇÃO	8
MATERIAIS E MÉTODOS	11
População de estudo	11
Avaliação neurológica.....	12
Avaliação da função olfactiva	12
Análise estatística	13
RESULTADOS	15
Caracterização geral da população	15
Avaliação da acuidade olfactiva.....	17
Correlação dos parâmetros da função olfactiva com as características clínicas.....	20
DISCUSSÃO.....	21
CONCLUSÃO	24
AGRADECIMENTOS.....	25
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	26
ANEXO 1.....	28
ANEXO 2.....	29

LISTA DE ABREVIATURAS

CCCRC	<i>Connecticut Chemosensory Clinical Research Center</i>
CHUC	Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra
EDSS	<i>Expanded Disability Status Scale</i>
EM	Esclerose múltipla
EMPP	Esclerose múltipla primária progressiva
EMSR	Esclerose múltipla surto remissão
EMSP	Esclerose múltipla secundária progressiva
OMS	Organização Mundial de Saúde
SNC	Sistema nervoso central

RESUMO

Introdução e objectivos: A Esclerose múltipla (EM) é uma doença inflamatória crónica do sistema nervoso central caracterizada por um processo desmielinizante e variados graus de neurodegenerescência. A disfunção olfactiva tem sido reconhecida como um relevante marcador clínico precoce de várias doenças neurodegenerativas e documentada em alguns estudos na EM. O objectivo deste trabalho consistiu na avaliação da função olfactiva particularmente na forma de Esclerose múltipla primária progressiva (EMPP), visto tratar-se de um subtipo clínico menos frequente e menos abordado em outros estudos.

Materiais e métodos: Estudo prospectivo caso - controlo composto por 35 doentes com diagnóstico de EM, emparelhados com 35 controlos saudáveis de acordo com a idade, género e hábitos tabágicos. A avaliação da acuidade olfactiva teve como base a aplicação do protocolo de *Connecticut Chemosensory Clinical Research Center teste* (CCCRC teste), que compreende um componente liminar e um componente de identificação de odores.

Resultados: O grupo de doentes com EM demonstrou valores de limiar olfactivo significativamente superiores quando comparado ao grupo de controlo ($p < 0,001$), apresentando hipósmia em 88,5% da amostra. Quanto à capacidade de identificação de odores, constatou-se uma deterioração desta função em 51,4% dos doentes, embora sem diferença estatística significativa com os controlos ($p = 0,21$). A forma de EMPP mostrou uma afecção marcada da função olfactiva, evidenciando hipósmia em 88,8% e uma diminuição da capacidade de identificação de odores em 61,1% dos doentes, porém com valores equiparáveis com as formas de EMSR e EMSP. A duração da doença, a pontuação na escala de incapacidade *Expanded Disability Status Scale* (EDSS) e o número de surtos no último ano não demonstraram relação com os parâmetros olfactivos avaliados.

Conclusões: O aumento do limiar olfativo observado no nosso estudo é uma manifestação frequente da EM, presente em todos os subtipos clínicos de forma idêntica. Apesar das limitações deste estudo piloto, parece confirmar-se a tendência, já postulada por outros estudos, que a disfunção olfactiva é um marcador clínico não só de neuroinflamação mas também de neurodegenerescência com especial interesse na monitorização das formas progressivas da esclerose múltipla (EMPP e EMSP).

Palavras – chave: Disfunção olfactiva; Esclerose múltipla; Esclerose múltipla Primária Progressiva

ABSTRACT

Introduction and aims: Multiple sclerosis (MS) is a chronic inflammatory disease of the central nervous system characterized by demyelinating process and varying degrees of neurodegeneration. The olfactory dysfunction has been recognized as an early clinical marker of several neurodegenerative diseases and documented in a few studies in MS. The objective of this study was to evaluate the olfactory function in MS mainly in primary progressive multiple sclerosis (PPMS), given that it is a clinical subtype often less frequent and less addressed in others studies.

Materials and methods: Prospective case – control study composed by 35 patients with diagnosis of MS, matched with 35 healthy controls according to age, gender and smoking habits. The olfactory acuity assessment was based on the application of the Clinical Research Center Connecticut chemosensory test protocol (CCCRC test), which comprises two components: odor threshold and identification tests.

Results: The group of patients with MS demonstrated olfactory threshold values significantly higher when compared to the control group ($p < 0.001$), showing hyposmia in 88,5% of the sample. As for odor identification ability, there was a deterioration of this function in 51.4 % of patients, although no statistically significant difference from controls ($p = 0.21$). The form of PPMS showed a marked impairment of olfactory function, with hyposmia in 88.8 % and a decrease of odor identification ability in 61.1 % of patients, but equivalents to the forms of RRMS and SPMS. The duration of the disease, the Expanded Disability Status Scale (EDSS) and the number of relapses in the past year have not shown relationship with the evaluated olfactory parameters.

Conclusion: The olfactory threshold dysfunction, in particular a deficit of the olfactory threshold is a frequent manifestation of MS, present in all clinical subtypes identically.

Despite the limitations of this pilot study, seems to confirm, as postulated by others studies, that the smell dysfunction is a clinical marker, not only of neuroinflammation but also neurodegeneration with special interest in monitoring the progressive forms of the disease of Multiple sclerosis.

Key-words: Olfactory dysfunction; Multiple Sclerosis; Primary Progressive Multiple Sclerosis.

INTRODUÇÃO

A Esclerose Múltipla (EM) é uma doença inflamatória crónica do sistema nervoso central (SNC), caracterizada do ponto de vista fisiopatológico por um processo desmielinizante e por variados graus de neurodegenerescência. Embora a sua etiologia permaneça desconhecida, sabe-se que resulta de uma disfunção imune provocada por uma complexa interacção entre factores genéticos e ambientais.⁽¹⁾

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), a EM afecta cerca de 2,5 milhões de pessoas a nível mundial, representando nos países desenvolvidos a principal causa de incapacidade neurológica, não traumática, no adulto jovem.⁽²⁾ Em Portugal estima-se que existam aproximadamente 5000 doentes.⁽³⁾ De notar, um maior envolvimento do sexo feminino, com o início da doença entre os 20 e os 40 anos em 70 % dos casos.⁽⁴⁾

Consoante a evolução temporal, são considerados quatro subtipos clínicos de EM, que se distinguem não só pelo seu fenótipo, como também, no prognóstico e na resposta a terapêuticas com fármacos imunomoduladores. A forma clínica de Esclerose múltipla surto remissão (EMSR) representa a forma de apresentação mais comum, englobando 85% dos casos. Esta é caracterizada por episódios de sintomatologia aguda (surtos) que evoluem posteriormente para uma recuperação clínica, em maior ou menor grau, mas com tendência a acumulação de incapacidade ao longo do tempo.

As formas progressivas, Esclerose múltipla secundária progressiva (EMSP), que evolui da EMSR ao fim de cerca de 10 a 15 anos de doença, e Esclerose múltipla primária progressiva (EMPP) consistem em formas em que há uma deterioração continuada da função neurológica, independentes da presença de surtos clínicos. A EMPP constitui um subtipo clínico pouco frequente, responsável por apenas 10-15% dos casos, distinguindo-se por apresentar menor actividade inflamatória e uma preponderância do componente

neurodegenerativo, com um declínio gradual da função neurológica desde o início da doença.⁽⁵⁾

As manifestações clínicas da EM contemplam uma multiplicidade de sinais e sintomas que reflectem a presença de lesões disseminadas no neuroeixo que divergem no tempo e no espaço. Desde modo, o quadro clínico é muito heterogéneo, compreendendo desde pequenos défices neurológicos localizados até manifestações com elevado grau de incapacidade.

A perturbação do olfacto, apesar de subdiagnosticada e pouco valorizada, tem sido documentada e descrita na EM por vários estudos, com uma incidência que varia entre os 15 e os 38,5% quando avaliada por métodos psicofísicos.^(6,7) A acuidade olfactiva é avaliada pela detecção do limiar olfactivo e pela capacidade de identificação e discriminação de odores cujo processamento cortical envolve múltiplas áreas do SNC. O limiar olfactivo tem sido reconhecido como uma função que envolve as áreas mais periféricas do sistema olfactivo, nomeadamente o córtex piriforme e a amígdala, constituintes anatómicos do córtex olfactivo primário. A identificação de odores depende de um processamento neuronal mais complexo resultando de conexões aferentes entre o córtex piriforme e o córtex orbitofrontal e o tálamo.

Estudos com recurso a exames de neuroimagem sugerem uma associação positiva entre a presença de disfunção olfactiva e o número de placas de esclerose localizadas em determinadas regiões do SNC, nomeadamente no lobo frontal e temporal, os quais estão estreitamente interligados com a via olfactiva.^(8,9)

O estudo da disfunção olfactiva tem merecido especial destaque no campo das neurociências por constituir uma das manifestações clínicas mais precoces em várias doenças neurodegenerativas, incluindo a doença de Parkinson, Alzheimer, Huntington e doença do neurónio motor.⁽¹⁰⁻¹²⁾ A EM possui um componente neurodegenerativo presente desde os estádios iniciais⁽¹⁾ pelo que a avaliação deste parâmetro clínico pode revelar-se importante como marcador precoce da doença.

Trabalhos recentes sugerem que a perda do sentido do olfacto na EM pode estar relacionada com o vírus humano herpes 6, o qual tem sido detectado no bulbo e trato olfactivos e isolado da cavidade nasal de doentes com EM. Estes achados suportam a hipótese de que determinados vírus atingem o SNC, através da via olfactiva, e funcionam como o factor desencadeante responsável pela doença em indivíduos geneticamente susceptíveis.⁽¹³⁾

Os estudos realizados até ao momento sobre a acuidade olfactiva na EM, incidiram principalmente nas duas formas de apresentação mais comuns, EMSR e EMSP, em detrimento da forma de EMPP.

O principal objectivo deste estudo é determinar a presença de disfunção olfactiva na forma de EMPP e relacioná-la as características clínicas inerentes à duração da doença e pontuação na escala de incapacidade EDSS (*Expanded Disability Status Scale*), bem como, compará-la com as formas de EMSR e EMSP.

MATERIAIS E MÉTODOS

População de estudo

Estudo caso-controlo composto por 35 doentes com diagnóstico de EM, seguidos em regime de consulta no serviço de Neurologia do Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra (CHUC), e por um grupo de controlo representado por 35 indivíduos saudáveis, emparelhados por idade, sexo e hábitos tabágicos.

De modo a garantir a obtenção de uma amostra significativa de doentes com EMPP, o recrutamento do grupo de doentes realizou-se em duas fases temporais distintas. Numa primeira fase, foram seleccionados apenas os doentes com EMPP, observados consecutivamente nas consultas de seguimento entre Junho e Setembro de 2014. Posteriormente, procedeu-se à selecção dos doentes com EMSR e EMSP, que decorreu durante o período de Novembro de 2014 a Abril de 2015.

Os critérios de inclusão e de exclusão observados encontram-se descritos na tabela 1.

Tabela 1. Critérios de inclusão e exclusão aplicados a cada grupo de estudo

	Critérios de inclusão	Critérios de exclusão
Grupo de doentes com EM	<ul style="list-style-type: none">- Diagnóstico de EMPP, EMSP e EMSR, de acordo com a revisão dos critérios de McDonald(14)- Idade ≥ 18 anos e ≤ 65 anos	<ul style="list-style-type: none">- Patologia ORL local- Surto ou tratamento com esteróides nas últimas 8 semanas- Antecedentes de outra doença neurológica-Traumatismo crânio-encefálico- Distúrbio psiquiátrico- Défice cognitivo clinicamente relevante com interferência na performance nos testes de avaliação olfactiva.
Grupo de controlo	<ul style="list-style-type: none">- Idade ≥ 18 anos e ≤ 65 anos- Voluntários saudáveis	Idênticos aos do grupo de doentes.

EM – Esclerose múltipla; EMPP – Esclerose múltipla primária progressiva; EMSR – Esclerose múltipla surto-remissão; EMSP – Esclerose múltipla secundária progressiva; ORL – Otorrinolaringológica

Avaliação neurológica

Após anamnese e exame objectivo geral, foi efectuado um exame neurológico pormenorizado e determinado o estado de incapacidade neurológica segundo a escala de incapacidade EDSS (*Expanded Disability Status Scale*), por um neurologista.

Avaliação da função olfactiva

A avaliação otorrinolaringológica incluiu uma rinoscopia e avaliação olfactiva por métodos psicofísicos.

A avaliação da acuidade olfactiva teve como base a aplicação do protocolo de *Connecticut Chemosensory Clinical Research Center Teste* (CCCRC teste),⁽¹⁵⁾ anteriormente validado para a população portuguesa e em uso clínico de rotina no CHUC. Este compreende um componente liminar, o teste do butanol, e um componente de identificação de odores, o teste de identificação de odores também designado por supra-limiar. (Anexo 1)

O teste de limiar com butanol consiste na detecção de concentrações gradualmente decrescentes de uma solução de 1- butanol, contidas em 8 frascos, de 250 ml, numerados de 0 a 7. A solução “mãe”, representada pelo frasco nº0, apresenta uma concentração de butanol a 4%, a qual é diluída por um factor de 3 até ao frasco nº 7 que constitui a solução menos concentrada. O teste foi iniciado pela apresentação do frasco com maior concentração (nº0), terminando com a detecção de uma determinada concentração três vezes consecutivas, tendo em atenção a ausência de detecção da concentração imediatamente menor. Importa salientar que o valor obtido no teste do butanol corresponde ao número do frasco com a menor solução detectada pelo participante. Por conseguinte, para menores valores no teste do butanol se verifica um aumento do limiar olfactivo.

O teste de identificação de odores compreende a identificação de 8 odores familiares do dia-a-dia, nomeadamente: talco, canela, chocolate, café, amendoim, naftalina, sabão e mentol, presentes individualmente em 8 frascos de 180 ml, cada um com 5 gramas da substância correspondente. A todos os participantes foi mostrada uma lista de 20 odores diferentes (Anexo 2), incluindo os utilizados durante o teste, que pode ser consultada durante a sua realização. Foi dada a possibilidade de apresentar novamente o frasco com odor específico, em caso de dúvida.

De realçar que ambos os testes foram efectuados individualmente a cada narina e de olhos vendados de modo a minimizar respostas baseadas na observação aquando da selecção de determinado frasco.

Análise estatística

O tratamento estatístico foi efectuado com recurso ao software IBM SPSS Statistics 22®.

Realizou-se uma análise descritiva das diferentes variáveis. As variáveis contínuas são apresentadas como a média, desvio padrão, mínimo e máximo ou mediana e intervalo interquartil quando mais apropriado. As variáveis categóricas são descritas como frequência relativa e percentagem.

O estudo da normalidade das variáveis quantitativas foi indicado pelo teste *kolmogorov-Smirnov* (quando $n > 25$) e pelo teste *Shapiro-Wilk* (quando $n < 25$).

O teste *Mann-Whitney U* foi utilizado na comparação da taxa de identificação de odores e do limiar olfactivo entre os dois grupos de estudo (doentes vs controlos) e o teste *Kruskall-wallis* na comparação da função olfactiva entre os subtipos clínicos da EM. Para analisar variáveis dicotómicas recorreu-se ao teste *Qui-quadrado*.

A avaliação de correlações entre o limiar olfativo e as características clínicas (EDSS, duração da doença e nº de surtos no último ano) foi determinada através do coeficiente de *Spearman*.

Para todos os testes foi considerado um valor de $p < 0,05$, como sendo estatisticamente significativo.

RESULTADOS

Caracterização geral da população

A análise descritiva detalhada das características demográficas e clínicas da população em estudo é apresentada na tabela 2. Nesta, verificámos que a amostra de doentes com EM, constituída maioritariamente por elementos do sexo feminino (68,6%), apresentou uma média de idades de $47,5 \pm 12,6$ anos e uma duração média de doença de $12,6 \pm 8,5$ anos. Constatou-se uma pontuação mediana na escala EDSS de 5,2, com uma pontuação mínima de 0 e máxima de 8, e uma exacerbação do componente inflamatório, descrito pelo número de surto no último ano, em apenas 2 (5,7%) doentes. Na população total de doentes, 18 (51,4%) apresentavam EMPP.

No momento da realização do estudo a maioria dos doentes (82,9%) se encontrava a realizar terapêutica imunomoduladora ou imunossupressora com recurso aos seguintes fármacos: Fingolimod (n=8), Natalizumab (n=5), Micofenolato de mofetilo (n=4), Azatioprina (n=1), Rituximab (n=4), Ocrelizumab (n=1), Interferão beta (n=4), Acetato de glatirâmico (n=1) e Fumarato (n=1). Apenas 6 (17,1%) doentes não apresentavam tratamento específico para a EM. Destes 4 apresentavam EMPP, 1 EMSR e 1 EMSP. (Figura 1)

O grupo de controlo demonstrou valores equiparáveis, não estatisticamente diferentes, para as variáveis idade, género e hábitos tabágicos.

O subgrupo de 18 doentes com EMPP, representado por 11 (61,1%) elementos do sexo feminino, mostrou uma média de idades de $55,1 \pm 7,5$ anos, duração média da doença de $12,8 \pm 9,1$ anos e pontuação mediana na escala EDSS de 6, variando entre uma pontuação mínima de 3,5 e máxima de 8. Hábitos tabágicos presentes em 9 doentes (50%) e ausência de surtos no último ano neste subgrupo.

Tabela 2. Características demográficas e clínicas da população em estudo			
	Doentes com EM (n=35)	Grupo de Controlo (n=35)	
Idade (anos)			
Média±DP	47,5 ± 12,6	45,57 ± 13	ns ^a
Mínimo- Máximo	24 – 65	23 – 65	
Sexo, n (%)			
Feminino	24 (68,6)	19 (54,3)	ns ^b
Masculino	11 (31,4)	16 (45,7)	
Fumadores, n (%)	13 (37,1)	16 (45,7)	ns ^c
Duração da doença (anos)			
Média±DP	12,6 ± 8,5		
Forma Clínica, n (%)			
EMPP	18 (51,4)		
EMSP	8 (22,9)		
EMSR	9 (25,5)		
EDSS			
Mediana ± Intervalo IQ	5,2 ± 2,75		
Mínimo – Máximo	0 – 8		
Nº de surtos último ano			
N (%)	2 (5,7%)		
Média±DP	0,9 ± 0,3		
Mínimo –Máximo	0 – 2		

^ateste Mann Whitney U ($p=0,53$); ^bteste Qui-quadrado ($p=0,32$); ^cteste Qui-quadrado ($p=0,62$); ns: estatisticamente não significativo; n: número; DP: desvio padrão; IQ: interquartil
EMPP: Esclerose múltipla primária progressiva; EMSP: Esclerose múltipla secundária progressiva; EMSR: Esclerose múltipla surto-remissão; EDSS: *Expanded Disability Status Scale*

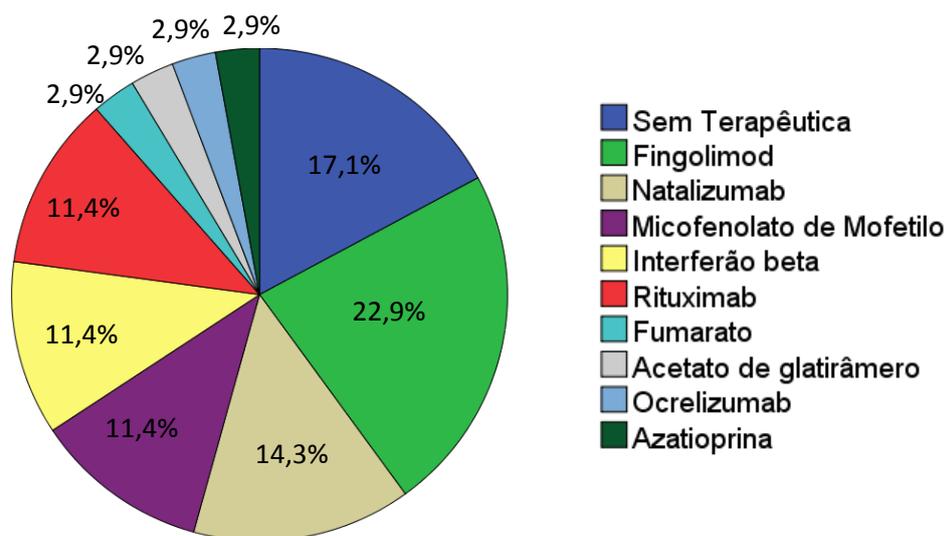


Figura 1. Terapêutica realizada pelo grupo de doentes no momento da realização do estudo.

Avaliação da acuidade olfactiva

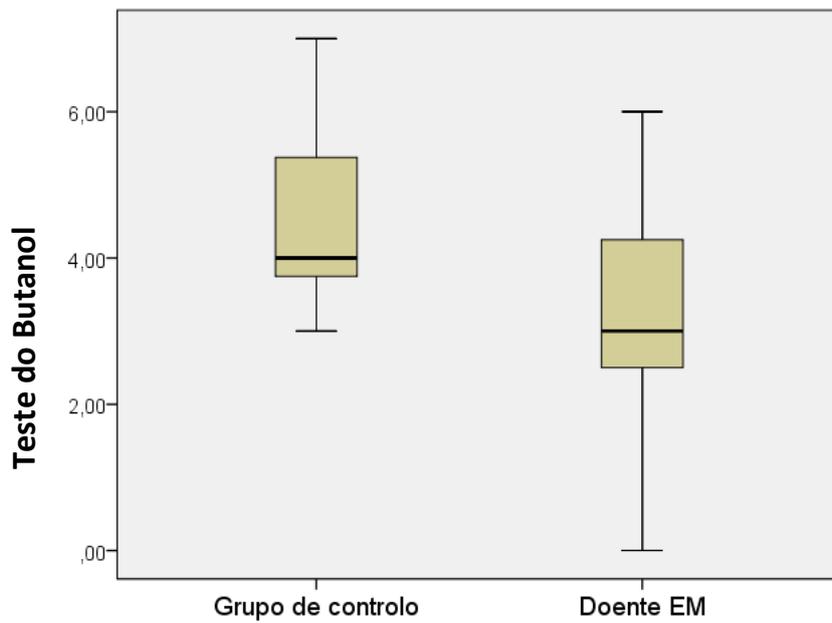
Neste estudo, evidenciamos hipósμία em 31 (88,5%) dos 35 doentes com EM e em 25 (71,4%) dos 35 controlos saudáveis (Tabela 4), com diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos ($p < 0,001$). O grupo de doentes obteve no teste do butanol valores significativamente mais baixos, o que traduz uma maior dificuldade na detecção de soluções de menor concentração, apresentando desde modo um aumento do limiar olfactivo quando comparado ao grupo de controlo (Figura 2). Todos os subtipos clínicos demonstraram uma afecção do limiar olfactivo num elevado número de doentes. A forma de EMPP apresentou hipósμία em 16 dos 18 doentes (88,8 %).

Em contrapartida, a comparação dos resultados obtidos no teste de identificação de odores, entre os dois grupos, não demonstrou haver diferenças estatisticamente significativas. No entanto, 18 (51,4%) dos 35 doentes apresentaram uma diminuição da capacidade de identificação de odores contra 11 (31,4%) dos controlos saudáveis. (Tabela 4).

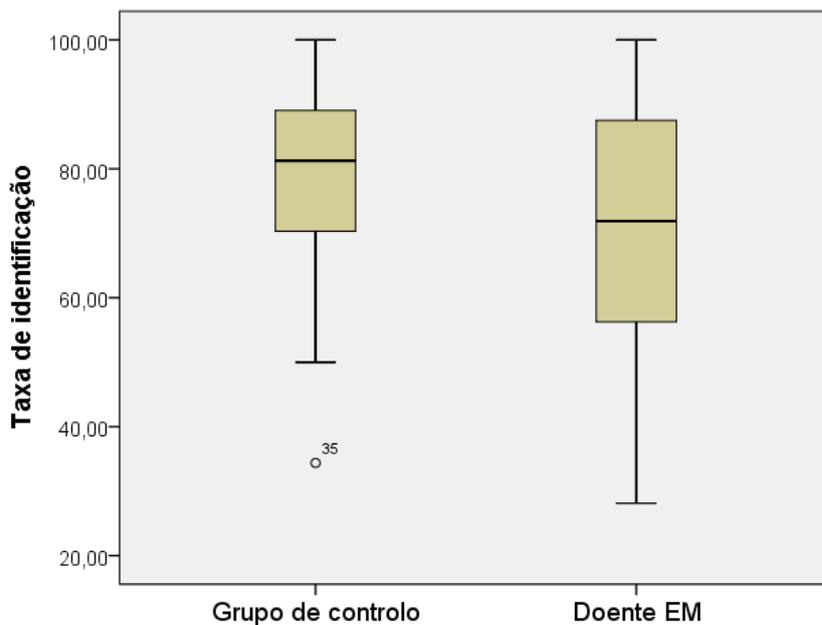
Dos 18 doentes acometidos, 17 (94,4%) manifestavam formas progressivas de EM (11 EMPP e 6 EMSP) e apenas 1 a forma clínica surto remissão. A forma de EMPP evidenciou assim uma afecção da capacidade de identificação de odores em 61,1% dos doentes.

Tabela 4. Parâmetros de avaliação olfactiva da população em estudo			
	Doentes EM	Controlos	Valor p
Teste do Butanol (limiar olfactivo)			
Mediana \pm Intervalo IQ	3 \pm 2	4 \pm 1,7	0,00 ^a
Mínimo – máximo	0 – 6	3-7	
Hipósμία <i>n</i> (%) ^b	31 (88,5)	24 (71,4)	0,00 ^a
Taxa de identificação de odores (%)			
Mediana \pm Intervalo IQ	71,8 \pm 31,2	81,2 \pm 21,8	0,21 ^a
Mínimo-máximo	28 – 100	34,3 – 100	
Diminuição da capacidade de identificação de odores <i>n</i> (%) ^b	18 (51,4)	11 (31,4)	0,11 ^a

^aTeste de *Mann-Whitney U*; ^bSegundo os valores de referência; IQ: interquartil



Mediana ± Intervalo IQ
 Grupo de controlo: 4 ± 1,7
 Doentes EM: 3 ± 2



Mediana ± Intervalo IQ
 Grupo de controlo: 81,2 ± 21,8
 Doentes EM: 71,8 ± 31,2

Figura 2: Representação gráfica em Boxplots do teste do butanol e da taxa de identificação de odores no grupo de controlo e no grupo de doentes com EM. A caixa apresentada corresponde aos dados entre o 1º e o 3º quartil e a linha traçada a mediana. O intervalo interquartil traduz a diferença entre o 3º e o 1º quartil e contém 50% dos dados. Os extremos do gráfico correspondem ao valor mínimo e máximo obtido. IQ: interquartil; EM: Esclerose Múltipla

A análise dos parâmetros de avaliação da acuidade olfactiva consoante a forma de evolução clínica da EM, não revelou diferenças estatisticamente significativas entre os doentes com EMPP, EMSP e EMSR (teste do butanol $p = 0,05$; teste de identificação de odores $p = 0,06$). Embora os piores resultados, quer no teste de limiar com butanol, quer no teste de identificação de odores, tenham sido obtidos no grupo de doentes com EMSP. (Imagem 3).

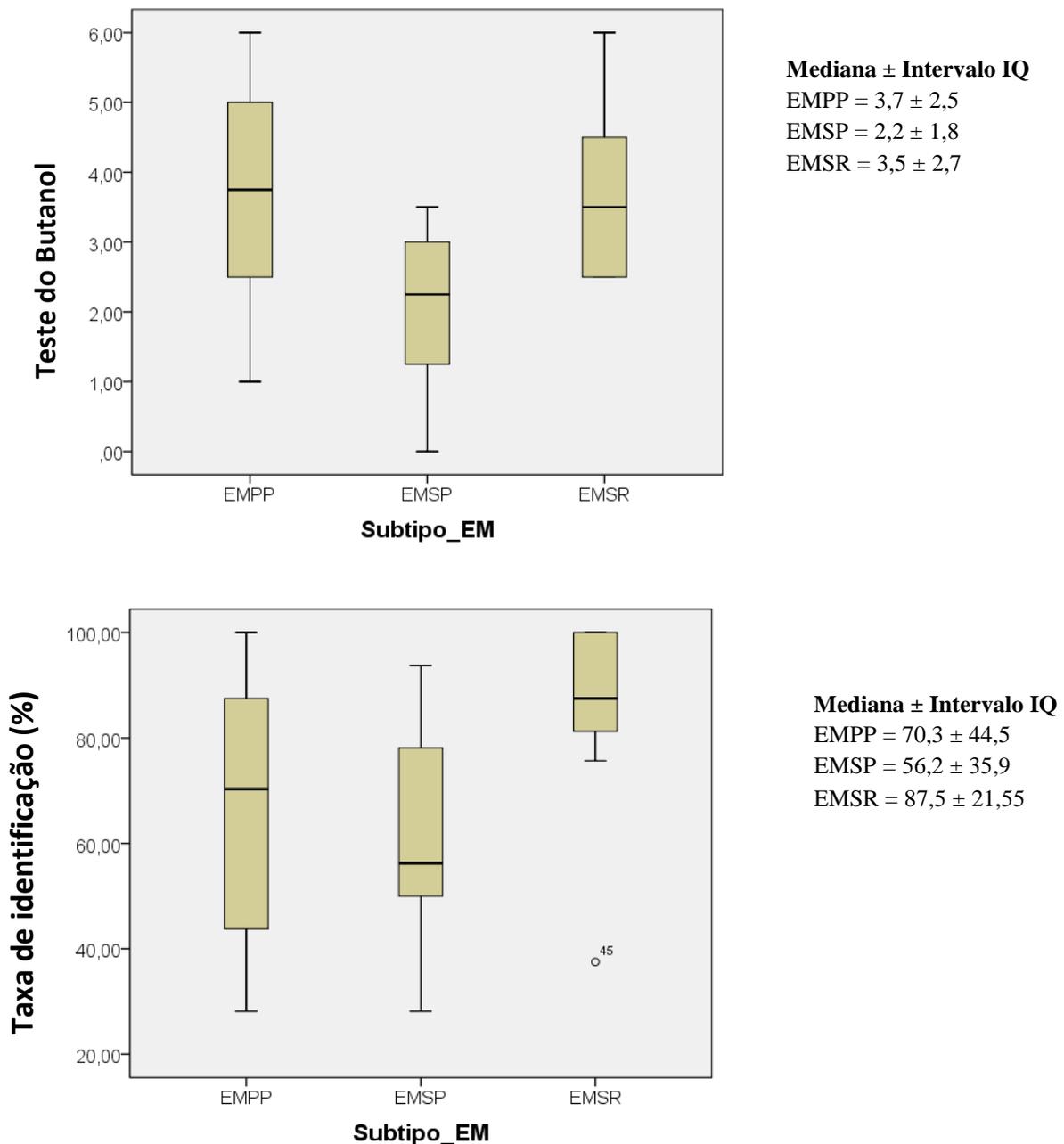


Figura 3. Representação gráfica em Box-plots do teste de limiar com Butanol e da taxa de identificação de odores consoante o subtipo clínico da EM. IQ: interquartil; EMPP: Esclerose múltipla primária progressiva; EMSP: Esclerose múltipla secundária progressiva; EMSR: Esclerose múltipla surto remissão.

Correlação dos parâmetros da função olfactiva com as características clínicas

Na amostra total de doentes não encontramos a presença de correlação estatisticamente significativa entre o limiar olfactivo, determinado pelo teste do butanol, e as características clínicas relacionadas com a duração da doença ($p = 0,95$), com a pontuação da escala EDSS ($p=0,14$) e com a actividade inflamatória traduzida pelo nº de surtos no último ano ($p=0,45$).

A capacidade de identificação de odores demonstrou um comportamento estatístico idêntico pelo que não possui correlação com as mesmas variáveis clínicas acima descritas (duração de doença $p = 0,37$; EDSS $p = 0,06$; nº de surtos no último ano $p = 0,85$).

A forma de EMPP, quando avaliada isoladamente, acompanhou os resultados da amostra total de doentes não revelando correlação do limiar olfactivo e da capacidade de identificação de odores com as características clínicas inerentes à duração da doença (teste do butanol $p=0,56$; teste de identificação de odores $p = 0,28$) e escala EDSS (teste do butanol $p=0,06$; teste de identificação de odores $p = 0,54$).

DISCUSSÃO

O estudo da função olfactiva de acordo com o Protocolo *CCRC*, demonstrou um aumento significativo do limiar olfactivo em 88,5% dos doentes. Esta incidência, apesar de se revelar bastante superior à de outros estudos,^(16,17) vai de encontro ao facto de que a perturbação do olfacto é de forma relativamente consistente uma manifestação frequente da EM.

O limiar olfactivo, no estudo de *Rolet et al.* revelou ser o parâmetro mais afectado e o marcador mais sensível de disfunção olfactiva na EM,⁽¹⁷⁾ dados que acompanham os resultados obtidos.

Trabalhos prévios mostraram que um défice deste componente está presente desde os estádios iniciais da EM, apresentando maior incidência e valores significativamente maiores em doentes com um predomínio da actividade inflamatória.^(16,17) Por outro lado, existem evidências de uma melhoria da função olfactiva nos períodos de remissão da doença com um agravamento marcado durante os surtos.⁽⁹⁾ Na amostra em estudo não foi possível constatar esta correlação, o que poderá ser explicado pela existência de um reduzido número de doentes com surtos no último ano, bem como, pelos critérios de exclusão considerados, na medida em que não foram seleccionados doentes com surtos nas últimas 8 semanas. É de ressaltar que a terapêutica imunomoduladora ou imunossupressora, presente na maioria dos doentes, confere maior controlo da actividade inflamatória o que poderá estar na base do número reduzido de surtos.

Aliado a estes factores, não verificamos a presença de correlação entre o limiar olfactivo e a escala de incapacidade EDSS, pelo que parece pouco provável que um aumento deste componente tenha como causa principal um processo neurodegenerativo, o que vai de encontro com os achados do estudo de *Lutterotti et al.*⁽¹⁶⁾

A capacidade de identificação de odores, contrariamente ao que seria expectável, não evidenciou uma diferença estatisticamente significativa com o grupo de controlo, embora prejudicada em mais de metade dos doentes. Uma deterioração desta função têm sido descrita por vários estudos,⁽¹⁶⁻¹⁹⁾ correlacionando-se inversamente com a duração da doença e pontuação da escala EDSS, pelo que afecta principalmente as formas progressivas da EM.⁽¹⁶⁻¹⁸⁾ De acordo com alguns autores a capacidade de identificação de odores constitui um importante marcador clínico preditor da progressão da doença.⁽²⁰⁾

Na nossa população de estudo a capacidade de identificação de odores não se correlaciona com a duração da doença e pontuação da escala EDSS. Porém, ao avaliarmos concretamente os 18 doentes acometidos neste parâmetro olfactivo, observamos uma frequência superior de doentes com EMSP e EMPP (94,4%), traduzidas clinicamente pela persistência de défices neurológicos e por conseguinte uma pontuação da escala EDSS mais elevada. Neste contexto, é plausível especular que os resultados obtidos possam ter sido condicionados pela dimensão da amostra pelo que a sua interpretação requer alguma cautela.

A identificação de odores depende de um processamento neuronal complexo, envolvendo múltiplas áreas do SNC, pelo que em estádios avançados da EM é de esperar um envolvimento mais grave desta função na medida em que é mais provável a afecção dos circuitos neuronais necessários.⁽¹⁶⁾

Relativamente à forma de EMPP, esta mostrou valores equiparáveis para o limiar olfactivo e para a capacidade de identificação de odores quando comparada às formas de EMSR e EMSP. Seria expectável uma disfunção olfactiva, particularmente na capacidade de identificação de odores, mais pronunciada na forma de EMPP tendo em conta que é considerada como a forma em que o componente neurodegenerativo é mais proeminente. Porém a elevada heterogeneidade clínica e o reduzido número de elementos das restantes formas em estudo podem justificar a ausência de significância estatística na presente amostra.

Na maioria dos estudos, não se procedeu a uma destrição do grau de gravidade nos diferentes subtipos clínicos da EM, além do que a forma de EMPP foi incluída numa minoria dos mesmos, razões pelas quais existem poucas evidências sobre este tema. O estudo desenvolvido por *Silva et al.* identificou que numa população de 153 doentes com EM, representada pelas formas de EMSP, EMPP e EMSR, a primeira revelou um acometimento da capacidade de identificação de odores mais exuberante quando comparada as duas restantes formas de evolução clínica.⁽²⁰⁾ No estudo de *Lutterotti et al.* não parecem existir diferenças nos vários subtipos clínicos, sendo contudo de realçar que na amostra de 50 doentes com EM avaliada apenas 8 possuíam formas progressivas (6 EMSP e 2 EMPP).⁽¹⁶⁾

As divergências encontradas entre este estudo e os outros estudos^(8,11,16-21) efectuados até ao momento podem ser explicadas pelos diferentes métodos de avaliação olfactiva utilizados, bem como, pelos critérios de elegibilidade considerados. O uso de testes electrofisiológicos, como os potenciais evocados olfactivos, têm apresentado conclusões semelhantes quando comparados aos métodos psicofísicos reforçando a ideia que a disfunção olfactiva é uma característica clínica da EM.^(6,7,18,21) Adicionalmente, estudos recentes identificaram através de exames imagiológicos uma atrofia significativa do bolbo olfactivo, e da profundidade do sulco olfactivo em doentes com EM, a qual se encontra correlacionada negativamente com a duração da doença e frequência de surtos.⁽²²⁾

Limitações do Estudo

As conclusões deste estudo devem interpretadas com reserva, quando extrapoladas para uma população de doentes com EM, uma vez que se encontram limitadas por se tratar de uma análise unicêntrica e baseada em dados de um estudo piloto.

Por outro lado, o protocolo CCCRC, embora validado e universalmente usado para a avaliação da função olfactiva possui um carácter subjectivo inerente aos participantes que deve ser tido em conta.⁽¹⁵⁾

CONCLUSÃO

Neste estudo, constatamos a presença de disfunção olfactiva numa elevada percentagem de doentes com EM, particularmente marcada pelo aumento do limiar olfactivo e não significativamente diferente entre a EMPP e as formas de EMSR e EMPP.

Embora os resultados da caracterização da disfunção olfactiva quanto às características clínicas da EM tenham sido pouco conclusivos, parece confirmar-se a tendência, já postulada por outros estudos, que a disfunção olfactiva é um relevante marcador clínico de neuroinflamação e de neurodegenerescência, podendo ser uma mais valia na monitorização da progressão da doença. A realização de estudos multicêntricos prospectivos, incluindo os subtipos clínicos menos frequentes, seria necessária para estabelecer o papel da disfunção olfactiva na EM.

AGRADECIMENTOS

A elaboração desta tese teve o apoio de um conjunto de pessoas que de forma directa ou indirecta contribuíram para a sua realização, nomeadamente:

À Dra. Lúcia Sousa pela orientação, conhecimento e disponibilidade.

Ao Dr. João Carlos Ribeiro pela orientação, ajuda, apoio e sugestões imprescindíveis.

À Dra. Sónia Batista pela ajuda, orientação e disponibilidade incondicional e dedicação demonstrados desde o início.

Ao Dr. Miguel Silva e Dra. Ana Gouveia pela disponibilidade e ajuda na avaliação olfativa e avaliação neurológica, respectivamente.

Ao laboratório de Bioestatística, em particular à investigadora Marisa Loureiro pela ajuda no tratamento estatístico.

A todos os doentes com quem tive oportunidade de contactar e que gentilmente se disponibilizaram para este estudo.

À minha família e amigos que estiveram sempre presentes com o seu apoio, atenção e afecto.

Ao Vítor pelo apoio, incentivo e compreensão fundamentais para a elaboração deste trabalho.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Grigoriadis N, van Pesch V. A basic overview of multiple sclerosis immunopathology. *Eur J Neurol* [Internet]. 2015;22:3–13. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/ene.12798>
2. Harrison TR. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 19^a ed. Kasper DL, Fauci AS, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL, Loscalzo J, editors. New York: Mc Graw Hill Education; 2015.
3. DGS. EMcode: Conhecer e desmistificar a esclerose múltipla em Portugal [Internet]. [cited 2015 Nov 30]. Available from: <http://www.dgs.pt/?cr=20273>
4. Kaufman DM, Milstein MJ. Multiple Sclerosis. *kaufman's Clinical Neurology for Psychiatrists*. 7th ed. London: Elsevier; 2013. p. 329–49.
5. Miller DH, Leary SM. Primary-progressive multiple sclerosis. 2007;903–12.
6. Caminiti F, De Salvo S, De Cola MC, Russo M, Bramanti P, Marino S, et al. Detection of olfactory dysfunction using olfactory event related potentials in young patients with multiple sclerosis. *PLoS One* [Internet]. 2014;9(7):e103151. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4105616&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
7. Holinski F, Schmidt F, Dahlslett SB, Harms L, Bohner G, Olze H. MRI Study: Objective Olfactory Function and CNS Pathologies in Patients with Multiple Sclerosis. *Eur Neurol* [Internet]. 2014;72:157–62. Available from: <http://www.karger.com?doi=10.1159/000362165>
8. Zorzon M, Ukmar M, Bragadin LM, Zanier F, Antonello RM, Cazzato G, et al. Olfactory dysfunction and extent of white matter abnormalities in multiple sclerosis: a clinical and MR study. *Mult Scler* [Internet]. 2000;6(September):386–90. Available from: <http://msj.sagepub.com/cgi/doi/10.1177/135245850000600605>
9. Doty RL, Li C, Mannon LJ, Yousem DM. Olfactory dysfunction in multiple sclerosis. Relation to plaque load in inferior frontal and temporal lobes. *Ann N Y Acad Sci*. 1998;855:781–6.
10. Barresi M, Ciurleo R, Giacoppo S, Foti Cuzzola V, Celi D, Bramanti P, et al. Evaluation of olfactory dysfunction in neurodegenerative diseases. *J Neurol Sci* [Internet]. Elsevier B.V.; 2012;323(1-2):16–24. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jns.2012.08.028>
11. Hawkes CH, Shepard BC. Olfactory evoked responses and identification tests in neurological disease. *Ann N Y Acad Sci* [Internet]. 1998;855:608–15. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9929657>
12. Doty RL. Olfaction in Parkinson's disease and related disorders. *Neurobiol Dis*. 2012;46(3):527–52.

13. Harberts E, Yao K, Wohler JE, Maric D, Ohayon J, Henkin R, et al. Human herpesvirus-6 entry into the central nervous system through the olfactory pathway. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011;108(33):13734–9.
14. Polman CH, Reingold SC, Banwell B, Clanet M, Cohen J a., Filippi M, et al. Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2010 Revisions to the McDonald criteria. *Ann Neurol* [Internet]. 2011;69:292–302. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/ana.22366>
15. Tol a, González E, Onrubia TJ, Heráiz C, Mate M a, García M, et al. Test de olfato de Connecticut (CCCRC): valores en voluntarios sanos. (Available in English). *Acta Otorrinolaringol Esp*. 2003;54:678–85.
16. Lutterotti a, Vedovello M, Reindl M, Ehling R, DiPauli F, Kuenz B, et al. Olfactory threshold is impaired in early, active multiple sclerosis. *Mult Scler*. 2011;17(8):964–9.
17. Rolet a., Magnin E, Millot JL, Berger E, Vidal C, Sileman G, et al. Olfactory Dysfunction in Multiple Sclerosis: Evidence of a Decrease in Different Aspects of Olfactory Function. *Eur Neurol* [Internet]. 2013;69:166–70. Available from: <http://www.karger.com/doi/10.1159/000345482>
18. Bettina S, Oender D. Psychophysiological and electrophysiological testing of olfactory and gustatory function in patients with multiple sclerosis. 2012;1163–9.
19. Zivadinov R, Zorzon M, Monti Bragadin L, Pagliaro G, Cazzato G. Olfactory loss in multiple sclerosis. *J Neurol Sci*. 1999;168(November 1998):127–30.
20. Silva a. M, Santos E, Moreira I, Bettencourt a., Coutinho E, Goncalves a., et al. Olfactory dysfunction in multiple sclerosis: association with secondary progression. *Mult Scler J*. 2012;18:616–21.
21. Hawkes CH, Shephard BC, Kobal G. Assessment of olfaction in multiple sclerosis: evidence of dysfunction by olfactory evoked response and identification tests. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* [Internet]. 1997;63:145–51. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2169670&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
22. Tanik N, Ibrahim H, Celikbilek A, Ertugrul L, Gundogdu F. Journal of the Neurological Sciences Olfactory bulb and olfactory sulcus depths are associated with disease duration and attack frequency in multiple sclerosis patients. *J Neurol Sci* [Internet]. Elsevier B.V.; 2015;358(1-2):304–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jns.2015.09.016>

ANEXO 1. Protocolo de CCCRC *Teste* – Folha de registo dos participantes

Identificação

Nome:

Sexo:

Idade:

Hábitos tabágicos:

A - TESTE DO BUTANOL

Fossa Nasal Esquerda

7	7	7	7	7	7
6	6	6	6	6	6
5	5	5	5	5	5
4	4	4	4	4	4
3	3	3	3	3	3
2	2	2	2	2	2
1	1	1	1	1	1
0	0	0	0	0	0

Fossa Nasal Direita

7	7	7	7	7	7
6	6	6	6	6	6
5	5	5	5	5	5
4	4	4	4	4	4
3	3	3	3	3	3
2	2	2	2	2	2
1	1	1	1	1	1
0	0	0	0	0	0

B – TESTE DE IDENTIFICAÇÃO DE ODORES

Correcto = ✓; Incorrecto = X; Sem Resposta = 0

Odor	Fossa nasal ESQ		Fossa nasal DRT	
	Prova 1	Prova 2	Prova 1	Prova2
1.Talco				
2.Chocolate				
3.Canela				
4.Café				
5.Naftalina				
6.Amendoim				
7.Sabão				
8.Mentol				

ANEXO 2. Lista de odores consultada durante a realização do teste de identificação de odores

1. Talco
2. Álcool
3. Tabaco
4. Canela
5. Morango
6. Éter
7. Baunilha
8. Mentol
9. Flores
10. Eucalipto
11. Amendoim
12. Café
13. Pimenta
14. Naftalina
15. Limão
16. Coentros
17. Gasolina
18. Sabão
19. Lixívia
20. Chocolate