

PUCRS

ESCOLA DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA FARMACÊUTICA

LETÍCIA WEHRMANN

O PAPEL DA AVALIAÇÃO OLFATIVA NO DIAGNÓSTICO DA DOENÇA DE ALZHEIMER
EM IDOSOS SULBRASILEIROS: UM ESTUDO EXPLORATÓRIO

Porto Alegre
2019

PÓS-GRADUAÇÃO - *STRICTO SENSU*



Pontifícia Universidade Católica
do Rio Grande do Sul

LETÍCIA WEHRMANN

O papel da avaliação olfativa no diagnóstico da doença de Alzheimer em idosos sulbrasileiros: um estudo exploratório

Dissertação apresentada como requisito para a obtenção do grau de Mestre pelo Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Farmacêutica da Escola de Ciências da Saúde da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul.

Orientador: Dr. Pablo Machado

Porto Alegre
2019

Ficha Catalográfica

W414p Wehrmann, Letícia

O papel da avaliação olfativa no diagnóstico da Doença de Alzheimer em idosos sulbrasileiros : Estudo Exploratório / Letícia Wehrmann . – 2019.

93.

Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Farmacêutica, PUCRS.

Orientador: Prof. Dr. Pablo Machado.

1. Doença de Alzheimer. 2. Transtornos do Olfato. 3. Disfunção cognitiva. 4. Sniffin Sticks. I. Machado, Pablo. II. Título.

LETÍCIA WEHRMANN

O PAPEL DA AVALIAÇÃO OLFATIVA NO DIAGNÓSTICO DA DOENÇA DE
ALZHEIMER EM IDOSOS SULBRASILEIROS: UM ESTUDO EXPLORATÓRIO

Dissertação apresentada como requisito para a obtenção
do grau de Mestre pelo Programa de Pós- Graduação
Programa Graduação em Biotecnologia Farmacêutica da
Escola de Ciências da Saúde da Pontifícia Universidade
Católica do Rio Grande do Sul.

Aprovada em: _____ de _____ de _____.

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. Jarbas.Rodrigues de Oliveira

Prof^a. Dra. Carla Helena Augustin Schwanke

Prof^a. Dra Liana Lisboa Fernandez

Porto Alegre
2019

AGRADECIMENTOS

Trabalhar com olfato sempre foi um desejo, mas unir meu já tão conhecido mundo da perfumaria com a área da saúde foi mérito da Prof^a Marlise Araújo dos Santos, PhD, responsável por me apresentar este novo universo. Agradeço muito pela ideia, por sonhar junto, por incentivar para que o trabalho finalmente acontecesse. Aos pesquisadores colaboradores Dr. Lucas Porcello Schilling e Dra. Adriana Vasques por aceitarem o desafio de investigarem um mundo ainda desconhecido por eles e contribuírem muito no delineamento do estudo, nas avaliações dos pacientes e também em sugestões para a pesquisa como um todo. Pelo apoio e suporte agradeço à Ingrid Gradaschi Lamadrid e ao Prof. Júlio César Marques de Lima. Ainda, ao Dr. Wyllians Vendramini por indicar pacientes de seu banco de dados e aos neuropsicólogos Franceline Freitas e Eduardo Leal Conceição por participarem na indicação e avaliação de pacientes. Agradecimento ao Prof. Dr. Pablo Machado por assumir a orientação do trabalho na fase conclusiva do mesmo. Agradecimento ao apoio financeiro do grupo Dimed. Por último, um agradecimento, mais do que especial à minha família, meu esposo, minha filha por estarem sempre a meu lado, abdicando de horas de lazer em família, suportando minhas crises de falta de tempo e de mau humor para conseguir terminar tudo a tempo. Também a meus pais, minha irmã e meus sogros que contribuíram com apoio emocional e logístico durante essa etapa. Também agradeço a Deus pela oportunidade e pelas pessoas colocadas em meu caminho desde colaboradores, parceiros, funcionários do hospital São Lucas até os pacientes e seus familiares que pelo tempo e disposição para participarem deste estudo.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
2. OBJETIVOS	19
2.1 Objetivo Principal	19
2.2 Objetivos Específicos.....	19
3. REVISÃO DA LITERATURA	20
3.1. Doença de Alzheimer (DA)	20
3.2 Comprometimento Cognitivo Leve (CCL)	28
3.3 Olfato	29
4. MÉTODOS	42
4.1 Delineamento do Estudo.....	42
4.2 Coleta de Dados	43
4.3 Variáveis	51
4.4 Análise Estatística.....	51
5. DISCUSSÃO DOS RESULTADOS	53
6. CONCLUSÃO.....	68
7. LIMITAÇÕES DO ESTUDO.....	70
8. PRINCIPAIS CONTRIBUIÇÕES CIENTÍFICAS	72
REFERÊNCIAS.....	73
Apêndice 1	81
Apêndice 2	84
ANEXO 1 - ESCALA DE ESTADIAMENTO CDR (Clinical Dementia Rating) .	85
ANEXO 2 - MINI EXAME DO ESTADO MENTAL (MEEM).....	86
ANEXO 3 - Montreal Cognitive Assessment (MoCA).....	87

ANEXO 4 – FLUÊNCIA VERBAL CATEGÓRICA (FAS) E animais	88
ANEXO 5 – ESCALA DE DEPRESSÃO GERIÁTRICA (EDG-15)	89
ANEXO 6 – TESTE DE LIMIAR OLFATIVO.....	90
ANEXO 7 – TESTE DE DISCRIMINAÇÃO OLFATIVA.....	91
ANEXO 8 – TESTE DE IDENTIFICAÇÃO OLFATIVA	92

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Esquema simplificado dos estágios da Doença de Alzheimer	23
Figura 2: Imagem do kit estendido Sniffin' Sticks	47
Gráfico 1: Desempenho na avaliação olfativa Sniffin Sticks.....	65
Quadro 1: Pontos de corte do escore TDI....	49
Quadro 2: Esquema de resultados do teste de limiar olfativo <i>Sniffin Sticks</i> [®]	50

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Caracterização da população amostrada de pacientes dos grupos CO, com CCL, com DA e os respectivos valores de “p” de significância entre os grupos.	53
Tabela 2: Apresentação dos escores brutos das variáveis analisadas no instrumento para os grupos CO, CCL, DA e os valores “p” de significância.....	55
Tabela 3: Apresentação das variáveis analisadas no instrumento para os grupos, CO, CCL, DA, em percentual, e os valores “p” de significância, considerando interpretação dos resultados	58
Tabela 4: Comparativo sobre interpretação dos resultados do escore TDI com pontos de corte do manual e com ajuste por idade (Hummel, et al, 2007)	60
Tabela 5: Associação entre os instrumentos cognitivos com avaliação de capacidade olfativa	64
Tabela 6: Distribuição de acertos de odores no teste de identificação do Sniffin Sticks	66

LISTA DE ABREVIATURAS

CDR – do inglês, *Clinical Dementia Rating* – Estadiamento clínico de demência

DA – Doença de Alzheimer

DP – Doença de Parkinson

DPI – Doença de Parkinson idiopática

CCL– Comprometimento Cognitivo Leve, do inglês *Mild Cognitive Impairment (MCI)*

FAS – Teste de Fluência Verbal Fonológica

FVC – Teste de Fluência Verbal Categórica

LCR – Líquido Cefalorraquidiano

MEEM - Mini Exame do Estado Mental

MoCA –do inglês, *Montreal Cognitive Assessment* - Avaliação Cognitiva Montreal

NIAA – do inglês, *National Institute on Aging Alzheimer's Association*

RAVLT - Teste de Aprendizagem Auditivo-Verbal de Rey

RAVLT ALT - Teste de Aprendizagem Auditivo-Verbal de Rey aprendizagem ao longo de tentativas

RMN - Ressonância Magnética Nuclear

RMNf - Ressonância Magnética Funcional

PET – do inglês, *Positron Emission Tomography* – Tomografia por emissão de Pósitrons

SPECT - do inglês, *Single photon emission computed tomography*-Tomografia Computadorizada por Emissão de Fóton Único

TCLE - Termo de Consentimento Informado Livre e Esclarecido

UPSIT – do inglês, *University of Pennsylvania Smell Identification Test* – Teste de identificação olfativa da Universidade da Pensilvânia

RESUMO

WEHRMANN, Letícia. **O papel da avaliação olfativa no diagnóstico da doença de Alzheimer em idosos sulbrasilianos: um estudo exploratório**. Porto Alegre. 2019. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Farmacêutica da Escola de Ciências da Saúde da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul.

Introdução: A incidência da Doença de Alzheimer (DA), tipo mais comum das demências relatadas, vem crescendo a cada ano e acompanha o envelhecimento da população. Normalmente, quando a DA é diagnosticada, já houve um dano cerebral extenso e irreversível. As medicações disponíveis no mercado apenas auxiliam a retardar a progressão da patologia, mas estão muito longe de serem consideradas curativas. Vários estudos relatam a hiposmia, ou diminuição da capacidade olfativa, como um dos primeiros sintomas detectáveis da doença, podendo aparecer cerca de 15 a 20 anos antes dos sintomas cognitivos. A hiposmia para DA é mais abrupta e mais grave do que aquela observada durante o envelhecimento saudável, podendo ocorrer em cerca de 85 a 90% dos pacientes diagnosticados. Sendo assim, o desenvolvimento de metodologias práticas, sensíveis e eficazes que contribuam para um diagnóstico mais preciso e precoce, fazem-se necessárias. **Objetivo:** avaliar a aplicabilidade da avaliação olfativa pelo método estendido dos *Sniffin' Sticks*[®] (padrão ouro validado mundialmente) para auxílio no diagnóstico de DA em uma população do sul do Brasil. **Método:** trata-se de um estudo transversal, com caráter exploratório. Foram selecionados, de forma sequencial, 10 pacientes com DA, 11 pacientes com Comprometimento Cognitivo Leve (CCL) e 10 controles (CO) saudáveis de mesma faixa etária, todos com idade acima de 60 anos e que preencheram os critérios de inclusão. Estes pacientes passaram por avaliação com médico neurologista especialista em cognição, por neuropsicólogos e por farmacêutica especialista em olfato. Todos os pacientes foram submetidos à bateria de testes estendida do *Sniffin Sticks*[®], que compreende teste de limiar olfativo, teste de discriminação olfativa e teste de identificação olfativa. **Resultados:** os resultados no escore TDI (soma dos

resultados de limiar, discriminação e identificação) mostraram diferença significativa entre o grupo DA e os outros dois grupos, tendo como resultados no escore bruto: CO: 28,6 (25,0-33,9); CCL: 25,5 (22,5-27,3), DA (6,8-17,5) com valores de $p=0,001$. Os resultados foram mantidos quando realizado o ajuste para idade. Existe correlação positiva entre escore TDI e avaliações cognitivas de Montreal Cognitive Assessment (MoCA) 0,647 ($p<0,001$), Mini Exame do Estado Mental (MEEM) 0,591 ($p<0,001$), Teste de Aprendizagem Auditivo-Verbal de Rey (RAVLT) total 0,640 ($p<0,001$), RAVLT evocação tardia 0,638 ($p<0,001$). **Conclusão:** foi possível relacionar COs com normosmia, CCLs com hiposmia e DAs com anosmia ($p<0,001$), o que sugere que o instrumento proposto pode ser promissor para auxílio no diagnóstico precoce de CCL e DA.

Palavras-chaves: Doença de Alzheimer. Transtornos do Olfato. Disfunção cognitiva. *Sniffin' Sticks*®.

ABSTRACT

WEHRMANN, Letícia. The role of **olfactive evaluation in Alzheimer's Disease diagnosis in a south Brazilian population: an exploratory study**. Porto Alegre. 2019. Master. Graduation Program in Biopharmaceutical Technology, School of Health Sciences. Pontifical Catholic University of Rio Grande do Sul.

Introduction: The incidence of Alzheimer's disease (AD), the most common type of dementia reported, has been growing every year and is accompanying an aging population. Usually when the diagnosis of the disease occurs there has already been an extensive and irreversible brain damage. The medications available on the market only help to slow the progression of the disease, but are far from being curative. Several studies published in the last years report hyposmia, or decreased olfactory ability, as one of the first detectable symptoms of the disease, and may appear about 15 to 20 years before cognitive symptoms. Hyposmia for AD is more abrupt and more severe than that observed during healthy aging, and may occur in about 85% to 90% of the diagnosed patients. Therefore, the development of practical, sensitive and effective methodologies that contribute to a more accurate and early diagnosis are necessary. **Objectives:** The main objective of the research is to evaluate the application of the Sniffin Sticks® extended kit (global gold standard) for elderly patients with or without memory impairment in a population from southern Brazil. **Methods:** This is a cross-sectional study. 10 patients with AD, 11 patients with mild cognitive impairment (MCI) and 10 controls without neurological diseases were sequentially selected. Patients above 60 years, who fit the inclusion criterias were evaluated. These patients were submitted to functional clinical assessment scales, neuropsychological tests, and to the Sniffin' Sticks® extended olfactory evaluation (olfactory threshold, discrimination and identification). **Results:** results on the TDI score (sum of threshold, discrimination and identification evaluations) demonstrated significant differences between the AD's group and the other groups (CO and MCI); CO: 28,6 (25,0-33,9); CCL: 25,5 (22,5-27,3), DA (6,8-17,5), $p = 0,001$. Results are maintained even after age adjustments. There is positive correlation between TDI score and cognitive evaluations: MoCA 0,647 ($p < 0,001$), Mini Mental 0,591 ($p < 0,001$), RAVLT total 0,640

($p < 0,001$), RAVLT delayed recall 0,638 ($p < 0,001$). **Conclusion:** it was possible to correlate healthy controls with normosmia, mild cognitive impairment (MCI) patients with hiposmia and AD patients with anosmia ($p < 0,001$), demonstrating that olfactive impairment may be a useful tool for early diagnose of MCI and AD.

Key-words: Alzheimer's Disease. Olfaction Disorders. Cognitive Dysfunction. Sniffin' Sticks[®].

1. INTRODUÇÃO

O envelhecimento populacional ocorrido nas últimas décadas e que segue crescendo, tem inúmeras consequências, dentre as quais pode ser citada a maior incidência de doenças neurodegenerativas e psiquiátricas nesta população. Cerca de 40 milhões de pessoas com mais de 60 anos, no mundo, têm diagnóstico de demência e a projeção é de dobrar a cada 20 anos, pelo menos até 2050 (SCHELTENS *et al.*, 2016). Esse dado leva a comunidade científica a investigar novas estratégias para o diagnóstico precoce dessas patologias. No Brasil estima-se que em 2045 o número de idosos será maior do que o número de crianças no país (WONG; CARVALHO, 2006).

O termo demência não descreve uma doença apenas, mas uma síndrome crônica, cujas características principais são: declínio de memória adquirido, declínio intelectual ou de outras funções cognitivas, mudanças no comportamento e na personalidade, além de prejuízo no desempenho psicossocial (MONTAÑO; RAMOS *et al.*, 2005), os quais, em sua grande maioria, são progressivos. Como principais tipos de demência podem ser mencionados a doença de Alzheimer (DA), a demência vascular, a demência por corpos de Lewy, e a demência frontotemporal (KAPCZINSKI *et al.*, 2011), sendo a principal delas, a Doença de Alzheimer, responsável por cerca de 60-70% dos casos.

Contrário à crença popular, demência não é uma consequência inevitável do envelhecimento. Existem alguns fatores de risco que contribuem para aumentar o índice de demência, tais como: falta de atividade física, fumo, alcoolismo, diabetes *mellitus* e hipertensão. Além desses, ainda podem contribuir: depressão, baixos níveis escolaridade, isolamento social e falta de atividades cognitivas. Aliados a todos estes fatores, a Organização Mundial da Saúde (OMS) ainda inclui os fatores de risco genéticos. Segundo o modelo de Rotterdam, o controle desses fatores de risco poderia levar a uma redução na incidência de casos de demência de até 30% (HYMAN *et al.*, 2012). Vários estudos têm demonstrado que o cuidado e a prevenção com a saúde vascular pode ser uma importante ferramenta de prevenção da saúde cognitiva da população em geral (LIVINGSTON *et al.*, 2017). Em virtude dos dados supracitados, a OMS lançou em abril de 2017 um Plano de Ação Global de Prevenção a Demência (WHO, 2017). No mencionado plano de ação, a projeção de evolução é alarmante. O

custo global com tratamento de demências em 2010 foi estimado em 604 bilhões de dólares, o que equivale a 1 (um) % do produto interno bruto (PIB) global. Por volta de 2030, o custo mundial do tratamento com pessoas com demência está estimado em 1,2 trilhões de dólares ou mais e deve ser considerado que cerca de 60% dos pacientes com demência vivem em países de renda média ou baixa. Outro fator preocupante é o fato de que, em geral, os casos de demência são “subdiagnosticados” e quando é feito o diagnóstico, normalmente ele ocorre quando a doença já está instalada há alguns anos, ou seja, o diagnóstico é tardio (<http://apps.who.int/>).

A longa fase pré-clínica da DA é uma excelente oportunidade para intervenção terapêutica; porém, é necessário elucidar a conexão da cascata patológica com o surgimento dos sintomas clínicos (SPERLING *et al*, 2011). De acordo com a *Alzheimer's Association* (AA), uma intervenção hipotética que retardasse em até 5 anos a instalação da DA, reduziria em até 57% o número de pacientes com DA e reduziria gastos médicos com a doença de 627 para 344 bilhões de dólares, apenas nos Estados Unidos (http://www.alz.org/alzheimers_disease_trajectory.asp).

De acordo com o Instituto Nacional de Envelhecimento e Alzheimer (do inglês NIA-AA, *National Institute on Aging/Reagan Institute of Alzheimer Association*), os novos critérios para diagnóstico da DA, estabelecidos em 2012, evoluíram para que fossem incluídos sintomas iniciais e estágios pré-clínicos da doença. A DA desenvolve-se durante um longo período pré-clínico, que pode durar décadas.

Como principais características fisiopatológicas da DA, temos: o acúmulo progressivo de placas senis que contém a proteína β -amiloide e emaranhados neurofibrilares no sistema nervoso central, causados pela hiperfosforilação da proteína tau (KAPCZINSKI *et al.*, 2011). De acordo com o estadiamento de Braak, os emaranhados iniciam nas regiões límbicas e para límbicas do cérebro. Com o avanço da doença os emaranhados neurofibrilares e as placas β -amiloide tendem a expandir para áreas neocorticais, levando a déficits de atenção, memória e comportamento (HUART *et al.*, 2015).

Muitos pacientes com Alzheimer apresentam previamente uma patologia

denominada Comprometimento Cognitivo Leve ou CCL (do inglês, *Mild Cognitive Impairment*). Essa patologia é uma síndrome cognitiva que denota um estágio de transição entre envelhecimento normal e demência. Nesse estágio, os pacientes mantêm independência e funcionalidade em atividades diárias com a mínima necessidade de ajuda (ALBERT *et al.*, 2011). Estudos comprovam que populações com CCL têm maior risco do que a população em geral de desenvolver demência (CONTI *et al.*, 2013).

O envelhecimento saudável leva a diminuição do olfato; no entanto, essa hiposmia pode ser utilizada como marcador de doenças neurodegenerativas em estágio inicial, tais como DA pré-clínica e Doença de Parkinson Idiopática (DPi). Cerca de 85-90% desses pacientes apresentam déficit olfativo, que está relacionado a um menor estímulo das estruturas centrais de processamento de odores, que pode ser comprovado por exames de imagem funcionais (GODOY *et al.*, 2015).

A hiposmia na DA foi reportada pela primeira vez cerca de 40 anos atrás, em 1973, e hoje sabe-se que pacientes com esta patologia têm função olfativa debilitada, fluência olfativa, memória de reconhecimento olfativo e percepção de limiar olfativo alterados. Esse déficit olfativo está relacionado diretamente com as regiões do cérebro afetadas primariamente pela patologia, como córtex entorrinal e bulbo olfativo (VELAYUDHAN, 2015).

Para a avaliação da capacidade olfativa, existem alguns testes e equipamentos disponíveis no mercado internacional, sendo a maioria deles amplamente estudados na Europa e EUA. No entanto, há uma carência de avaliação desses instrumentos em outras regiões do mundo (SANTIN *et al.*, 2010). Os principais testes olfativos disponíveis no mercado são o teste com cartões do tipo “*scratch and sniff*” do *University of Pennsylvania Smell Identification Test* (UPSIT®) e o teste com canetas olfativas *Sniffin’ Sticks*®. Este último, foi validado no Brasil por Silveira-Moryama e colaboradores, em 2008 e em outro estudo no qual foi avaliada a função olfativa em pacientes com Doença de Parkinson (DP) no sul do Brasil (SANTIN *et al.*, 2010).

No presente estudo, foi realizado um teste piloto de um projeto pioneiro,

envolvendo a utilização de investigação olfativa em pacientes com CCL e DA no Brasil. O método utilizado foi a avaliação estendida dos *Sniffin' Sticks*[®], que compreende três testes distintos (limiar olfativo, discriminação e identificação olfativa) para analisar a capacidade olfativa de pacientes com DA e CCL, juntamente com dados de avaliações clínicas, bem como avaliações cognitivas complementares de uma população do sul do Brasil.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO PRINCIPAL

Avaliar a aplicabilidade do teste olfativo *Sniffin Sticks*[®] para auxílio no diagnóstico da DA em uma população do sul do Brasil.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ❖ Avaliar a prevalência de hiposmia em indivíduos saudáveis (CO), pacientes com CCL e pacientes com DA estágio inicial;
- ❖ Analisar a associação entre as avaliações olfativa, cognitiva e clínica.

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1. DOENÇA DE ALZHEIMER (DA)

No ano de 1906, o médico Alois Alzheimer, descreveu a doença que posteriormente levaria seu nome, como uma condição que envolvia declínio cognitivo progressivo associado a alterações comportamentais, com a presença de placas senis e agregados neurofibrilares, identificados *post mortem*, no cérebro de uma paciente. Ele referia-se ao estudo de caso de Auguste Deter, uma mulher saudável que, aos 51 anos de idade, desenvolveu um quadro de perda progressiva de memória, desorientação, distúrbio de linguagem (com dificuldade para compreender e se expressar), tornando-se incapaz de cuidar de si mesma. Décadas depois, descobriram que as placas eram compostas de proteína β amilóide e os agregados neurofibrilares eram compostos de proteína tau e tau fosforilada (FRISONI, G. *et al.* 2017).

A DA pode ter origem familiar ou genética (1 a 5% dos casos), ou pode ser classificada como DA esporádica (95 a 99% dos casos) (CANTER *et al.*, 2016). Geralmente, a DA de origem genética tem instalação precoce e a doença manifesta-se antes dos 65 anos de idade. Através de avaliação genética molecular de pacientes com DA esporádica foram encontrados vários polimorfismos genéticos que podem estar envolvidos em uma maior predisposição ao desenvolvimento da DA, tais como apolipoproteína E, que será discutida mais adiante nesse trabalho (CARAMELLI *et al.*, 2011).

A DA é uma doença diagnosticada na maioria das vezes na velhice. Porém, vários estudos de imagem, com avaliação de biomarcadores, demonstram que as alterações iniciam muito antes dos primeiros sintomas clínicos serem detectados. Esses indícios levam a crer que a doença inicia mesmo na meia idade e a fase terminal da doença é exatamente a demência diagnosticada nos idosos (LIVINGSTON *et al.*, 2017).

O principal fator de risco para o desenvolvimento de DA é a idade. Após os 70 anos, o risco de desenvolver a doença dobra a cada 5 anos. No entanto, estudos

observacionais demonstram que uma série de fatores de risco vasculares, bem como aqueles relacionados ao estilo de vida aumentam significativamente o risco de desenvolvimento de CCL e DA no envelhecimento. Cerca de um terço dos casos de DA a nível mundial podem ser atribuídos a sete fatores de risco modificáveis (baixos níveis de escolaridade, hipertensão e obesidade na vida adulta, diabetes, falta de atividade física, tabagismo e depressão), sendo, portanto, pontos que devem ser focados para a prevenção de demências (NGANDU *et al.*, 2015). Alguns estudos (FARFEL, 2013; TENG, 2013; DARBY, 2017; STUART, 2017); demonstram que indivíduos que tem uma alta atividade cognitiva no curso de sua vida, tem cerca de metade da probabilidade de serem diagnosticadas com DA, em comparação com indivíduos com baixa atividade cognitiva. A teoria da Reserva Cognitiva ou, a capacidade do cérebro de suportar danos sem impacto clínico, revela que elevados níveis de engajamento cognitivo ao longo da vida promovem conexões neurais fortes e eficientes, que parecem ter papéis neuroprotetores (STUART *et al.*, 2017), bem como parecem aumentar o intervalo de tempo entre a fase pré-clínica e a fase clínica da doença. A reserva cognitiva começou a ser estudada, pois nem sempre o nível de alterações histopatológicas detectadas nas autópsias era compatível com o comprometimento clínico do paciente. Estudos indicam que indivíduos com maior reserva cognitiva tendem a estender a fase pré-clínica da doença, seguido de brusco declínio cognitivo após um “ponto de virada” onde os mecanismos compensatórios deixam de funcionar (FOTENOS, 2008; SPERLING, 2011).

Os quadros demenciais são caracterizados por comprometimento progressivo da função cognitiva. De acordo com a *American Psychiatric Association* (2002), os déficits cognitivos devem ser graves o suficiente a ponto de comprometer o funcionamento ocupacional ou social e representar um declínio em relação a um nível anterior de funcionamento. O diagnóstico deve ser feito baseado em uma avaliação clínica cuidadosa, que inclua anamnese detalhada e exame físico minucioso, complementados por exames laboratoriais, bioquímicos e de neuroimagem. Os atuais critérios de classificação não contemplam os indivíduos clinicamente assintomáticos ou com sintomatologia inicial, mas que possuem marcadores biológicos positivos para

a doença.

Na última década, houve um grande progresso no que tange a identificação de biomarcadores para a DA, tais como: proteína β -amiloide e agregados neurofibrilares de proteína tau. Atualmente, utilizam-se técnicas para detecção desses biomarcadores, como avaliação de fluido cerebrospinal, marcadores por ressonância magnética nuclear (RMN), hipometabolismo temporal e parietal, fluorodeoxiglicose-PET (FDG-PET), hipoperfusão em tomografia, na tomografia por emissão de fóton único (SPECT), imagem de placas amiloides em PET-Pib, entre outros. No entanto, são exames complexos, às vezes invasivos e de alto custo. Além desses, existem os marcadores genéticos, dentre os quais se destaca o alelo ϵ 4 da Apolipoproteína E, que está presente em mais da metade dos pacientes com DA esporádica. A proteína APOE ϵ 4 está associada com a atrofia do córtex entorrinal, que recebe projeções sensoriais do bulbo olfativo, e ao volume dos lobos meso temporais e dificuldades no olfato. Alterações nos genes de preselina 1, preselina 2 e genes de proteína precursora de preselina (APP), além da trissomia do 21 (Síndrome de Down) estão mais relacionados com a DA de início precoce, com início antes dos 65 anos de idade (CARAMELLI *et al.*, 2011).

O depósito de proteínas A β , bem como o acúmulo de tau atuam em rotas paralelas que causam DA e ocorre um aumento de toxicidade recíproca entre as duas proteínas nesta doença (SCHELTENS *et al.*, 2016). Apesar da elucidação de biomarcadores para detecção precoce da doença, existem indivíduos que tem todas as características neuropatológicas da doença evidenciadas por autópsia e que jamais chegaram a desenvolver a fase demencial da DA. No entanto, resta a dúvida, se esses indivíduos desenvolveriam a doença se tivessem vivido por mais tempo (SPERLING *et al.*, 2011).

Assim, utilizando os critérios estabelecidos em 2011 por Sperling, *et al.*, Mc Kann, *et al.*, e Albert, *et al.*, o desenvolvimento da DA pode ser demonstrado de uma maneira bem didática e simplificada para fins de compreensão global da etiologia da doença. Cada etapa descrita a seguir possui várias particularidades que devem ser levadas em consideração em caso de pesquisa ou de estudo mais aprofundado. A

doença foi subdividida em três etapas distintas: DA pré clínico, DA clínico ou CCL e DA demencial (Figura 1). Deve ser ressaltado que, muitas vezes, o paciente pode desenvolver apenas a fase pré-clínica ou até a fase de CCL, sem jamais atingir o estado demencial (MCKHANN *et al.*, 2011).

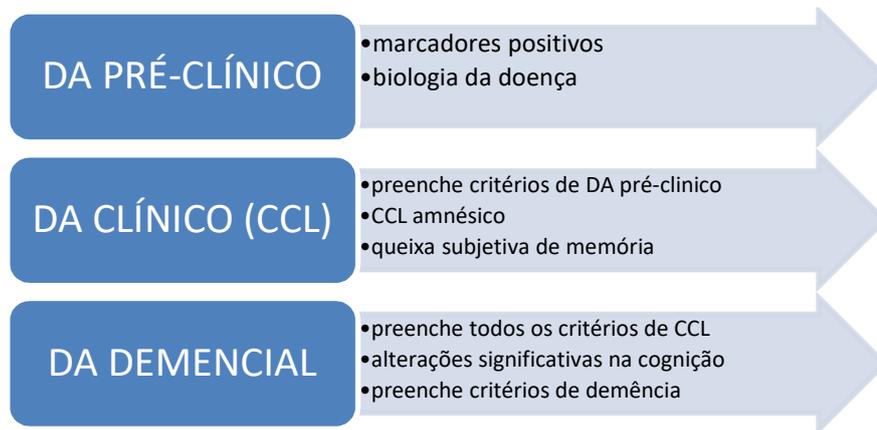


Figura 1: Esquema simplificado dos estágios da Doença de Alzheimer

Como, no presente projeto, a fase pré-clínica teve maior relevância, a seguir será apresentada a classificação segundo Reisa Sperling e colaboradores (2011), que definiram a fase pré-clínica da doença em três estágios distintos:

Estágio 1 - amiloidose cerebral assintomática => indivíduos tem marcadores β amiloide positivos (PET para β amiloide) e/ou baixos níveis de β amiloide no líquido, porém nenhuma outra alteração sugestiva de neurodegeneração ou sintomatologia clínica e comportamental.

Estágio 2 - amiloidose e evidências de disfunção sináptica e/ou sinais de neurodegeneração => disfunção neuronal nos exames de FDG PET e Ressonância Magnética Funcional (RMNf), elevadas concentrações de proteína tau e tau fosforilada no fluido cerebrospinal, atrofia hipocampal e/ou adelgamento cortical em RMN estrutural.

Estágio 3 - amiloidose, neurodegeneração e declínio cognitivo leve => esses indivíduos estão no último estágio pré-clínico antes da DA e estão no limite de progressão para CCL e DA. Eles devem demonstrar prejuízo quando comparados a eles mesmos em avaliações anteriores.

Além dos biomarcadores, devem ser consideradas também como marcadores da doença, as alterações cognitivas apresentadas pelos pacientes, medidas através de testes cognitivos amplamente validados e que sejam sensíveis a declínio de memória episódica, bem como, outros domínios cerebrais, que começam a declinar até uma década antes da instalação da demência. Estas avaliações têm maior validade quando se compara o desempenho do paciente com ele mesmo em intervalos de tempo (SPERLING *et al.*, 2011). No entanto, avaliações neuropsicológicas não podem ser consideradas biomarcadores para a DA por não terem padronizações e pontos de corte específicos para a doença; contudo, estas avaliações podem servir como um alerta para a investigação posterior com os biomarcadores já validados (FRISONI *et al.*, 2011).

Estudos recentes demonstram que pacientes com queixa subjetiva de memória em relação ao próprio passado, sem ter declínio cognitivo comprovado em avaliações neuropsicológicas, têm maior tendência a, futuramente, apresentarem CCL com progressão para DA ou não (SEO, E.H., KIM, H., CHOI *et al.*, 2017; JONKER, C., GEERLINGS, M., SCHMAND, B., 2016).

Poucos medicamentos estão disponíveis para o tratamento da DA. As principais intervenções ainda são feitas com Donepezila, Rivastigmina e Galantamina (anticolinesterásicos) e associação com Memantina (antagonista dos receptores-metil D-aspartato ou NMDA) para os estágios finais da doença. Esses medicamentos retardam a progressão da doença, porém não são ferramentas de cura para a mesma (LIVINGSTON, *et al.*, 2017). Apesar de as placas β -amiloides serem já definidas como biomarcadores eficazes para a doença, estratégias de tratamento focados na redução das placas mostram-se ineficazes na redução dos sintomas cognitivos. Esses dados levam a crer que o declínio cognitivo é resultado de uma fisiopatologia complexa e, focar apenas na proteína β -amiloide pode não ser suficiente para o tratamento da DA (CANTER *et al.*, 2016). Evidências de medicamentos já testados ou que estão em fases de testes demonstram que após significativo declínio cognitivo, os tratamentos propostos tendem a ser ineficazes. Atualmente, as buscas de tratamento estão migrando para a fase pré-clínica da doença, de forma a serem atingidos resultados

mais satisfatórios (SPERLING *et al.*, 2011).

DA pré-clínico compreende aqueles pacientes que tem a biologia da doença, ou seja, possuem marcadores positivos para a doença, porém sem manifestação clínica e sem perda cognitiva. Esses pacientes têm maior risco de desenvolver demência, mas podem nunca chegar nesta fase (ALBERT *et al.*, 2011).

De acordo com NAKAMURA, *et al.* (2017), a DA pode ser considerada um contínuo de estágios de doença pré-clínica, prodrômica (ou CCL) e demência propriamente dita. Em virtude disso, muitos esforços têm sido feitos no sentido de retardar ou interromper a progressão da doença antes que ocorra morte neuronal significativa.

Uma busca realizada no site americano *Clinical Trials* realizada em 10/02/2019, foram encontrados 494 estudos ativos relacionados a intervenções na DA, bem como 255 estudos ativos para CCL. Os dados mostram que muitos esforços vem sendo concentrados para encontrar intervenções capazes de reduzir/ curar os danos neurológicos e também para interromper a progressão desses danos (www.clinicaltrials.gov).

Uma vez estabelecido o diagnóstico de provável DA, podem ser aplicadas escalas de estadiamento da doença, como a escala de *Blessed* ou escala CDR (do inglês, *Clinical Dementia Rating*), que avaliam também o grau de dependência do paciente em relação às suas atividades diárias, mudanças de hábitos e distúrbios comportamentais. A escala CDR avalia a presença ou ausência de demência, e quando presente, sua severidade. O grau 0 (zero) na escala indica cognição normal; os graus 0,5, 1, 2 e 3 indicam CCL, demência leve, moderada e severa, respectivamente (VOS *et al.*, 2013). A escala CDR está detalhada no Anexo 1. Para nosso estudo, consideramos o CDR de 0,5, como CCL.

3.1.1 Exames para diagnóstico da doença de Alzheimer: biomarcadores

Os primeiros critérios para estabelecimento de diagnóstico da DA, foram

estabelecidos em 1983. Em 2011, ou seja, 27 anos depois, foi elaborada a primeira revisão naqueles critérios, sendo dada grande ênfase à fase pré-clínica da doença (McKAAN, G., 2011). As recomendações para o diagnóstico da DA no Brasil, elaboradas pelos membros do Departamento de Neurologia Cognitiva e do Envelhecimento da Academia Brasileira de Neurologia (FROTA, *et al*, 2011), levando em conta as recomendações para diagnóstico clínico da DA do Grupo de Trabalho do *National Institute on Aging* (NIA) e *Alzheimer's Association* (AA), em 2010, consideram as seguintes diretrizes:

- De acordo com o Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais 4ª Edição (DSM IV), da Sociedade Americana de Psiquiatria, o diagnóstico de demência caracteriza-se pela deterioração anormal e progressiva de pelo menos duas funções cognitivas (incluindo a memória), comprometendo as atividades da vida diária do paciente, não sendo causada por doença do humor ou *delirium*.
- Síndrome decorrente de alguma doença cerebral, na qual há perturbação de múltiplas funções corticais superiores, incluindo memória, pensamento, orientação, compreensão, cálculo, capacidade de aprendizagem, linguagem e pensamento. (Classificação de transtornos mentais e de comportamento da CID-10, 1993).
- Ainda, de acordo com FROTA, *et al*, (2011) o diagnóstico de DA, dividiu a mesma em três fases: demência, CCL e pré-clínica, sendo esta última somente para pesquisa clínica. Também são estabelecidos critérios para diagnóstico clínico da DA em: demência da DA provável, demência da DA possível e demência da DA definida.
- Exames de imagem, como tomografia e RMN do crânio, são importantes para descartar-se o diagnóstico de outras etiologias e comorbidades. A inclusão de biomarcadores, como proteína β -amiloide e proteína tau, é recomendada, por enquanto, apenas para pesquisa clínica.

3.1.1.1 Exame para detecção da variante genética da APO ϵ 4

APO ϵ 4 é o maior fator de risco genético para DA. O risco dos homozigotos para

APO ϵ 4 desenvolverem a doença é de cerca de 50%. APO ϵ 4 relaciona-se de várias maneiras com a DA, principalmente diminuindo o *clearance* de A β do cérebro, bem como em seu processamento em fragmentos neurotóxicos. No entanto, estudos a nível de genoma mapearam mais 20 regiões que parecem estar envolvidas na patologia, sendo que alguns fatores podem estar relacionados a idade e outros a um sistema de proteção para a DA. Todos esses fatores parecem interagir com o principal mecanismo da DA (SCHELTENS *et al.*, 2016). A presença do alelo ϵ 4 da APOE não é suficientemente específica para ser considerada nos novos critérios para DA provável com alto índice de certeza. A detecção da variante APOE, é um exame de sangue com custo aproximado de R\$ 350,00, em laboratório de análises clínicas na cidade de Porto Alegre.

3.1.1.2 Neuroimagem estrutural

Exames de tomografia computadorizada e RMN são muito utilizadas na avaliação inicial dos pacientes com demência. Os dois exames são capazes de excluir uma série de outras patologias, além de através da RMN ser possível avaliar questões de redução volumétrica do hipocampo, córtex entorrinal e cíngulo posterior que são sinais precoces da DA (CARAMELLI *et al.*, 2011).

3.1.1.3 Neuroimagem funcional

Dentro dessa categoria de exames, podem ser rastreados biomarcadores patológicos para a DA, tais como acúmulo de placas de proteína β -amiloide (PET - Pib) e agregados neurofibrilares de proteína tau. Ainda é possível a avaliação de biomarcadores de degeneração neuronal e disfunção sináptica, onde avaliam-se déficits regionais de perfusão e metabolismo em córtex têmporo-parietal posterior bilateral e giro cíngulo posterior/pré-cúneo avaliados, respectivamente, por SPECT e PET-FDG (CARAMELLI *et al.*, 2011).

Além dos exames supracitados, ainda é de grande valia a RMNf que é uma técnica semelhante à RMN e amplamente utilizada, diferindo da anterior devido a particularidade de se obter informações relativas às funções cerebrais. Dentre as técnicas utilizadas em RMf a mais empregada nos dias de hoje baseia-se no chamado efeito *BOLD*, do inglês *Blood Oxygenation Level Dependent effect*. Esse método toma

como princípio, o nível de oxigenação do sangue. A implicação prática é que o efeito *BOLD* pode ser usado para detectar indiretamente o aumento na atividade neuronal no momento em que um indivíduo realiza uma tarefa em particular, comparativamente a outro momento quando a tarefa não é executada (AMARO & YAMASHITA, 2001).

Atualmente esses exames estão disponíveis apenas na área de pesquisa no Brasil, devido à sua complexidade e custo elevado.

Algumas limitações dos biomarcadores devem ser ressaltadas, de acordo com Albert, *et al.* (2011):

- Poucos biomarcadores foram comparados uns aos outros em estudos multivariados;
- A validação dos mesmos em estudos *post mortem* é escassa;
- O uso de biomarcadores em combinação ainda é muito limitado;
- Padronização é complexa e os resultados ainda variam muito de um laboratório para outro.

Para aumentar a acurácia do diagnóstico, o ideal é que seja utilizada uma combinação de biomarcadores para amiloidose (PET-PiB ou LCR A β 42 ou A β 42: A β 40) com marcadores de neurodegeneração (atrofia hipocampal, PET-FDG ou pesquisa de tau e tau fosforilada no LCR), ou ainda, uma combinação de marcadores para amiloidose e taupatia (PET-PiB e LCR A β 42 ou A β 42: A β 40 ou tau e tau fosforilada) (FRISONI *et al.*, 2017).

3.2 COMPROMETIMENTO COGNITIVO LEVE (CCL) OU ESTÁGIO CLÍNICO DA DOENÇA DE ALZHEIMER

O CCL ou MCI (do inglês, *Mild Cognitive Impairment*), é um estágio intermediário entre envelhecimento normal e demência e é caracterizado por perda progressiva da memória, com função cognitiva global preservada, e sem maiores impactos na realização das atividades diárias. Estudos demonstraram que cerca de 10 a 15 % dos pacientes com CCL evoluem anualmente para DA, principalmente nos

primeiros anos após o diagnóstico de CCL (HUART *et al.*, 2015). Em um estudo coordenado por Peters *et al.* (2003), foi demonstrado que os pacientes com CCL já apresentam déficit olfativo em relação aos COs de mesma faixa etária, porém mais brando em relação aos pacientes com DA.

Como critérios diagnósticos estabelecidos pelo NIIA (ALBERT *et al.*, 2011), para ser classificado como CCL, deve, primeiramente, haver queixa de memória (pelo próprio paciente, informante ou médico). Além disso:

- a) Apresentar alteração na cognição em relação a uma avaliação anterior;
- b) Deve haver declínio em um ou mais domínios cognitivos (memória, funções executivas, atenção, linguagem e habilidades visuoespaciais);
- c) Deve haver preservação de independência em habilidades funcionais, apenas com leves dificuldades em atividades como: pagamento de contas, preparo de refeições, lembrança de lista de compras, etc.);
- d) O paciente não deve apresentar demência.

O diagnóstico para CCL requer evidência de alteração de cognição intraindividual. A cognição do paciente apresenta-se fora do normal para idade e nível de educação. Apesar da evolução em critérios diagnósticos, o prognóstico desses pacientes ainda é incerto. Até 50% dos pacientes com CCL não progridem para demência. A importância do estabelecimento de critérios diagnósticos e biomarcadores eficazes para essa fase mostra-se imprescindível para o diagnóstico correto e tratamento de pacientes com algum tipo de neurodegeneração progressiva (FRISONI *et al.*, 2017).

3.3.OLFATO

A sensibilidade e alcance do sistema olfativo é notável, capacitando os organismos a detectarem e discriminarem entre milhões de compostos, em sua maioria, orgânicos e de baixo peso molecular, aos quais chamamos de odores. O nariz humano, de certa forma é considerado um artigo de luxo; porém em todo o reino animal, de bactérias até mamíferos, a capacidade de detectar substâncias químicas

no ambiente é crucial para a manutenção da sobrevivência. Essa importância fica claramente exemplificada, quando nos damos conta que até 4% do genoma de eucariotos codifica proteínas envolvidas com o sistema olfativo (FIRESTEIN, S., 2001).

Ao contrário dos sistemas sensoriais visão e audição, pouco se sabe sobre o mecanismo do sistema olfativo humano. Muitas questões anatômicas e fisiológicas permanecem desconhecidas, apesar de já estar elucidado que o olfato é parte integrante de um sistema multissensorial interligado (EIBENSTEIN *et al.*, 2005).

Olfato e memória estão intimamente conectados, pois ambos envolvem processamento neuronal no hipocampo, que é responsável por conectar elementos de uma experiência, incluindo informações sensoriais, para criar memórias (EICHENBAUM, H., 1998).

O córtex olfativo primário inclui a amígdala, que processa experiências e memórias emocionais, e o hipocampo, que está envolvido com aprendizagem associativa. Sendo assim, o simples ato de “cheirar” ativa o complexo “amígdala-hipocampo”. Já o córtex olfativo secundário (córtex orbito frontal) é a área cortical responsável por atribuir valor afetivo ao estímulo. Por último, ao contrário dos outros sentidos, onde é necessário um processo de integração neural no tálamo antes da informação ser processada no córtex, a informação olfativa é processada indiretamente pelo núcleo médio dorsal do tálamo, sendo este responsável por modular a atenção olfativa, e o processamento primário dos odores acaba por ocorrer no complexo amígdala-hipocampo do sistema límbico. Nenhum de nossos outros sentidos, possui tal integração com áreas do cérebro que processam emoção, aprendizagem associativa e memória (HERZ, 2016).

A base do nosso sistema olfativo está em nosso nariz, onde estão localizadas duas câmaras (as narinas), separadas por um septo. A porção lateral dessas câmaras está recoberta por um epitélio altamente vascularizado, responsável por aquecer, umidificar e limpar o ar que respiramos. Apenas 10% do que respiramos atinge o epitélio olfativo, localizado no terço superior da cavidade nasal. As moléculas

odoríferas penetram na mucosa e ativam os receptores olfativos. As moléculas odoríferas ligam-se a mais de um receptor olfativo, gerando diferentes tipos de sinais para o bulbo olfativo e dali o estímulo segue para diferentes áreas do cérebro como sistema límbico, cerebelo e ínsula. Temos cerca de 6 a 30 milhões de neurônios receptores olfativos que são continuamente renovados. Essa capacidade de regeneração diminui com o envelhecimento. Nosso genoma codifica cerca de 380 receptores olfativos diferentes, e grande parte dos receptores estão acoplados a proteína G, onde uma única célula ciliar expressa somente um tipo de receptor. Na maioria dos casos, um único receptor responde a uma gama de odores, e uma única molécula química pode estimular vários conjuntos de receptores. (HÜTTENBRINK *et al.*, 2013; MORLEY *et al.*, 2018).

Com o envelhecimento, ocorrem alterações significativas em nosso epitélio nasal, tais como atrofia, diminuição do aporte sanguíneo da mucosa e diminuição da elasticidade. Ainda, ocorre uma diminuição no tamanho e número de forâmens na placa cribiforme, o que pode levar a um impedimento dos axônios dos receptores olfativos de acessarem o cérebro, partindo do epitélio olfativo. O bulbo olfativo também sofre atrofia, bem como o número de camadas que o compõem. Apesar de todas as alterações a nível celular e anatômico, essas alterações contribuem muito menos para a perda de olfato do que os danos causados por infecções respiratórias, rinite crônica e exposição a xenobióticos (DOTY; KAMATH., 2014).

Um estudo realizado na Alemanha, com mais de 3000 pessoas, demonstrou a relação idade e gênero sobre o olfato. Segundo o estudo, normalmente, as mulheres têm melhor performance olfativa do que homens, principalmente nos grupos de idade compreendidos entre 16 e 55 anos. Essa diferença de gêneros ainda não está muito bem elucidada. Acredita-se que possam contribuir para essa interferência alguns hormônios, habilidades verbais, ou fatores congênitos (HUMMEL *et al.*, 2007). Em termos de idade, a melhor performance olfativa ocorre entre os 20 e 40 anos (SANTIN *et al.*, 2010).

3.3.1 Distúrbios olfativos

O olfato nos serve como uma proteção, para evitar a ingestão de alimentos degradados, alertar sobre perigos como vazamento de gás ou alerta de incêndio. Além disso, também tem um papel crucial no paladar, para sentirmos o sabor mais rico de alimentos e bebidas. É através do olfato é possível verificar que nossa casa e nossas roupas estão limpas. Através dele, é possível contemplar o aroma das flores, festividades, pessoas, perfumes, produtos de higiene pessoal e a natureza em si (por exemplo: montanhas, praias). Sendo assim, quando há uma perda significativa do olfato, ocorre impacto na segurança, no apetite, na nutrição e no bem-estar físico e emocional (DOTY; KAMATH, 2014). Como cerca de 70% do paladar humano é influenciado pelo olfato, quando há déficit olfativo é muito comum haver complicações em doenças preexistentes; sendo assim, para haver uma compensação à diminuição do “sabor” dos alimentos, ocorre aumento da ingestão de sal e açúcar, o que é preocupante em pacientes que já tenham problemas de hipertensão arterial ou diabetes *mellitus*, respectivamente (DOTY, 2005).

Ao investigar o déficit olfativo dos pacientes, é de extrema importância, levar em conta seu histórico médico detalhado: o paciente deve ser questionado sobre o início dos sintomas (quando ele tiver a percepção o problema), a forma como o déficit se instalou (forma abrupta ou lentamente), tipo de problema observado, histórico de doenças prévias, medicamentos que o paciente já fez uso ou ainda faz. Pode ainda, fazer-se uso de uma endoscopia nasal, avaliação clínica com neurologista e até exames de RMN, em casos de suspeita de anosmia congênita (HÜTTENBRINK *et al.*, 2013; KÜHN *et al.*, 2013).

Cerca de 70% dos casos de anosmia ou hiposmia crônica são secundários a algum tipo de trauma na porção frontal do cérebro, pacientes com sinusopatias ou com infecções respiratórias prévias (DOTY, 2005). Outras causas para alterações olfativas podem estar relacionadas a pacientes idosos com doenças psiquiátricas como depressão, esquizofrenia e distúrbio bipolar. Em doenças neurodegenerativas, como Doença de Parkinson (DP) e DA também são encontradas significativas alterações olfativas, principalmente, hiposmia ou até anosmia (KÜHN *et al.*, 2016).

Ainda, devem ser citadas causas mais raras de anosmia, como: hipoplasia de bulbos olfativos (síndromes de Charge e Kallmann) e alguns meningiomas benignos (LEBOUCQ *et al.*, 2013).

De acordo com Kühn *et al.* (2016), os distúrbios olfativos podem ser classificados da seguinte forma:

- Hiposmia: diminuição da capacidade olfativa.
- Parosmia: alteração no reconhecimento dos odores. Reconhecimento distorcido de odores.
- Fantosmia: sensação de odores que não existem. Intermitente ou constante.
- Anosmia: perda total ou quase total da capacidade de identificar e perceber odores.
- Hiperosmia: hipersensibilidade olfativa.
- Intolerância olfativa: hipersensibilidade a alguns odores, apesar de capacidade olfativa estar dentro do normal (normosmia).

Durante o processo de envelhecimento, observa-se um aumento da incidência de deficiências sensoriais, aliados ao declínio cognitivo, cada um tendo suas consequências no sistema de saúde e na qualidade de vida do paciente. A perda olfativa é muito comum em idosos, podendo estar presente em mais da metade da população entre 65 e 80 anos e até três quartos da população acima de 80 anos. e ocorre predominantemente em homens. Essa diferença está supostamente relacionada ao número de células que compõem o bulbo olfativo ser cerca de 40 a 50% superior nas mulheres. O tipo de alteração olfativa devida ao envelhecimento, normalmente está relacionado e fica evidente em testes de limiar olfativo, sugerindo que as alterações ocorram mais a nível de epitélio olfativo (HUMMEL *et al.*, 2007; (MARIN, VILAS, LANGDON *et al.*, 2018). No entanto, não existem muitos estudos que avaliam especificamente a perda olfativa que ocorre com o envelhecimento. Na maioria deles, o estudo de perda olfativa acompanha pesquisas de demência (DOTY *et al.*, 2014).

Wilson e colegas (2007) sugerem que essa perda olfativa nos idosos parece

estar relacionada ao acúmulo de agregados neurofibrilares. Para uma avaliação sobre a qualidade do olfato de um paciente, deve ser feita a diferenciação de causas de disosmia traumáticas, sino nasais e não sino nasais. Além do histórico médico do paciente, devem ser considerados exames completos de ouvidos, nariz e garganta, incluindo endoscopia nasal e testes olfativos (como os citados no item 3.3.2 do presente trabalho), além de exames de imagem complementares como RMN (KÜHN *et al.*, 2016).

3.3.1.1 Hiposmia em doenças neurodegenerativas

A hiposmia é muito bem marcada em pacientes com doenças neurodegenerativas, principalmente quando pensamos em DA e Doença de DP. Já em doenças como Síndrome Amnésica, Esclerose Lateral Amiotrófica e Doença de Huntington, essa alteração no olfato é muito mais branda (MARTZKE *et al.*, 1997).

Na DP a hiposmia em geral aparece de 4 a 8 anos antes do diagnóstico da doença, podendo aparecer até 20 anos antes. Já na DA, a hiposmia ocorre cerca de 10 anos antes de aparecerem os sintomas cognitivos e, conseqüentemente, antes do diagnóstico da doença (BAHAR; FUCHS, 2010). O baixo desempenho em testes olfativos em indivíduos cognitivamente saudáveis, tem sido considerado um fator preditivo de decréscimo cognitivo futuro e diagnóstico de DA nos 2 a 5 anos subsequentes ao déficit olfativo detectado. Além disso, a intensidade da deficiência olfativa parece correlacionar com o grau de avanço da doença (GROWDON *et al.*, 2015).

Uma explicação para o olfato ser atingido de maneiras diferentes nas doenças neurodegenerativas, pode estar nos sistemas de neurotransmissores, que podem influenciar o olfato diretamente (por exemplo, afetando a transmissão neural ou a função da micróglia) ou indiretamente (alterando a regeneração no epitélio olfativo e possivelmente na região subventricular) (DOTY, 2017).

A avaliação do olfato tem maior relevância em fases pré-clínicas de doenças neurodegenerativas, podendo sinalizar patologias em determinadas regiões cerebrais, bem como pode ser útil para monitoramento da progressão dessas doenças

(XYDAKIS; BELLUSCIO, 2017). Apesar de ser difícil, apenas através da avaliação olfativa, diferenciar DPI de DA no estágio pré-clínico (HÄHNER, *et al.*, 2010; HÜTTENBRINK, *et al.*, 2013), a literatura demonstra que na DPI as alterações olfativas comprometem principalmente o limiar olfativo, enquanto na DA avaliações de discriminação e identificação sofrem maior prejuízo (MARIN, VILAS, MANGDON, *et al.*, 2018).

3.3.1.1.1 Hiposmia na DA

A hiposmia na DA foi reportada pela primeira vez, cerca de 40 anos atrás, em 1973, e hoje sabe-se que pacientes com esta patologia tem função olfativa debilitada, fluência olfativa, memória de reconhecimento olfativo e percepção de limiar olfativo alterados (VELAYUDHAN, 2015). Estudos demonstraram que a hiposmia relatada em pacientes com DA está mais relacionada aos agregados neurofibrilares de proteína tau do que com o acúmulo de placas de β -amilóide (DOTY; KAMATH, 2014).

O desempenho em testes olfativos de pacientes saudáveis, porém portadores de um ou mais alelos APOE ζ 4, também é mais baixo (DOTY, 2017). Além disso, pessoas que já têm anosmia diagnosticada e portadoras de um alelo APOE ζ 4 tem risco aumentado em cerca de 5 vezes para desenvolverem DA (VELAYUDHAN, 2015).

Alguns autores sugerem que a deficiência olfativa na DA é lateralizada (STAMPS, 2013), ou assimétrica (BAHAR FUCHS, 2010; DOTY, 2014; HUART, 2015). Os primeiros autores a levantar essa hipótese foram Bahar e Fuchs, (2010), que sugeriram avaliação olfativa lateralizada, baseados em avaliações que demonstravam progressão assimétrica de alterações neuropatológicas em estruturas nos lobos mesotemporal direito e esquerdo e que estão ligadas a DA. Os autores também sugerem que o déficit olfativo não parece estar associado ao depósito de placas β -amiloides, mas sim com agregados neurofibrilares. Um pouco mais tarde Stamps *et al.* (2013), conduziram um estudo de identificação olfativa usando um método muito simples de identificação da distância de detecção olfativa, usando pasta de

amendoim. Eles identificaram que havia diferença quando avaliava separadamente a narina direita e esquerda de pacientes com DA, comparado com CCL e com outras demências. Um ano depois, em 2014, Doty *et al.*, tentaram reproduzir o estudo de Stamps, porém não conseguiram comprovar a assimetria olfativa em pacientes com provável DA. Uma das explicações para isso talvez seja o uso de metodologia diferente e população com características diferentes. Em 2015, Huart *et al.*, conduziram um estudo onde foram encontradas evidências de assimetria olfativa nos pacientes com CCL; porém, não houve uma predominância de lateralização. Os autores também encontraram evidência de que o potencial de memória evocado tem estreita relação com a função do lobo temporal medial onde, tipicamente, iniciam as lesões na DA. Esses dados estão em acordo com o déficit de potencial de memória evocado e disfunção olfativa precoce no curso da DA.

De acordo com Peters *et al* (2003), o déficit olfativo observado em pacientes com CCL e DA em estágio inicial não está relacionado à deficiência na memória de trabalho e déficits na categorização semântica. Os autores do estudo sugerem que o déficit olfativo está relacionado a ausência de resposta eletrofisiológica a um estímulo olfativo associado a um desenvolvimento neuropatológico específico das regiões mediais temporais, incluindo o córtex olfativo primário.

Em um estudo longitudinal, Wilson e colaboradores (2009), submeteram anualmente 471 idosos sem demência ou déficit cognitivo à avaliação olfativa por um período de 5 anos e meio, e, posteriormente, 31 deles foram autopsiados. De uma maneira geral, escores baixos no *Brief Smell Identification Test* (teste do tipo “*scratch and sniff*” com 12 odores) foram associados a um declínio mais rápido e intenso de memória episódica e também ao desenvolvimento de CCL um alto grau de patologia de AD (avaliação de placas amilóides de agregados neurofibrilares) em pacientes autopsiados.

Um estudo publicado na Noruega, conseguiu demonstrar a correlação entre o déficit olfativo, medido por avaliações de identificação olfativa em pacientes com CCL amnésico e DA, e a redução de volume hipocampal (RMN 3D 3 Tesla). (KJELVIK *et al.*, 2014).

O córtex entorrinal, responsável por mediar a informação olfativa do sistema olfativo primário ao hipocampo, parece ter um papel central no que diz respeito ao déficit olfativo na DA. Uma vez que é uma das primeiras áreas afetadas na patogênese da DA e é conhecida por seu papel na geração e evocação de memórias de longo prazo, também exerce papel importante na integração de informações sensoriais. Sendo assim, baseado na degeneração do córtex entorrinal, a diminuição do olfato pode aparecer nos estágios mais iniciais da DA (PARK *et al.*, 2018). Ainda, o volume do córtex entorrinal diferencia muito bem pacientes que irão converter para DA daqueles que não irão converter, muito antes de apresentar sintomas de demência (DAULATZAI, 2015; DEVANAND *et al.*, 2008).

Nos estudos que avaliam capacidade olfativa de pacientes com DA, observa-se declínio nas três avaliações olfativas disponíveis (KOVACS *et al.*, 2004; VELAYUDHAN, 2015), no entanto, as habilidades olfativas mais afetadas na DA são discriminação e identificação olfativa (FUSETTI, 2010; SELIGMAN, 2013; YU, 2018). Os estudos que utilizam avaliação de discriminação olfativa são os mais questionados na comunidade científica, devido ao seu alto nível de complexidade. Essa é uma diferença em relação aos pacientes com DP, por exemplo, pois os mesmos apresentam mais dificuldades nos testes de limiar olfativo (MARIN, VILAS, MANGDON, *et al.*, 2018).

Em um estudo realizado com na Universidade da Pensilvânia, com cerca de 730 indivíduos (262 DA, 150 CCL amnésico, 25 CCL não amnésico, 292 COs), Megan Quarmley e colaboradores (2017) utilizaram o teste de identificação do método *Sniffin Sticks*[®] como método suplementar a avaliação cognitiva feita através do teste Avaliação Cognitiva Montreal (MoCA, do inglês, *Montreal Cognitive Assessment*) e obtiveram excelentes resultados para auxiliar na classificação destes pacientes, encontrando diferenças significativas em relação ao grupo CO de mesma idade. Nesse estudo, os resultados da habilidade olfativa foram significativamente inferiores para pacientes com DA, em relação ao grupo CO. Pacientes com CCL amnésico apresentaram déficit significativamente maior do que os CCLs não amnésicos e superior aos pacientes com DA.

Cabe aqui ressaltar que, em um estudo conduzido em Seul (Coréia do Sul), avaliando olfato (identificação olfativa) de indivíduos com CCL amnésico (50) e não amnésico (28), bem como indivíduos com queixa subjetiva de memória (17), o comprometimento do olfato foi mais severo nos grupos de DA, e CCL amnésico, do que nos grupos de CCL não amnésico e queixa subjetiva de memória (PARK *et al.*, 2018).

Em um estudo exploratório, foi observado a aplicabilidade de avaliação olfativa (teste UPSIT) como um marcador clínico para avaliar a resposta dos pacientes ao tratamento com Donepezila. Houve aumento significativo nos escores do teste olfativo, correlacionado a uma melhora clínica global dos pacientes após 16 semanas de tratamento. A avaliação olfativa, associada aos testes cognitivos, permitiria um resultado mais quantitativo à essa resposta individual do paciente ao tratamento. (VELAYUDHAN; LOVESTONE, 2009).

Uma pesquisa conduzida em Harvard (EUA), demonstrou a correlação entre olfato e neurodegeneração, através da avaliação do volume hipocampal e a espessura do córtex entorrinal. No grupo CO de idosos, um desempenho pior na identificação olfativa estava relacionado a marcadores de neurodegeneração. Indivíduos com proteína amiloide cortical elevada e córtex entorrinal menos espesso, tiveram pior performance olfativa, o que demonstra a validade de utilizar avaliação do olfato para detectar DA em estágios pré-clínicos. (GROWDON, SCHULTZ, DAGLEY *et al.*, 2015).

3.3.2 Métodos para avaliação do olfato

Avaliações olfativas, de uma maneira geral, não fazem parte dos exames de rotina na clínica médica, sendo a capacidade olfativa, muitas vezes avaliada apenas nas queixas dos próprios pacientes. O problema é que, na grande maioria dos casos, os pacientes não percebem a perda da capacidade olfativa. Há um consenso de que as autocríticas em relação ao olfato são específicas, porém muito pouco sensíveis. Em um estudo realizado nos Estados Unidos 74,2% dos pacientes avaliados que tinham perda da capacidade olfativa, não a reconheciam (ADAMS *et al.*, 2016).

Os primeiros testes clínicos para avaliação de olfato surgiram na década de 80 (DOTY *et al.*, 1984). Existem também testes eletrofisiológicos de olfato (potencial evocado olfatório) que não são práticos no dia-a-dia da clínica, além de adicionarem muito pouco aos testes psicofísicos.

Os testes olfativos dependem da participação ativa do paciente e incluem:

- ✓ Testes de Identificação de Odores: avaliam a habilidade de reconhecer odores já familiares a pessoas de uma determinada cultura.
- ✓ Testes de Limiar Olfativo: avaliam a menor concentração de determinado odor que é capaz de ativar os receptores olfativos. Para esses testes, concentrações crescentes de um mesmo odor são apresentadas e o objetivo é determinar a menor concentração que o sujeito é capaz de perceber.
- ✓ Testes de Discriminação de Odores: avaliam a habilidade em detectar odores diferentes entre si.
- ✓ Testes de Memória Olfativa: o objetivo é testar se o paciente reconhece um odor previamente experimentado.

Os testes acima descritos geralmente são de resposta forçada, em que o paciente deve escolher uma entre algumas alternativas que podem ser escritas ou apresentadas na forma de figuras.

O limiar olfativo normalmente é influenciado por áreas mais periféricas do sistema olfativo, enquanto que a discriminação e a identificação são, em parte, habilidades cognitivas que são influenciadas por estruturas olfativas centrais (KOVÁCS, 2004). Sendo assim, existe uma correlação entre as avaliações de discriminação e identificação olfativas com as avaliações neurocognitivas, ou seja, participantes com melhor desempenho em funções executivas, memória semântica e episódica, acabam tendo melhor desempenho nas avaliações de identificação e discriminação (HEDNER *et al.*, 2010). Normalmente, nos testes de avaliação da capacidade olfativa, o limiar olfativo é avaliado frente a um único odor específico. Isso não deixa de ser uma limitação, uma vez que se sabe que pode existir anosmia específica para um ou mais odores (BOESVELDT *et al.*, 2017). Sendo assim, se o

paciente não identificar o odor apresentado, pode ser devido a redução da capacidade olfativa, mas também pode ser uma característica de simplesmente não ser sensível àquele determinado odor.

Na maioria dos estudos, são realizados apenas testes de identificação de odores. Os testes de limiar olfativo e discriminação de odores são mais aplicados na área de pesquisa. A identificação olfativa requer vias aéreas totalmente livres, bem como, ligação e ativação sensorial pelas moléculas odoríferas nos neuroreceptores epiteliais, mas também funções cerebrais mais complexas para percepção e transdução da informação para componentes verbais semânticos. O limiar olfativo em geral é utilizado para diferenciar disfunção periférica a nível de receptores nasais (por exemplo: anosmia pós viral, uso inalatório de tabaco, exposição a produtos químicos voláteis), do déficit de identificação olfativa central (XYDAKIS, BELLUSCIO, 2017).

Os testes para avaliação olfativa mais utilizados nas pesquisas atualmente são *University of Pensilvania Smelling Test (UPSIT)* (Sensonics Inc., Haddon Heights, New Jersey, USA) (DOTY *et al.*, 1984) e o *Sniffin' Sticks* (HUMMEL *et al.*, 1997). Os escores de normalidade variam de acordo com a faixa etária (SHIP *et al.* 1993).

3.3.2.1 University of Pensilvania Smelling Test (UPSIT)

O teste olfativo UPSIT consiste em diferentes cartelas do tipo “*scratch and sniff*” contendo quatro alternativas de fragrâncias que são raspadas e apresentadas ao paciente, totalizando 40 odores distintos, onde são realizados apenas testes de identificação olfativa. As cartelas podem ser utilizadas uma única vez e são descartáveis.

3.3.2.2 Sniffin' Sticks® (Burghart Medizintechnik, Gemany)

Os testes de canetas olfativas são largamente utilizados como metodologia para avaliação da capacidade olfativa na Europa. O teste *Sniffin' Sticks*® têm várias combinações diferentes, podendo ser realizados testes de limiar, discriminação de odores e identificação olfativa (com 16 odores diferentes). Trata-se de um teste que utiliza um conjunto de canetas com odores. Segundo recomendações do fabricante, deve ser realizado em uma sala bem ventilada, sempre pelo mesmo investigador.

Cada uma das canetas deve ser apresentada por não mais que 4 segundos após retirada a tampa, colocada em frente as fossas nasais do paciente, sem que se toque a pele. O intervalo entre as canetas deve ser de aproximadamente 20 segundos. O resultado absoluto é um valor numérico (escore TDI), correspondente à soma dos resultados das avaliações de limiar, discriminação e identificação (HUMMEL; KOBAL; ;GUDZIOL; H.MACKAY-SIM, 2007).

Muitos estudos são feitos utilizando apenas o teste de identificação, com 16 canetas com a ponta perfumada, contendo odores em concentrações superiores ao limiar olfativo, onde o paciente deve escolher dentre 4 alternativas de descritores. Isso se deve ao fato da praticidade do método e rapidez com que pode ser aplicado. O teste original foi inclusive complementado por mais 16 odores suplementares (RUMEAU; NGUYEN; JANKOWSKI, 2016). O teste de identificação foi validado para o Brasil, sendo a lista de descritores adaptada à nossa cultura (SILVEIRA-MORIYAMA *et al*, 2008).

3.3.2.3 Olfatômetros

Olfatômetro é um equipamento utilizado para medir a detecção de substâncias aromáticas presentes em um determinado ambiente, encontrando aplicações nas áreas industrial, farmacêutica, alimentícia ou biomédica. É um equipamento que, comparando a subjetividade dos sentidos humanos em relação à presença de substâncias odoríferas, é capaz de qualificar e quantificar o sentido do olfato humano. Entre outras aplicações, o olfatômetro pode ser utilizado para medir o limiar de percepção de substâncias sólidas ou líquidas, com a introdução destas em concentrações conhecidas em um ambiente controlado de maneira precisa (LUNDSTRÖM *et al.*, 2010).

4. MÉTODOS

4.1 DELINEAMENTO DO ESTUDO

Trata-se de estudo observacional, analítico, transversal.

4.1.1 População e Amostra

O estudo foi realizado com pacientes que consultaram nos Ambulatórios de Neurologia e de Neuropsicologia do Hospital São Lucas (HSL) da PUCRS por algum tipo de déficit cognitivo. Também foram encaminhados para o estudo pacientes dos consultórios médicos do neurologista e da neuropsicóloga participantes da equipe e mencionados na presente dissertação.

O critério para divisão dos pacientes nos grupos CO, CCL e DA foi o resultado do estadiamento clínico de demência (CDR) e a avaliação do médico neurologista da equipe. Sendo assim, foram incluídos no grupo CO, indivíduos com CDR 0; no grupo CCL, indivíduos com CDR 0,5 e no grupo DA, CDR 1 ou 2.

4.1.2 Procedimento Amostral

Trata-se de uma amostra por conveniência (não probabilística) sequencial coletada no período de setembro de 2018 a fevereiro de 2019 nos locais descritos no item 4.1.1. Os grupos foram definidos de acordo com a classificação CDR.

4.1.3 Critérios de Seleção

A seguir apresentamos os critérios de inclusão e de exclusão utilizados para participantes do estudo.

4.1.3.1 Critérios de Inclusão: Foram incluídos no estudo, pacientes com idade a partir de 60 anos, com diagnóstico de CCL amnésico (CDR 0,5) ou pacientes que preenchiam critérios para DA típica em estágio demencial (porém apenas classificados como demência leve e moderada– CDR 1 e 2) segundo os critérios IWG-2 (DUBOIS *et al.*, 2014) e que estivessem sendo acompanhados pelo Ambulatório de Neurologia no HSL-PUCRS.

4.1.3.2 Critérios de Exclusão: Foram excluídos do estudo aqueles indivíduos com diagnóstico de outras doenças neurodegenerativas ou transtornos psiquiátricos graves (incapacitantes), pacientes com história de traumatismo cranioencefálico (TCE), neuroinfecção e doenças vasculares além de pacientes com uso atual ou prévio de drogas ilícitas, com histórico de doenças nasais crônicas e/ou com sintomas de doença de vias aéreas no momento da avaliação e pacientes fumantes, pois estas condições estão associadas a hiposmia. Por fim, foram excluídos aqueles com história de rinite alérgica causada por perfumes.

O grupo CO foi definido, utilizando-se indivíduos saudáveis, com mais de 60 anos, que não preenchessem nenhum critério de exclusão e sem queixas de memória, com CDR obrigatoriamente igual a 0 (zero). Em casos de dúvida em relação a classificação de determinado paciente em um grupo, a definição final ficava a critério do neurologista da equipe, especialista em cognição.

4.2 COLETA DE DADOS

A coleta de dados teve início após a aprovação do projeto de pesquisa pelo Comitê de Ética e Pesquisa da PUCRS (CAAE 91279618.7.0000.5336). A coleta foi realizada com pacientes encaminhados pelos Ambulatórios de Neurologia e Neuropsicologia do HSL-PUCRS e os Consultórios Médicos do Neurologista e Neuropsicóloga da equipe de pesquisa, localizado no centro Clínico da PUCRS.

Os pacientes foram questionados quanto ao interesse em participar do presente estudo. Aqueles que decidiram participar primeiramente foram convidados à leitura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Apêndice 1) que contém os objetivos do presente estudo e confidencialidade dos dados que seriam coletados. Os CO saudáveis foram selecionados aleatoriamente, podendo ser cônjuges de pacientes, conhecidos, cuidadores, etc. Os participantes da pesquisa assinavam duas vias do termo, sendo que uma ficava com o participante e a outra com os pesquisadores. Após assinatura do termo, a avaliação prosseguia com um questionário sobre as condições de saúde e aspectos socioculturais (Apêndice 2).

Os pacientes com DA foram submetidos a escalas de avaliação clínico-funcionais já validadas e amplamente usadas tanto na pesquisa quanto na prática clínica, conforme descrito abaixo. Para todos os participantes que preenchem os critérios de inclusão do estudo, foram realizadas: avaliação cognitiva para investigar funcionamento cognitivo e os testes psicofísicos do olfato (*Sniffin' Sticks*[®]). Todos os pacientes eram questionados a respeito de percepção ou não de alterações em seu olfato.

Seguem abaixo as descrições dos instrumentos de pesquisa que foram utilizados neste estudo:

4.2.1 Escala de estadiamento de demência CDR (do inglês, *Clinical Dementia Rating*)

A escala CDR é um instrumento qualitativo que avalia a presença ou ausência de demência, e quando presente, sua severidade. A escala não é sensível ao nível de escolaridade e possui sensibilidade de 100% e especificidade de 86 %, considerando pacientes com demência e idosos saudáveis (ENGELHARD *et al*, 2011). O grau 0 (zero) na escala indica cognição normal; os graus 0,5; 1, 2 e 3 indicam CCL, demência leve, moderada e severa, respectivamente (VOS *et al*, 2013). A escala CDR está detalhada no Anexo 1.

O CDR avalia cognição e comportamento, além da influência das perdas cognitivas na capacidade de realizar adequadamente as atividades de vida diária. São avaliadas seis habilidades cognitivo comportamentais, a saber: memória, orientação, julgamento ou solução de problemas, relações comunitárias, atividades do lar ou de lazer e cuidados pessoais. São atribuídas notas de 0,5 até 3 para cada habilidade, sendo que a memória é a que tem maior peso para cálculo da nota final (MONTAÑO; RAMOS, 2005). A avaliação é realizada por meio de uma entrevista não estruturada, com uma pessoa próxima ao paciente (familiar ou cuidador). O resultado final é calculado de acordo com as normas estabelecidas por Morris, em 1993. No presente estudo foi utilizada a calculadora online, baseada nos critérios de Morris, disponível em: <https://www.alz.washington.edu/cdrnacc.html>.

Não existem pontos de corte baseados em estudos populacionais, uma vez que

a finalidade da escala é a comparação do indivíduo com ele mesmo em espaços de tempo.

4.2.2 Avaliação cognitiva

Compreende a utilização de diferentes testes, capazes de avaliar o funcionamento da memória e demais funções cognitivas, como atenção, aprendizado de memória verbal, linguagem e habilidades visuoespaciais. Os testes realizados seguiram a rotina do Ambulatório de Neuropsicologia do HSL, conforme critérios da neuropsicóloga da equipe. A seguir serão descritos os principais testes que foram aplicados neste estudo:

4.2.2.1 Mini Exame do Estado Mental (MEEM): Trata-se de um teste de rastreio da função cognitiva. Sua aplicação é rápida, levando cerca de 10 minutos, e fácil, pois não requer material específico. A pontuação varia de 0 (zero) (maior comprometimento cognitivo) a 30 (melhor capacidade cognitiva) e avalia superficialmente vários domínios cognitivos, dentre eles orientação espacial (5 pontos) e temporal (5 pontos), registro de 3 palavras – memória imediata (3 pontos), atenção e cálculo (5 pontos), recordação de 3 palavras (3 pontos), linguagem (8 pontos) e capacidade construtiva visual (1 ponto). Os pontos de corte utilizados no experimento foram: 20 (analfabeto); 25 (1 a 4 anos escolaridade); 27 (5 a 8 anos de escolaridade); 28 (9 a 11 anos escolaridade); 29 (mais de 11 anos de escolaridade) BRUCKI *et al.*, 2003. A avaliação do MEEM está disponível no Anexo 2 do presente trabalho.

4.2.2.2 Avaliação Cognitiva de Montreal (Montreal Cognitive Assessment) (MoCA): Instrumento breve de rastreio para alterações cognitivas. Investiga diferentes domínios cognitivos: atenção e concentração, funções executivas, memória, linguagem, habilidades viso-construtivas, conceituação, cálculo e orientação. O tempo de aplicação é de cerca de 10 min e o escore total é de 30 pontos. Sendo o escore de 25 ou mais considerado normal. Esta avaliação perde sensibilidade para indivíduos com menos de 4 anos de escolaridade (MEMÓRIA *et al*, 2013). A avaliação do MoCA está disponível no Anexo 3 do presente trabalho.

4.2.2.3 Teste de Aprendizagem Auditivo-Verbal de Rey (RAVLT): É um teste que avalia os processos de aprendizagem e memória. Foi adaptado para a população brasileira. Consiste em uma lista de 15 substantivos (lista A) que é lida em voz alta por 5 vezes consecutivas ao participante, com um intervalo de um segundo entre as palavras. Cada uma das tentativas é seguida por um teste de evocação espontânea, que não precisa seguir a ordem da leitura inicial. Depois da quinta tentativa, uma lista de interferência (lista B), também composta por 15 substantivos, é lida, sendo seguida da evocação da mesma por apenas uma vez. Logo após, pede-se que a pessoa avaliada recorde a primeira lista de palavras. Após um intervalo de vinte a trinta minutos (que deve ser preenchido com outras atividades que não demandem raciocínio verbal), novamente o avaliador solicita que o paciente recorde a primeira lista de palavras, a fim de avaliar a memória tardia. Os pontos de corte no presente estudo foram definidos de acordo com o manual do teste (MALOY-DINIZ, et al, 2007).

4.2.2.4 Fluência Verbal Categórica (FAS) e Animais: O teste de fluência verbal categórica avalia a capacidade do paciente de nomear palavras que iniciem com determinadas letras (F, A e S). Os pacientes deverão listar o maior número de palavras no espaço de tempo de um minuto, que comecem com determinada letra e que não sejam nomes próprios. O teste avalia funções do lobo frontal. Os pontos de corte utilizados no presente estudo foram: para analfabetos, é de 9 pontos, entre 1 e 8 anos de estudo igual a 12 pontos, e acima de 9 anos de estudo o ponto de corte é igual a 13 pontos (BRUCKI *et al.*, 2003).

Já no teste de fluência verbal Animais, o paciente deve listar o maior número possível de animais em determinadas categorias (animais domésticos ou da fazenda, animais selvagens, insetos, peixes, pássaros e répteis) em um intervalo de 1 minuto, subdividido em quatro seções de 15 segundos (BRUCKI, ROCHA, 2004). Para avaliação do desempenho no FAS foram utilizados média e desvio padrão conforme idade e escolaridade, descritos na literatura (MACHADO *et al.*, 2009). A avaliação do FAS e Animais está disponível no Anexo 4 do presente trabalho.

4.3.2.5 Escala de Depressão Geriátrica- EDG 15 ou, do inglês, *Geriatric Depression Scale* (GDS): Essa escala é utilizada para rastreamento de sintomas depressivos em

idosos. Na presente pesquisa é fundamental avaliarmos, pois, a depressão pode ser um fator que influencia resultados em outras avaliações neuropsicológicas podendo ser confundida com algum tipo de demência. No presente estudo foi utilizada a EDG 15, uma escala simplificada com 15 itens. A pontuação até 5 pontos é considerada normal (PARADEDA, LOURENÇO, VERAS, 2005). A escala de Depressão Geriátrica (EDG-15) está disponível no Anexo 5 do presente trabalho.

4.2.3 Avaliações olfativas com *Sniffin' Sticks*®

As avaliações olfativas foram realizadas com método estendido dos *Sniffin' Sticks*®, amplamente utilizado na Europa e validado para a população brasileira por (SILVEIRA-MORIYAMA *et al.*, 2008). O teste baseia-se na avaliação olfativa através de canetas com corpo de alumínio, com cerca de 14 cm com as pontas perfumadas. Para execução da bateria completa do kit estendido de *Sniffin' Sticks*®, utilizam-se um total 112 canetas olfativas, sendo 48 para o teste de limiar, 48 para o teste de discriminação e 16 para o teste de identificação olfativa (Figura 2).



Figura 2: Imagem do kit estendido *Sniffin' Sticks* (Burghardt, Wedel, Alemanha). Imagem retirada de Rumeau *et al.*, 2016

4.2.3.1 Avaliação de limiar olfativo: Avalia a menor concentração de determinado odor que é capaz de ativar os receptores olfativos. Para esse teste concentrações crescentes de um mesmo odor (no presente estudo utilizamos n-butanol) são apresentadas e o objetivo é determinar a menor concentração que o sujeito é capaz de perceber. São apresentados um total de até 16 tripletos de canetas, onde apenas uma delas tem o odor diluído. As outras duas contém apenas o solvente (propilenoglicol). Esta avaliação inicia pelo reconhecimento do odor, apresentando-se a caneta de maior concentração. Se o paciente não conseguir distinguir o odor, por convenção, seu resultado nesta avaliação fica “1” (RUMEAU et al., 2016). A caneta número 1 possui uma concentração de 4% de n-butanol e as outras são diluições geométricas na proporção (1:2) até a caneta número 16. A avaliação realizada é do tipo “*single-staircase*”, ou seja, o paciente errando, sobe-se um nível na escala, para uma amostra mais concentrada. Quando o paciente tiver dois acertos seguidos, volta-se para uma concentração mais diluída e troca-se de coluna). Assim que o paciente obtiver dois acertos consecutivos do mesmo odor, tem-se o primeiro ponto de virada, e a avaliação prossegue, com a próxima amostra mais diluída. Se o paciente errar, tem-se novo ponto de virada e a concentração volta a subir. São necessários 7 pontos de virada para encerrar a avaliação. O resultado do teste de limiar olfativo corresponde à média dos últimos 4 pontos de virada, conforme demonstrado no Quadro 2 (KOBAL et al., 2011). A avaliação do limiar olfativo está disponível no Anexo 6 do presente trabalho.

4.2.3.2 Avaliação de discriminação olfativa: Avalia a capacidade do indivíduo em distinguir dois odores diferentes. O paciente avalia 16 tripletos de canetas olfativas, onde duas tem odor idêntico e uma tem odor diferente. Não é necessário identificar os odores, apenas indicar a caneta que contém o odor diferente. A avaliação da discriminação olfativa está disponível no Anexo 7 do presente trabalho.

4.2.3.3 Avaliação de identificação olfativa: Foram apresentadas 16 fragrâncias diferentes aos pacientes e eles deveriam reconhecer e identificar a fragrância entre quatro opções de resposta distintas. Nesta avaliação foram utilizadas fragrâncias de: terebentina, laranja, couro, canela, hortelã, banana, limão, liquoroso, alho, peixe, café, maçã, cravo, abacaxi, rosas e anis. A avaliação da identificação olfativa está disponível no Anexo 9 do presente trabalho.

O resultado final da avaliação olfativa é dado através do escore TDI, que corresponde a soma dos resultados das avaliações de limiar, discriminação e identificação olfativos, podendo variar de 1 a 48 pontos, no total. Os pontos de corte estabelecidos para o público alvo do presente estudo, ou seja, indivíduos com mais de 55 anos são descritos do Quadro 1. Nesta pesquisa foram usados os pontos de corte médios, indicados no manual do produto de acordo com Kobal *et al.* (2000), pois utilizando os pontos de corte por faixa etária (HUMMEL, 2007), os limites correspondentes a normosmia ficariam muito amplos. Dessa forma, muitos pacientes que já apresentavam sinalização de declínio olfativo estariam na classificação de hiposmia; classificação esta, que é de extrema importância quando está sendo realizada a avaliação de um método de predição de conversão de CCL para DA. Assim, utilizando os pontos de corte sugeridos por Kobal *et al.*(2000), foi possível comparar a relação dos resultados médios da população na faixa de idade de 16 a 35 anos.

ESCORE TDI (Kobal, 2000)	ESCORE TDI(Hummel, 2007) ≥ 55 anos	DIAGNÓSTICO OLFATIVO
48-31	48-20	Normosmia
30-16	19-16	Hiposmia
≤ 15	≤15	Anosmia funcional

Quadro 1: Pontos de corte do escore TDI (soma das avaliações de limiar, discriminação e identificação).

O termo anosmia funcional é utilizado para descrever indivíduos com escore de

TDI menor ou igual a 15 (KOBAL *et al.*, 2000) correspondente a indivíduos completamente anósmicos (nenhum traço de funcionalidade olfativa), mas também indivíduos com alguma funcionalidade preservada; porém, insuficiente para servir nas atividades da vida diária, não sendo suficiente para apreciar alimentos e bebidas, ou reconhecer potenciais perigos, tais como, alimentos degradados ou cheiro de fogo ou de gás. O olfato “residual” de indivíduos com anosmia funcional acaba sendo resultante apenas da estimulação do nervo trigêmeo (HUMMEL *et al.*, 2007).

Concentrações crescentes de n-butanol

Diluições							
1							
2							
3							
4							
5							
6	++				++		
7		++	++		+	++	++
8	+	+		-+		-+	-
9							-
10	-						
11							
12	-						
13							
14	-						
15							
16	-						

Quadro 2: Esquema de resultados do teste de limiar olfativo Sniffin Sticks®. Os resultados são inseridos da esquerda para a direita. Os 7 “pontos de virada” são circutados em preto. O escore T, correspondente ao limiar, do inglês, threshold, é a média dos resultados obtidos para os quatro últimos “pontos de virada” (colunas pintadas de cinza). Neste caso, escore T=7,25. Na direção decrescente das canetas (direção da seta), o resultado apontado como “++”. Na direção crescente, o resultado pode ser “+-” ou “-+”, +: resposta correta (identificação correta da caneta com butanol das três canetas apresentadas); - resposta incorreta. Figura modificada de (RUMEAU, *et al.*, 2016).

Alguns estudos estabelecem limites individuais para limiar olfativo, discriminação e identificação, inclusive considerando idade e sexo. Em geral a performance de mulheres é superior à dos homens nos testes olfativos; porém, essa

diferença não se mostrou estatisticamente significativa a ponto de estabelecer pontos de corte diferentes conforme o gênero, principalmente considerando o grupo de idade acima de 55 anos. Esses normativos são relevantes, quando se avalia habilidade olfativa individual em relação à idade (HUMMEL *et al.*, 2007; RUMEAU *et al.*, 2016, OLESZKIEWICZ *et al.*, 2018).

4.3 VARIÁVEIS

4.3.1. Variáveis sócio demográficas: Idade ao entrar no estudo, sexo, escolaridade, histórico das profissões exercidas ao longo da vida, exposições ambientais, vícios atuais ou prévios, percepção da alteração do olfato ou não, história familiar de doenças neurodegenerativas ou qualquer doença supostamente neurodegenerativa não diagnosticada.

4.3.2. Variáveis referentes ao diagnóstico de DA: Idade quando do surgimento dos primeiros sintomas e diagnóstico, tempo de evolução da doença, primeiro(s) sintoma(s) observado(s) pelo paciente ou terceiros, história familiar de DA ou de outra doença neurodegenerativa.

4.3.3. Variáveis referentes ao tratamento farmacológico da DA: Tratamento farmacológico atual e prévio para DA e sintomas relacionados.

4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As variáveis quantitativas foram descritas por média e desvio padrão ou mediana e amplitude interquartilica. As variáveis categóricas foram descritas por frequências absolutas e relativas.

Para comparar médias entre os grupos, a Análise de Variância (ANOVA) seguida pelo Tukey foi aplicada. Em caso de assimetria, o teste de Kruskal-Wallis seguido pelo teste de Dunn foi utilizado. Na comparação de proporções, o teste qui-quadrado em conjunto com a análise dos resíduos ajustados foi aplicado.

Para controle de fatores confundidores, a Análise de Covariância (ANCOVA)

complementada por Bonferroni foi utilizada. Para as variáveis com distribuição assimétrica, transformação logarítmica foi aplicada.

O nível de significância adotado foi de 5% ($p < 0,05$) e as análises foram realizadas no programa SPSS versão 21.0.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O envelhecimento da população brasileira tem impactos importantes na saúde, apontando para a importância de organização da rede de atenção à saúde para a oferta de cuidados e diagnóstico precoce de doenças. Atualmente, os idosos representam 14,3% dos brasileiros, ou seja, 29,3 milhões de pessoas. Em sete décadas, a média de vida do brasileiro aumentou 30 anos saindo de 45,4 anos, em 1940, para 75,4 anos, em 2015. Estima-se que em 2045 o número de idosos será maior do que o número de crianças no país (WONG; CARVALHO, 2006), e sabe-se que em sua grande maioria os idosos brasileiros dependem exclusivamente do Sistema Único de Saúde (SUS) como sistema de assistência em saúde (<http://portalmms.saude.gov.br/noticias/agencia-saude/44451-estudo-aponta-que-75-dos-idosos-usam- apenas-o-sus>).

A presente pesquisa visa colaborar com a melhoria da qualidade de vida do idoso no sentido de disponibilizar mais um instrumento para diagnóstico precoce de DA, uma patologia que acomete a população mais idosa.

As características da população amostrada nesse estudo exploratório estão detalhadas na Tabela 1.

Tabela 1 – Caracterização da população amostrada de pacientes dos grupos CO, com CCL, com DA e os respectivos valores de “p” de significância entre os grupos.

Variáveis	CO (n=10)	CCL (n=11)	DA (n=10)	P
Idade (anos)	71,8 ± 6,9 ^a	72,4 ± 6,1 ^a	81,1 ± 6,2 ^b	0,004*
Sexo				0,269**
Masculino	1 (10,0)	4 (36,4)	4 (40,0)	
Feminino	9 (90,0)	7 (63,6)	6 (60,0)	
Escolaridade (anos)	9,5 (6-17)	6 (5-13)	5 (4-12)	0,164***
Comorbidades				
Diabetes <i>mellitus</i>	5 (50,0)	3 (27,3)	2 (20,0)	0,324**
Doenças Cardiovasculares	4 (40,0)	5 (45,5)	1 (10,0)	0,181**
Auto percepção alteração olfato	1(10,0)	2 (18,3)	2 (20,0)	0,809**

** Teste qui-quadrado de Pearson; *** Teste de Kruskal-Wallis^{a,b} Letras iguais não diferem pelo teste de Tukey a 5% de significância, ; * Análise de Variância (ANOVA); CO: grupo controle, com mais de 60 anos, saudáveis (CDR=0); CCL: grupo com comprometimento cognitivo leve (CDR: 0,5); DA: grupo com Doença de Alzheimer (CDR:1, 1,5 e 2).

Com relação a idade da amostra, houve diferença estatisticamente significativa, sendo que, pacientes com DA são significativamente mais idosos do que os do grupo CO e CCL ($p=0,004$), fato que será discutido mais adiante no texto.

Observa-se uma prevalência maior de mulheres em todos os grupos (CO: 90%, CCL: 64%, DA: 60%), o que corrobora os estudos de Hummel *et al.* (2007) e Rumeau (2016); porém, segundo os autores, este dado perde relevância para os grupos com idade acima de 55 anos, uma vez que a diferença na capacidade olfativa proveniente de gênero, perde significância. Assim, considerando que a referente pesquisa teve como critério de inclusão, pacientes com idade superior a 60 anos, o fato de o estudo apresentar um maior percentual de mulheres não interferiu nos resultados.

Com relação ao nível de escolaridade, o mesmo foi relativamente baixo no presente estudo (em média 9,5 anos para COs, 6 anos para CCLs e 5 anos para DAs), quando comparado aos estudos internacionais de Wilson *et al.*, 2009 ($14,5 \pm 2,9$ anos); Growdon *et al.*, 2015 ($16,1 \pm 2,1$ anos) e Velayudhan *et al.*, 2009 ($10,35 \pm 1,1$ anos). Isso deve-se ao fato de que a grande maioria dos pacientes participantes da pesquisa foram selecionados no ambulatório do Sistema Único de Saúde (SUS), onde o nível de escolaridade dos pacientes que utilizam esse serviço é realmente mais baixo.

O baixo nível de escolaridade pode refletir na cognição, tanto que avaliações como MEEM (BRUCKI *et al.*, 2003), FAS (MACHADO *et al.*, 2009) e FVC (BRUCKI *et al.*, 2003) apresentam pontos de corte diferentes, conforme a escolaridade do indivíduo. A avaliação do MoCA apenas considera incluir 1 ponto a mais para indivíduos com baixa escolaridade (menos de 12 anos) e idosos (MEMÓRIA *et al.*, 2013), o que não parece ser suficiente, visto que Carson e colaboradores (2018) sugerem que o ponto de corte deve ser de 23, e não 26 como utilizado atualmente para pacientes com CCL. Para avaliações olfativas, não foram encontrados estudos que correlacionem ou que estabeleçam pontos de corte diferentes conforme o nível de escolaridade, apesar de julgarmos que pode interferir no teste de identificação olfativa, conforme já foi percebido em um estudo com 1092 idosos, nos Estados Unidos, onde a capacidade de identificação olfativa dos participantes foi avaliada pelo

método UPSIT, demonstrando correlação positiva entre educação (em anos) e escore no teste ($r = 0,18$, $p < 0,001$) (DEVANAND *et al.*, 2010) e pode estar relacionado a algumas dificuldades encontradas no presente estudo, conforme será discutido mais adiante.

Pesquisas demonstram que a maioria dos idosos, ao morrerem, possuem lesões cerebrais, mas não necessariamente tiveram demência e muitos estudos atribuem um certo nível de neuroproteção à escolaridade, por consequência de um incremento na reserva cognitiva (FARFEL *et al.* 2013; BRAYNE *et al.*, 2010).

A Tabela 2 apresenta os resultados de escores brutos das variáveis analisadas no estudo (*Sniffin' Sticks*® e avaliação cognitiva) para os grupos CO, CCL e DA, com os devidos valores “p” de significância. Já na Tabela 3, os mesmos resultados foram classificados, de acordo com os pontos de corte e desvios de cada avaliação, como “déficit” ou normal (o nível normal compreende desde desempenho superior à média até desempenho inferior, porém ainda não considerado déficit).

Tabela 2: Apresentação dos escores brutos das variáveis analisadas no instrumento para os grupos, CO, CCL, DA e os valores “p” de significância

Variáveis	CO (n=10)	CCL (n=11)	DA (n=10)	P
Escores Brutos Sniffin	Média % (mín. - máx.)	Média % (mín. - máx.)	Média % (mín. - máx.)	
Limiar	6,1 (1,9-9,1)	5,5 (2,2-8,5)	1 (1-7,1)	0,197
Discriminação	10,5 (8,0-13,3) ^b	9,0 (6,0- 10,0) ^{ab}	4,5 (1,8-7,3) ^a	0,001
Identificação	13 (11,8-14,3) ^b	12,0 (10,0-13,0) ^b	4 (4,0-8,3) ^a	<0,001
TDI	28,6 (25,0-33,9) ^b	25,5 (22,5-27,3) ^b	13 (6,8-17,5) ^a	0,001
Escores Brutos Avaliação Cognitiva	Mediana (± DP)	Mediana (± DP)	Mediana (± DP)	
MoCA	26,4 ± 1,6 ^c	19,5 ± 5,4 ^b	10,3 ± 6,6 ^a	<0,001
MEEM	27,8 ± 2,0 ^b	24,5 ± 1,8 ^b	14,9 ± 5,4 ^a	< 0,001
FAS	35,2 ± 8,4 ^b	21,0 ± 11,4 ^a	23,2 ± 18,3 ^{ab}	0,048
FVC	14,3 ± 2,6 ^b	10,1 ± 5,7 ^{ab}	6,4 ± 4,1 ^a	0,002
RAVLT Total	37,2 ± 7,2 ^b	28,5 ± 14,3 ^b	14,1 ± 8,7 ^a	<0,001
RAVLT ALT	11,8 ± 5,7	10,0 ± 9,5	4,0 ± 4,5	0,059
RAVLT evocação tardia	7,3 ± 2,5 ^b	5,5 ± 3,9 ^b	0 ± 0 ^a	<0,001
GDS	2,1 ± 1,8 ^a	4,1 ± 1,4 ^b	4,1 ± 2,3 ^b	0,030

Teste de Kruskal-Wallis: para escores brutos *Sniffin* e Análise de Variância (ANOVA) para avaliações cognitivas; * associação estatisticamente significativa pelo teste dos resíduos ajustados a 5% de significância; ^{a,b,c} Letras iguais não diferem pelo teste de Tukey ou Dunn a 5% de significância. CO: grupo controle, com mais de 60 anos, saudáveis (CDR=0); CCL: grupo com comprometimento cognitivo leve (CDR: 0,5); DA: grupo com Doença de Alzheimer (CDR:1, 1,5 e 2).

No delineamento do estudo, foi descrito que pacientes que apresentavam

transtornos psiquiátricos graves e incapacitantes seriam excluídos, mas não pacientes com depressão. Dados da literatura demonstram que a depressão acomete de 15 a 33% da população idosa (TAYLOR, 2014; LIMA, 2016 CROY, HUMMEL, 2017), sendo que um percentual desses apresentam depressão maior (TAYLOR, 2014). Além disso, segundo Raguett *et al.*, (2016), a depressão maior interfere de forma relevante nas avaliações cognitivas. Durante a realização das avaliações cognitivas do presente trabalho, houve o caso de uma paciente que, durante a avaliação, foi diagnosticada com depressão maior e, devido a essa condição, não conseguiu completar a bateria de testes neuropsicológicos, corroborando os achados de Raguett *et al.*, (2016). Ainda, de acordo com os estudos de Devanand *et al.*(2010) e Fusetti *et al.*(2010), a depressão leve é considerada como uma comorbidade, sendo que, muitas vezes, não demonstra correlação positiva com testes olfativos. Adicionalmente, Kohli *et al.* (2016) e Croy *et al.* (2014) descrevem que cerca de um terço a um quarto dos pacientes com déficit olfativo apresentaram sinais de depressão. Uma explicação para essa associação pode estar no fato de o sistema olfativo ficar muito próximo ao sistema límbico (SELIGMAN *et al.*,2013) e conseqüentemente, pode haver uma correlação positiva entre as duas patologias. Croy e Hummel (2017), descrevem que duas causas podem contribuir para perda de olfato em quadros depressivos: primeiro, fatores periféricos como diminuição da atenção e diminuição da taxa de renovação celular de receptores olfativos; segundo, pode haver uma redução no volume do bulbo olfativo, normalmente relacionado com quadros mais graves da doença. Os primeiros sintomas são temporários e diminuem após o tratamento e remissão da doença. Assim, no quesito depressão, apenas pacientes com transtorno depressivo maior foram excluídos do estudo, considerando que esta é uma condição presente em muitos pacientes idosos e a população amostrada era muito restrita.

Empregando a escala de depressão geriátrica (GDS 15), foi observado que não houve diferença significativa entre os grupos CO (10,2%) e os grupos CCL (18,2%) e DA (40,0%) para a depressão, de acordo com a interpretação dos resultados. Porém, avaliando os escores brutos da escala a diferença passa a ser significativa ($p=0,032$) do grupo CO para os grupos CCL e DA, sugerindo que indivíduos com o escore de

hiposmia ou algum déficit olfativo tendem a ter algum grau de depressão ou tendência à depressão e vice-versa. Foi observado uma baixa correlação entre os resultados da escala GDS com o escore TDI, com coeficiente de correlação de Pearson de -0,303 e $p=0,098$. Isso pode ser explicado pelo fato desses pacientes estarem em tratamento para depressão. Cabe aqui salientar que a depressão é um distúrbio neuropsiquiátrico muito comum na DA, presente principalmente nos estágios iniciais da doença, onde o paciente tem maior estado de consciência de sua perda de memória. Além disso, a depressão em si, não deixa de ser um fator de risco para desenvolvimento de demência.

O tabagismo foi um fator de exclusão no presente estudo, sendo utilizados apenas indivíduos que já fumaram, porém que haviam parado de fumar há mais de 10 anos, apesar de ser frequentemente considerado uma comorbidade nas pesquisas que avaliam a capacidade olfativa de pacientes com demência ou CCL. Na verdade, a relação do tabagismo com alterações de olfato não está bem elucidada e existem resultados contraditórios em pesquisas já realizadas. Como exemplo, pode ser citado o trabalho de Ajmani *et al* (2017) onde foi demonstrado que os fumantes tem uma maior tendência a apresentar déficit na capacidade olfativa, porém, o dano causado parece ser reversível, uma vez que os ex-fumantes apresentaram uma capacidade olfativa mais próxima à dos não fumantes.

As outras comorbidades incluídas no estudo como Diabetes *mellitus* e doenças cardiovasculares, não foram consideradas, pois segundo pesquisas anteriormente realizadas, tais comorbidades não apresentaram correlação com o olfato (DEVANAND, *et al.*, 2010;VELAYUDHAN, *et al.*, 2018; CONTI *et al.*, 2013; PARK *et al.*, 2018; KOUZUKI, *et al.*, 2018).

Na classificação dos grupos de acordo com CDR e considerando apenas a avaliação de MEEM, foi empregado o estudo de Montañó e Ramos, (2005) para validar o uso da escala CDR na população brasileira. Assim, os resultados obtidos foram: grupo CO (CDR 0), $27,8 \pm 1,9$; grupo CCL (CDR 0,5), $24,5 \pm 1,8$, e grupo doença de Alzheimer (CDR 1 e 2) $14,8 \pm 5,4$, e estão em acordo com os resultados obtidos na validação da escala para a população brasileira.

Tabela 3: Apresentação das variáveis analisadas no instrumento para os grupos, CO, CCL, DA, em percentual, e os valores “p” de significância, considerando interpretação dos resultados

Variáveis	CO % (n=10)	CCL % (n=11)	DA % (n=10)	P
Interpretação Sniffin				< 0,001
Normosmia	40*	18,2	0	
Hiposmia	60	81,8*	20	
Anosmia	0	0	80*	
Interpretação Avaliação cognitiva				
MoCA (déficit)	10	90,0	100*	<0,001
MEEM (déficit)	40	90,9	100*	0,002
FAS (déficit)	0	18,2	40	0,077
FVC (déficit)	10	27,3	80*	0,004
RAVLT Total (déficit)	1	18,2	90*	<0,001
RAVLT ALT (déficit)	10	11,1	55,6*	0,046
RAVLT evocação tardia (déficit)	0	9,1	100*	<0,001
GDS (déficit)	10	18,2	40	0,251

Teste qui-quadrado de Pearson;* associação estatisticamente significativa pelo teste dos resíduos ajustados a 5% de significância. teste de Tukey a 5% de significância; CO: grupo controle, com mais de 60 anos, saudáveis (CDR=0); CCL: grupo com comprometimento cognitivo leve (CDR: 0,5); DA: grupo com Doença de Alzheimer (CDR:1, 1,5 e 2). Interpretações feitas de acordo com o manual dos testes Sniffin Sticks e conforme literatura para cada avaliação cognitiva conforme descrito no item 4.2.2

Quanto ao escore total da avaliação olfativa, o escore TDI (soma dos resultados de testes de limiar, discriminação e identificação) do *Sniffin Sticks*[®], houve predominância significativa de hiposmia no grupo CCL e anosmia no grupo DA; já o grupo CO apresentou hiposmia com escores mais próximos de normosmia e normosmia. Pode observar-se aumento claro no déficit olfativo (hiposmia e anosmia) no grupo CCL e DA, quando este é comparado ao CO, conforme apresentado no Gráfico 1. No presente estudo foram utilizados os valores normativos do manual de instruções dos *Sniffin Sticks*[®] com os seguintes pontos de corte no escore TDI: 30= limite inferior para normosmia e 15= limite superior para anosmia funcional. Esses escores basearam-se em indivíduos saudáveis com idade entre 18 e 35 anos (KOBAL *et al.*, 2000). Sendo assim, nesse estudo foi observado algum tipo de prejuízo olfativo (hiposmia ou anosmia) em 60% dos COs, 81,8% dos CCLs e 100% dos DAs. Porém, se nesta mesma pesquisa fossem utilizados os valores normativos ajustados para idade, segundo os critérios de Hummel, *et. al.* (2007), os quais consideram um critério diferente para pacientes com faixa etária > 55 anos, os pontos de corte no escore TDI

seriam: 19= limite inferior para normosmia e 15= limite superior para anosmia. Neste caso, no presente estudo, 10% dos COs, 18% dos CCLs e 80% dos DAs teriam algum tipo de prejuízo olfativo (hiposmia ou anosmia). Isso porque a faixa de hiposmia fica muito estreita e seria muito difícil diferenciar pacientes com CCL de pacientes COs, objeto de estudo desta pesquisa. Esses dados estão apresentados na Tabela 4.

Quanto aos escores brutos dos testes olfativos individuais deste mesmo instrumento (Tabela 2), o limiar não apresentou diferenças significativas entre os grupos, conforme já esperado. Para discriminação e escore total TDI, os idosos com DA apresentam escores significativamente mais baixos que o CO ($p=0,001$). Quanto à identificação, os idosos com DA apresentam escores significativamente mais baixos (média 4/16) que os do CO (média 13/16) e CCL(média 12/16), conforme já descrito por Peters *et al.*, 2003, na Alemanha, o qual empregou o mesmo critério para avaliação olfativa. Em outro estudo realizado na Bélgica por Huart *et al.*, (2015), para avaliação unilateral do olfato em pacientes com CCL, os resultados encontrados para os escores brutos de TDI, limiar e discriminação foram similares aos encontrados no presente estudo, diferindo apenas nos escores de identificação; porém, no referido estudo, a avaliação de identificação foi realizada com a demonstração de figuras ao invés do emprego de palavras, o que pode ter influenciado nos resultados, já que a memória visual difere da memória auditiva. Em uma pesquisa realizada na China, os escores TDI foram similares ao presente estudo: 29,5 (24,75 - 31) para CO e 26,0 (22,0 - 29,0) para CCL. Já o escore TDI dos pacientes com DA apresentou uma mediana de 17 (12,0 -22,0), diferente dos resultados encontrados pelo presente estudo; porém, talvez essa divergência possa ser justificada pela diferença de idade entre os grupos, pois o grupo DA do estudo chinês a média de idade era de 71 anos (YU, *et al.*, 2018).

Apesar de a idade ser considerada uma variável no estudo, uma vez que a média de idade dos pacientes com DA foi significativamente maior do que nos outros dois grupos, mesmo após o ajuste pela idade, os pacientes com DA apresentaram TDI significativamente mais baixo do que os demais grupos ($p=0,001$). Quando ajustado para idade, o escore bruto do teste de limiar permanece não significativo ($p=0,302$). O

escore de discriminação permanece significativo após o ajuste ($p=0,045$), sendo significativamente diferentes os grupos CO e DA. Para o teste de identificação, a diferença também permanece significativa após o ajuste da idade ($p<0,001$), sendo o DA significativamente diferente dos demais. Os resultados encontrados, estão em acordo com a literatura onde o déficit na identificação está muito bem elucidado, talvez até por existirem mais pesquisas que só utilizaram os testes de identificação olfativa (PETER, 2003; FÖRSTER, 2010, WANG, 2010); mas também há relatos onde discriminação também foi afetada (DJORDJEVIC, 2008; MARIN, 2018). Em artigos de revisão sobre o tema (VELAYUDHAN, 2015; RAHAYEL, 2012), existem dados que comprovam a estreita relação entre os déficits na identificação olfativa e alterações neurológicas estruturais e funcionais em exames de imagem do tipo PET Pib.

Tabela 4: Comparativo sobre interpretação dos resultados do escore TDI com pontos de corte do manual e com ajuste por idade (Hummel, et al, 2007)

Grupo	Interpretação escore TDI	Pontos corte Manual Sniffin Sticks® n (%)	Pontos corte ajustado por idade (>55 anos) n (%)
CO	Normosmia	40	90
	Hiposmia	60	10
	Anosmia	0	
CCL	Normosmia	18	82
	Hiposmia	82	18
	Anosmia	0	
DA	Normosmia	0	20
	Hiposmia	20	0
	Anosmia	80	80

A tabela apresenta os dados de avaliação olfativa conforme o manual do *Sniffin Sticks*®, com os seguintes pontos de corte no escore TDI 30 = limite inferior para normosmia e 15 = limite superior para anosmia funcional, baseados em indivíduos saudáveis com idade entre 18 e 35 anos (KOBAL, et al., 2000). A quarta coluna ilustra como seriam os resultados se tivéssemos utilizados os valores normativos ajustados para idade (HUMMEL, et. al., 2007), para a faixa > 55 anos, teríamos os seguintes pontos de corte no escore TDI: 19= limite inferior para normosmia e 15= limite superior para anosmia.

Com relação às avaliações cognitivas, o MoCA diferenciou estatisticamente os 3 grupos, sendo encontrados resultados mais elevados no grupo CO ($26,4 \pm 1,6$), intermediários no grupo CCL ($19,5 \pm 5,4$) e mais baixos no DA ($10,3 \pm 6,6$), com resultados similares aos de outros pesquisadores na capacidade de distinguir os três grupos de estudo (WARD et al., 2017), apesar da diferença de escolaridade com as pesquisas internacionais. Quanto ao MEEM, a diferenciação foi significativa do grupo

DA para os demais. Quanto ao RAVLT total e RAVLT evocação tardia, novamente, a diferenciação foi do DA para os demais, demonstrando maior déficit no grupo DA. Quanto ao teste de fluência fonêmica (FAS), o grupo CO apresentou escores mais elevados do que o CCL. O grupo DA não apresentou diferença significativa para os demais grupos. Quanto ao teste de fluência verbal categórica (FVC), a diferença foi significativa do CO para o DA. Alguns pacientes com CCL, têm desempenho preservado em alguns testes, principalmente FAS e FVC. Em nosso estudo apenas 27,3% dos pacientes do grupo CCL tem déficit em FVC; para FAS apenas 18,2% dos pacientes têm déficit. Esse fato já foi levantado em alguns estudos onde foi indicado que os testes de fluência verbal não são sensíveis para diferenciar CCL de DA (TENG *et al.*, 2013). A avaliação de RAVLT (total, aprendizagem ao longo de tentativas e evocação tardia não mostrou demonstrou déficit no grupo CCL em relação ao grupo CO. Darby *et al.* (2017) já haviam demonstrado que a avaliação de RAVLT não mostrou-se sensível para detectar déficit cognitivo em pacientes com CCL no estudo que conduziram na *Harvard Medical School*, em Boston (EUA). No grupo DA as avaliações que melhor demonstraram déficit cognitivo foram: MoCA (100%), MEEM (100%), FVC (80%), RAVLT Total (90%) e RAVLT evocação tardia (100%). Com o declínio da independência de atividades da vida diária, ocorre um aumento do CDR para 1 ou 2 (MORRIS, J., 1997). Nesses casos, o comprometimento nas avaliações cognitivas também pôde ser observado, sendo que os pacientes com CDR 2 apresentaram pior desempenho em avaliações cognitivas.

A Tabela 5, mostra a correlação entre avaliação olfativa e avaliação cognitiva, demonstrando que o escore TDI e os resultados testes cognitivos selecionados para esta pesquisa têm correlação e poderiam ser utilizadas em conjunto na prática clínica para fins de *screening* de demência e também para acompanhamento da evolução da doença. Resultados semelhantes foram observados nos estudos de STAMPS, 2013; DOTY, 2014; HUART, 2015. Em um estudo publicado por Hedner, *et al.* (2010), os autores conseguem relacionar os testes individuais de olfato com avaliações cognitivas, encontrando maior correlação entre testes de identificação e discriminação com avaliações cognitivas que avaliem funções executiva, memória semântica e

memória episódica). Em uma metanálise realizada por Roalf *et al.*, 2017 analisando os resultados de 31 artigos relacionados à disfunção olfativa em pacientes com CCL fica demonstrado que existe uma fraca correlação entre o teste mais aplicado para avaliação olfativa (teste de identificação) e a avaliação cognitiva mais citada nos artigos, o MEEM. Apesar de ainda aparecer pouco nos estudos, a avaliação do MoCA, reconhecida como mais complexa que o MEEM, também apresenta baixa correlação com testes de identificação e CCL; porém para DA apresenta uma associação mais pronunciada ($r=0.30$, $n=230$, $p<0.0001$).

Apesar da seleção para classificação e alocação dos indivíduos nos três grupos da pesquisa ter sido bem rigorosa, foram encontradas algumas discrepâncias em casos isolados. Por exemplo, houve uma paciente classificada no grupo DA que apresentou resultados acima da média em Fluência Fonêmica (FAS), resultados dentro dos limites de normalidade para FVC e RAVLT, apesar do déficit no MEEM e MoCA e leve hiposmia. Uma das razões pode estar ligada à profissão da paciente, que é uma professora aposentada; em virtude disso, devido a prática constante de leitura, a mesma deve apresentar uma boa reserva cognitiva de palavras. A literatura mostra que os testes de fluência verbal são sensíveis à educação e até mesmo podem ter interferência quando o paciente é submetido a uma bateria com outros testes (TENG *et al.*, 2013). Em um estudo realizado em Boston, EUA, com 470 pacientes (138 com DA e 332 com CCL), para avaliar o impacto da reserva cognitiva na cognição desses pacientes, demonstrou que a reserva cognitiva está relacionada diretamente com funções executivas e conhecimento semântico em pacientes com CCL e DA, levando a uma maior preservação da cognição em pacientes com DA (DARBY *et al.*, 2017). Um outro paciente, com pontuação máxima no MoCA, e resultados dentro dos limites de normalidade para as outras avaliações cognitivas, exceto leve déficit no MEEM e hiposmia, apresentou problemas de memória (queixas de memória) e certa perda de independência em atividades da vida diária sendo, portanto, reclassificado como CCL. Esse fato pode ter correlação à reserva cognitiva alta do paciente, uma vez que possui escolaridade elevada (13 anos de escolaridade). Uma terceira paciente, classificada no grupo CO, apesar de excelentes resultados nos testes

cognitivos, apresentou hiposmia severa, com escores muito baixos no teste de identificação (6 acertos de 16), resultados comparáveis aos de pacientes do grupo DA e sem qualquer outra causa aparente para hiposmia, que pudesse ser considerada como fator de exclusão. Mais tarde, analisando seus resultados mais antigos (cerca de 1 anos atrás) foi observado que houve um declínio nos testes cognitivos em relação aos resultados anteriores. O ideal seria realizar um acompanhamento da paciente refazendo as avaliações de olfato e cognição, para avaliar se este não seria um caso de o olfato estar sinalizando alguma alteração neurológica mais grave, como uma progressão para CCL ou até demência. (Tabela 2).

No presente estudo, observou-se que a maioria dos pacientes com déficit olfativo, apesar de terem olfato bem prejudicado, não haviam percebido essa alteração olfativa. A grande maioria, cerca de 80%, dos pacientes dos grupos CCL e DA do presente estudo relatam ter olfato “bom, sem perdas em relação ao passado”. Esse fato também já foi relatado na literatura (DEVANAND *et al.*, 2015); (BAHAR-FUCHS *et al.*, 2011). Em um estudo realizado em Beijing, com 97 pacientes com DA, apenas 6% dos pacientes diagnosticados com DA prodrômico, relataram queixa ou percepção de prejuízo no olfato. Após a avaliação olfativa pelo método *Sniffin' Sticks*[®] foi observado que até 90% desses pacientes apresentavam prejuízo de olfato, mesmo sem percebê-lo (YU, Q, *et al.* 2018).

Na presente pesquisa, foi observado que, em geral, a capacidade olfativa é inversamente proporcional ao CDR, porém como a amostra era muito pequena (5 pacientes com CDR 1 e 5 pacientes com CDR 2) não foi realizada análise estatística dos dados. O ideal seria também realizar um estudo longitudinal, afim de comparar os resultados intrapacientes. Hähner *et al.* (2010), sugerem que quanto maior o grau de comprometimento segundo a escala CDR, maior o déficit olfativo encontrado, bem como maior o comprometimento cognitivo.

Alguns autores, sugerem uma simplificação do método *Sniffin Sticks*[®], uma vez que o método estendido, que compreende as avaliações de limiar, discriminação e identificação é bastante demorado e, por vezes, complexo, principalmente quando lidamos com pacientes idosos e com demência. As sugestões para simplificação

compreendem, aplicar apenas os testes de limiar e identificação do *Sniffin Sticks*[®], formando um escore TI (resultado de limiar e identificação), tendo o mesmo nível de sensibilidade e cerca de 88% da especificidade do teste completo, utilizando avaliação de discriminação e o escore TDI (RUMEAU, C.; NGUYEN; D.T.JANKOWSKI, R., 2016). Já CROY *et al.*, (2009) propõe um teste de limiar utilizando uma escala de 8 pontos e não 16 como no *Sniffin Sticks*[®]. Ainda, KOBAL *et al.*, (2000) propõem uma metodologia de *screening* olfativo com um teste de identificação com 8 odores diferentes.

Vários artigos publicados de estudos avaliando olfato de pacientes com DA e CCL, utilizam apenas avaliação de identificação olfativa (QUARMLEY, 2017; VELAHYUDHAN, 2016; WILSON, 2009); porém, já há evidências de alguns pacientes com CCL e DA manterem a capacidade de identificação olfativa praticamente intacta no decorrer da doença e isso parece estar relacionado ao grau de atrofia hipocampal, ou seja, quanto maior o grau de atrofia, menores os escores no teste de identificação (KJELVIK, *et al.* 2014). Logo, talvez o ideal seja mesmo uma combinação de dois ou três testes para avaliação da capacidade olfativa. Se os resultados do presente estudo forem confirmados em uma amostra maior, poder-se ia sugerir uma combinação dos testes de discriminação e identificação para rastrear CCL e DA.

Tabela 5: Associação entre os instrumentos cognitivos com avaliação de capacidade olfativa (escore TDI)

Variáveis	TDI	
	Coefficiente de correlação de Pearson	P
MoCA	0,647	<0,001
MEEM	0,591	<0,001
FAS	0,240	0,193
FVC	0,530	0,002
RAVLT Total	0,640	<0,001
RAVLT ALT	0,313	0,119
RAVLT evocação tardia	0,638	<0,001
GDS	-0,303	0,098

Foi aplicado coeficiente de correlação de Pearson, para avaliar a relação entre escore TDI (soma dos testes de limiar, discriminação, identificação), para as seguintes avaliações cognitivas: MoCA (Avaliação Cognitiva Montreal); MEEM (Mini Exame do Estado Mental), FAS (fluência fonêmica), FVC (fluência verbal categórica), RAVLT (teste auditivo verbal de Rey), GDS (escala de depressão geriátrica).

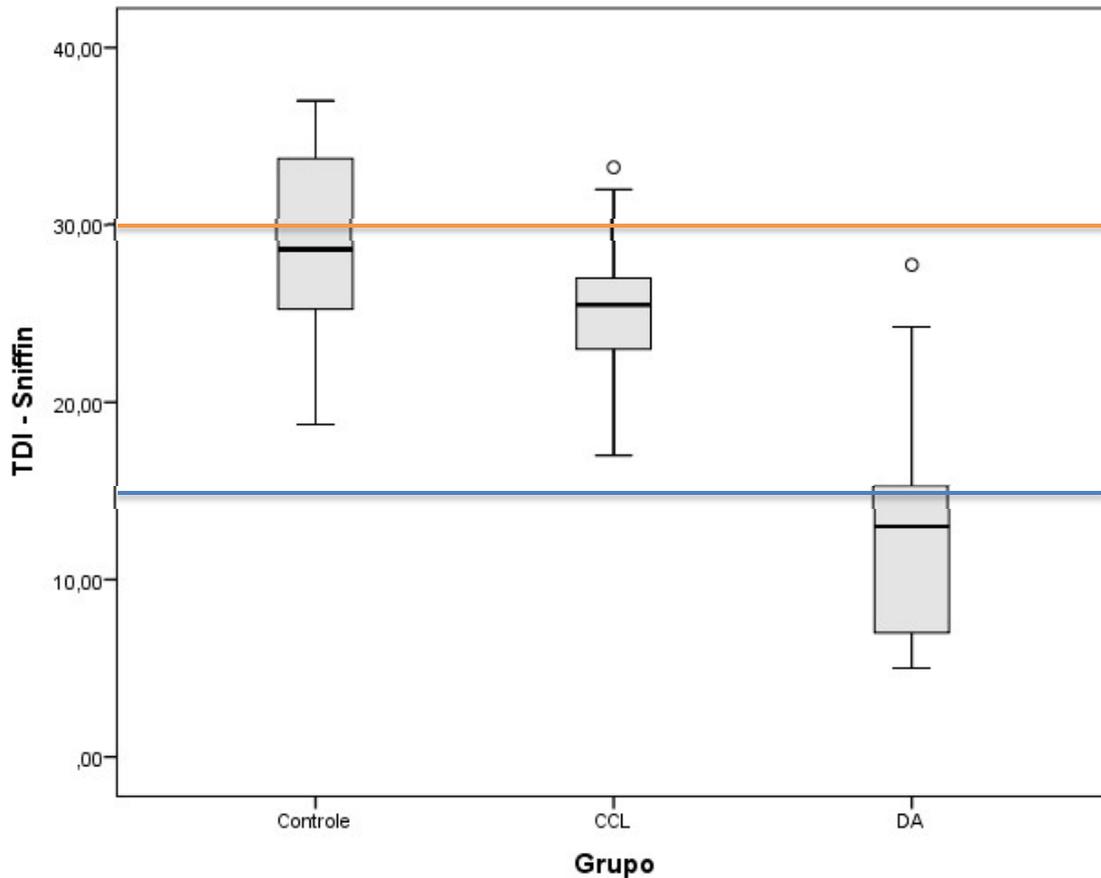


Gráfico 1: Desempenho na avaliação olfativa Sniffin Sticks, baseado nos escores brutos TDI (soma das avaliações de limiar, discriminação e identificação olfativos), CCL: Comprometimento cognitivo leve, DA: Doença de Alzheimer. Foi utilizado teste de Kruskal Wallis.

- limite inferior para normosmia (definido para indivíduos saudáveis de 18 a 35 anos).
- limite superior para anosmia funcional

Para o teste olfativo de identificação, houve algumas particularidades, que já haviam sido observadas por outros pesquisadores. A Tabela 6 descreve o número de acertos para cada caneta olfativa do teste de identificação. Dos 16 odores do teste de identificação do *Sniffin Sticks*[®], apenas limão, maçã e terebentina (solvente de tinta) tiveram baixos níveis de acerto no grupo CO, sendo que para esses odores houve um percentual de acertos inferior a 50% mesmo no grupo CO. Esse fato já foi relatado anteriormente em outros estudos utilizando esse método no Brasil; porém com pacientes saudáveis, o que sugere que os referidos aromas devam ser removidos ou substituídos quando aplicados à população brasileira (SANTIN, *et al.*, 2010;

SILVEIRA-MORIYAMA, *et al.* 2008). Chama a atenção o baixo percentual de acertos para a caneta correspondente ao descritor de limão galego, conforme adaptado por Silveira-Moriyama (2008). O referencial olfativo para “limão” no Brasil, especialmente na região Sul é o limão Tahiti (*Citrus latifolia-Tanaka*). Além disso, a caneta, na verdade, contém odor de limão siciliano (*Citrus limon* L.), que não é muito comum no Brasil, especialmente na região Sul. Outro odor que merece atenção é a maçã, uma vez que se trata de odor característico de maçã vermelha, quando as referências da população no Sul do país quanto ao cheiro de maçã sempre estão associados à maçã verde. Vale também destacar que alguns descritores dos aromas necessitaram explicação aos pacientes, tais como: alcaçuz e anis (foi necessário comentar que eram similares ao aroma de funcho ou erva-doce) e solvente de tinta. Adicionalmente, cabe mencionar que outros descritores como cereja, framboesa e, até mesmo, nozes não estão presentes, na maioria das vezes, na memória da população de mais baixo nível socioeconômico, por não ser da cultura.

Tabela 6: Distribuição de acertos de odores no teste de identificação do Sniffin Sticks

Odores Sniffin Sticks (nº caneta)*	CO (n=10) %	CCL (n=11) %	DA (n=10) %
Banana (5)	10 (100)	9 (82)	2 (20)
Café (10)	10 (100)	9 (82)	3 (30)
Abacaxi (13)	10 (100)	10 (91)	7 (70)
Anis (15)	10 (100)	7 (64)	3 (30)
Laranja (1)	9 (90)	11 (100)	5 (50)
Couro (2)	9 (90)	7 (64)	1 (10)
Canela (3)	9 (90)	7 (64)	4 (40)
Cravo (12)	9 (90)	8 (73)	3 (30)
Peixe (16)	9 (90)	10 (91)	4 (40)
Alcaçuz (7)	8 (80)	9 (82)	5 (50)
Rosa (14)	8 (80)	4 (36)	0 (0)
Menta (4)	7 (70)	10 (91)	5 (50)
Alho (9)	7 (70)	7 (64)	4 (40)
Solv. Tinta (8)	5 (50)	8 (73)	4 (40)
Maçã (11)	5 (50)	5 (45)	5 (50)
Limão (6)	2 (20)	5 (45)	1 (10)

Dados apresentados em percentuais. CCL: comprometimento cognitivo leve, DA: doença de Alzheimer. * nº correspondente ao número da caneta no teste de identificação Sniffin Sticks®

Devido ao tempo de execução da avaliação olfativa pelo método estendido do

Sniffin Sticks[®] ser bastante longo (pouco mais de uma hora), não foi possível realizar a avaliação lateralizada, ou seja: avaliar narina direita e esquerda, para observar o efeito de lateralização sugerido por alguns autores (STAMPS, 2013; DOTY, 2014; HUART, 2015). Por acreditar que seria exaustivo demais para os pacientes, principalmente aqueles com DA foi decidido a aplicação do teste estendido com limiar, discriminação e identificação no lugar de realizar teste lateralizado, conforme estava previsto no projeto de pesquisa.

Cabe lembrar que nenhum dos testes olfativos atualmente disponíveis no mercado é aprovado pelo FDA como método diagnóstico. No entanto, existe na comunidade médica Internacional um apelo por métodos diagnósticos não invasivos, fisiologicamente inócuos e objetivos. Sob este aspecto, os testes de olfato enquadraram-se perfeitamente à demanda (XYDAKIS, M., BELLUSCIO, L., 2017).

6. CONCLUSÃO

O presente estudo apresenta os primeiros resultados, no Brasil, para uso de avaliação olfativa como método complementar às avaliações cognitivas e clínicas para o diagnóstico de demência do tipo DA.

A avaliação de *screening* olfativo, empregando o método de *Sniffin Sticks*[®] mostrou ser um método prático, rápido e com custo relativamente acessível se for utilizado em rotina clínica (para diluir o custo de aquisição do kit). A aplicação do teste não requer infraestrutura importante além de uma sala bem ventilada, com uma mesa para organizar as canetas e escrever os resultados. A avaliação transcorre tranquilamente sem ser invasiva ou causar qualquer dano ao paciente, nem ao avaliador.

Avaliações olfativas indicando déficit (hiposmia ou anosmia) devem ser consideradas como um sinal de alerta, principalmente em indivíduos saudáveis e que não apresentem qualquer razão física para tal resultado (tumor, pólipos, desvio de septo). Esta avaliação pode, portanto, servir como um *screening* prévio para que, em caso de alteração olfativa, ocorra o encaminhamento desses pacientes a um neurologista, para que seja feita uma avaliação mais detalhada da cognição e, em caso de alteração cognitiva, seja possível acompanhar a evolução do paciente e tomar medidas que retardem o surgimento da doença. A mesma ideia serve para indivíduos que já têm CCL, pois como pode ser observado nesse trabalho, existem inúmeros estudos já relatados que demonstram uma maior probabilidade de pacientes com CCL e hiposmia evoluírem para DA, do que pacientes com CCL sem hiposmia.

Nesse estudo foi utilizado o método estendido dos *Sniffin' Sticks*[®], que compreende a avaliação de limiar, discriminação e identificação e odores, quando a maioria dos estudos envolvendo olfato e demência utilizam apenas o método de identificação. A vantagem de se utilizar a avaliação completa do *Sniffin Sticks*[®] é que o método também é capaz de sugerir regiões afetadas e que estão desencadeando o distúrbio olfativo, como por exemplo alterações nas avaliações de discriminação, que podem indicar lesões a nível de sistema nervoso central, enquanto prejuízos

observados nas avaliações de limiar olfativo podem indicar dano periférico (HÜTTENBRINK *et al.*, 2013).

Através deste estudo foi possível demonstrar que o déficit olfativo já aparece em pacientes com CCL e fica ainda mais acentuado em indivíduos com DA, quando compara-se com indivíduos saudáveis de mesma faixa etária. Tomando como referência os critérios da avaliação clínica para definição dos grupos como CO, CCL e DA, foi observado que a relação de proporção de indivíduos com normosmia e hiposmia aumenta quando migramos do grupo CO para CCL. No entanto, ao ser avaliado o grupo DA, essa relação de proporção aumenta, porém entre hiposmia e anosmia. Nos indivíduos CO houve uma relação inversa entre os instrumentos de rastreio cognitivos (MoCA e MEEM) e a avaliação olfativa, quando nos grupos CCL e DA houve uma correlação positiva. Isso sugere que as alterações no olfato ocorrem antes de alterações cognitivas e os indivíduos controle com alteração olfativa deveriam ser reavaliados posteriormente. Ainda, foi possível observar que houve uma correlação entre os instrumentos de rastreio cognitivos e as avaliações olfativas, o que demonstra que as últimas podem, de fato, auxiliar no diagnóstico precoce mais preciso das doenças neurodegenerativas. Considerando que se trata de um estudo exploratório, o primeiro passo para o aprofundamento e melhor esclarecimento desse estudo seria aumentar o número da amostra.

Além disso, após a definição de um padrão de resposta entre olfato e cognição com um número maior de amostra, pelo fato de ser um método prático e de custo não elevado, considerando o número de pacientes que poderiam usufruir dos resultados, este talvez possa ser um primeiro passo para que o estímulo do olfato possa ser utilizado como diagnóstico precoce de doenças neurodegenerativas, como a DA.

7. LIMITAÇÕES DO ESTUDO

Apesar da proposta do estudo de ser exploratório, o número da amostra deveria ser maior. Avaliar pacientes idosos e com DA é um desafio, pois mobiliza tempo e dedicação de familiares e/ou de cuidadores.

Outra questão a ser salientada refere-se ao nível de escolaridade, com médias girando em torno de 7 anos. É uma média baixa, quando comparamos com estudos internacionais. Algumas avaliações neuropsicológicas possuem fatores de correção, considerando a escolaridade. Essa correção não existe para avaliação olfativa, onde o conhecimento/reconhecimento dos odores é influenciado não somente pela escolaridade, mas também pela cultura da população, em termos de já ter memórias olfativas das mais diversas possíveis.

O método dos *Sniffin Sticks*[®] é excelente e muito completo, porém, principalmente no grupo DA, o teste acaba ficando longo demais, pois no total, leva cerca de uma hora e quinze minutos para a avaliação.

Nas avaliações realizadas com pacientes com quadro demencial moderado (CDR 2), foi muito complicado de administrar os testes de limiar olfativo e discriminação, devido às instruções serem mais complexas e ao tempo de duração do teste ser muito longo, exigindo demais dos pacientes.

O teste de identificação do *Sniffin Sticks*[®] tem alguns limitadores de odores que não são tão familiares à nossa cultura. Apesar de terem sido utilizados os descritores validados para o Brasil, sugeridos por Silveira-Moriyama (2008), os mesmos ainda geram um pouco de confusão na população avaliada.

Também podem ser consideradas limitações do teste olfativo *Sniffin Sticks*[®], seu elevado custo de importação e validade do kit (cerca de 18 meses).

Outras limitações do método são o fato de canetas serem aplicadas a uma certa distância do nariz, e, portanto, estarem sujeitos a vieses de outros aromas presentes no ambiente. Além disso, ocorre atraso no carregamento da substância odorífera, dificultando a padronização da concentração efetiva que chega ao bulbo olfatório

(XYDAKIS, M, BELLUSCIO, L, 2017).

Não existe padronização internacional sobre o que constitui o déficit olfativo. A literatura e as validações de metodologias ainda são muito escassas. Nenhum teste disponibilizado no mercado é capaz de dar um panorama global do déficit olfativo do paciente. Além disso, poucos são os estudos, onde, além do teste olfativo em si, são realizadas avaliações físicas e clínicas do trato respiratório superior, a fim de descartar patologias intranasais do tipo inflamatórias, infecciosas ou obstrutivas. Também deve ser considerado o fato de que a sensibilidade humana a moléculas odoríferas é muito variável, e exposição prévia a determinador odores pode causar um efeito de “aprendizagem” (HSIEH *et al.*, 2017); (XYDAKIS, M, BELLUSCIO, L, 2017).

Indivíduos CO, utilizados neste estudo, mas também na maioria dos estudos não são totalmente representativos da população em si. Isso explica-se pois, normalmente os COs, são voluntários, socialmente mais engajados e com nível socioeconômico e educacional mais elevados do que os grupos de pacientes. Ainda preocupa o fato de a possibilidade desses indivíduos terem vontade de participar desse tipo de estudo por já terem uma queixa subjetiva de memória. Estas variáveis devem ser consideradas. Esse tópico já foi levantado em um artigo de revisão e estabelecimento de critérios diagnósticos pré-clínicos de DA, publicado por Sperling *et al.*, em 2011.

Devido ao tempo de execução da avaliação olfativa pelo método estendido do *Sniffin Sticks*[®] ser prolongado (pouco mais de uma hora), acabamos optando por não realizar avaliação lateralizada, ou seja: avaliar narina direita e esquerda, para observar o efeito de lateralização sugerido por alguns autores. Pensamos que seria exaustivo demais para os pacientes, principalmente aqueles com DA.

8. PRINCIPAIS CONTRIBUIÇÕES CIENTÍFICAS

As principais contribuições científicas e tecnológicas da pesquisa realizada podem ser listadas a seguir:

- ❖ Possibilidade de utilizar um padrão ouro, extremamente simples, prático e portátil, para o estudo de todas as patologias que envolvem alterações no olfato;
- ❖ Melhor compreensão dos processos fisiopatológicos de um sintoma frequente na DA, a hiposmia, para que em um futuro próximo a avaliação olfativa possa ser utilizada para o diagnóstico precoce de DA.
- ❖ Possibilidade de um maior conhecimento do comportamento fisiológico do sistema olfativo;
- ❖ Possibilidade de oportunizar uma nova área de pesquisa na Universidade;
- ❖ Como projeto transdisciplinar, o estudo permitiu agregar conhecimento nas diferentes áreas, de forma a integrar ciências exatas e da saúde visando o bem-estar do paciente;

REFERÊNCIAS

- ADAMS, D. R. *et al.* Factors Associated with Inaccurate Self-Reporting of Olfactory Dysfunction in Older US Adults. **Chemical Senses**, v. 42, n. 3, p. b108, 22 dez. 2016.
- AJMANI, G. S. *et al.* Smoking and Olfactory Dysfunction: A Systematic Literature Review and Meta-Analysis Gaurav. **Laryngoscope**, v. 127, n. 8, p. 1754–1761, 2017.
- ALBERT, M. S. *et al.* The diagnosis of mild cognitive impairment due to Alzheimer's disease: Recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. **Alzheimer's & Dementia**, v. 7, n. 3, p. 270–279, maio 2011.
- AMARO JR., E. & YAMASHITA, H. Aspectos básicos de tomografia computadorizada e ressonância magnética. **Revista Brasileira de Psiquiatria**. v.23, pp. 2-3, 2001.
- BAHAR-FUCHS, A. *et al.* Olfactory deficits and amyloid- β burden in Alzheimer's disease, mild cognitive impairment, and healthy aging: A PiB PET study. **Journal of Alzheimer's Disease**, v. 22, n. 4, p. 1081–1087, 2010.
- BAHAR-FUCHS, A., MOSS, S., ROWE, C. *et al.* Awareness of olfactory deficits in healthy aging, amnesic mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. **Int Psychogeriatr**, v. 23, p.1097–1106, 2011.
- BOESVELDT, S. *et al.* Anosmia—A Clinical Review. **Chemical Senses**, v. 42, n. 7, p. 513–523, 1 set. 2017.
- BRAYNE, C. *et al.* Education, the brain and dementia: neuroprotection or compensation? **Brain**, v. 133, n. 8, p. 2210–2216, 1 ago. 2010.
- BRUCKI, S. M. D. *et al.* Sugestões para o uso do Mini Exame do Estado Mental no Brasil. **Arquivos de Neuropsiquiatria**, v. 61, n. 3–B, p. 777–781, 2003.
- BRUCKI, S. M. D.; ROCHA, M. S. G. Category fluency test: Effects of age, gender and education on total scores, clustering and switching in Brazilian Portuguese-speaking subjects. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 37, n. 12, p. 1771–1777, 2004.
- CARAMELLI, P.; TEIXEIRA, A. L.; BUCHPIEGEL, C. A., LEE *et al.* Diagnóstico de Doença de Alzheimer no Brasil. Exames complementares. **Dementia & Neuropsychology**. 2011, supl.1:11-20
- CANTER, R. G.; PENNEY, J.; TSAI, L.-H. The road to restoring neural circuits for the treatment of Alzheimer's disease. **Nature**, v. 539, n. 7628, p. 187–196, 2016.
- CARSON, N.; LEACH, L.; MURPHY, K. J. A re-examination of Montreal Cognitive Assessment (MoCA) cutoff scores. **International Journal of Geriatric Psychiatry**, v. 33, n. 2, p. 379–388, 1 fev. 2018.

CONTI, M. Z. *et al.* Odor Identification Deficit Predicts Clinical Conversion from Mild Cognitive Impairment to Dementia Due to Alzheimer's Disease. **Archives of Clinical Neuropsychology**, v. 28, n. 5, p. 391–399, 1 ago. 2013.

CROY, I.; HUMMEL, T. Olfaction as a marker for depression. **Journal of Neurology**, v. 264, n. 4, p. 631-634, 2017.

DARBY, R. R. *et al.* Effects of cognitive reserve depend on executive and semantic demands of the task. **J Neurol Neurosurg Psychiatry**, v. 88, n. 9, p. 794–802, 1 set. 2017.

DAULATZAI, M. A. Olfactory dysfunction: its early temporal relationship and neural correlates in the pathogenesis of Alzheimer's disease. **Journal of Neural Transmission**, v. 122, n. 10, p. 1475–1497, 6 out. 2015.

DEVANAND, D. P. *et al.* Combining Early Markers Strongly Predicts Conversion from Mild Cognitive Impairment to Alzheimer's Disease. **Biological Psychiatry**, v. 64, n. 10, p. 871–879, 15 nov. 2008.

DEVANAND, D. P. *et al.* Olfactory identification deficits and increased mortality in the community. **Annals of Neurology**, v. 78, n. 3, p. 401–411, 1 set. 2015.

DJORDJEVIC, J. *et al.* Olfaction in patients with mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. **Neurobiology of Aging**, v. 29, n. 5, p. 693–706, maio 2008.

DOTY, R.L. *et al.* Development of University of Pennsylvania Smell Identification Test: a standardized microencapsulated test of olfactory function. **Physiology & Behavior**. v. 32, pp. 489-502, 1984.

DOTY, R. L. Clinical Studies of Olfaction. **Chemical Senses**, v. 30, n. Supplement 1, p. i207–i209, 1 jan. 2005.

DOTY, R. L. Olfactory dysfunction in neurodegenerative diseases: is there a common pathological substrate. **The Lancet Neurology**, v. 16, n. 6, p. 478–488, 2017.

DOTY, R. L.; KAMATH, V. The influences of age on olfaction: A review. **Frontiers in Psychology**, v. 5, n. FEB, p. 1–20, 2014.

DUBOIS, B. *et al.* Advancing research diagnostic criteria for Alzheimer's disease: the IWG-2 criteria. **The Lancet. Neurology**, v. 13, n. 6, p. 614–29, 1 jun. 2014.

EIBENSTEIN, A. *et al.* Modern psychophysical tests to assess olfactory function. **Neurological Sciences**, v. 26, n. 3, p. 147–155, jul. 2005.

EICHENBAUM, H. Using Olfaction to Study Memory. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 855, n. 1, p. 657–669, 1 nov. 1998.

ENGELHARDT, E., TOCQUER, C., ANDRÉ, C., *et al.*, Demência vascular. Critérios Diagnósticos e exames complementares. **Dement. Neuropsychol.**, 5, supl. 1: 49-77. 2011.

FARFEL, J. M. *et al.* Very low levels of education and cognitive reserve: A clinicopathologic study. **Neurology**, v. 81, n. 7, p. 650–657, 13 ago. 2013.

FIRESTEIN, S. How the olfactory system makes sense of scents. **Nature**, v. 413, n. 6852, p. 211–218, 13 set. 2001.

FÖRSTER, S. *et al.* Functional representation of olfactory impairment in early alzheimer's disease. **Journal of Alzheimer's Disease**, v. 22, n. 2, p. 581–591, 2010.

FOTENOS, A. F. *et al.* Brain Volume Decline in Aging: Evidence for a Relation Between Socioeconomic Status, Preclinical Alzheimer Disease, and Reserve. **Archives of Neurology**, v. 65, n. 1, p. 113–20, 1 jan. 2008.

FRISONI, G. B. *et al.* Strategic roadmap for an early diagnosis of Alzheimer's disease based on biomarkers. **The Lancet Neurology**, v. 16, n. 8, p. 661–676, 1 ago. 2017.

FROTA, N. A. F.; NITRINI, R.; DAMASCENO, B. P.; *et al.* Critérios para o diagnóstico da doença de Alzheimer. **Dementia & Neuropsychology**, supl. 1:5-10, 2015.

FUSETTI, M. *et al.* Smell and preclinical alzheimer disease: Study of 29 patients with amnesic mild cognitive impairment. **Journal of Otolaryngology - Head and Neck Surgery**, v. 39, n. 2, p. 175–181, 2010.

GODOY, M. D. C. L. *et al.* Olfaction in neurologic and neurodegenerative diseases: A literature review. **International Archives of Otorhinolaryngology**, v. 19, n. 2, p. 176–179, 2015.

GROWDON, M. E. *et al.* Odor identification and Alzheimer disease biomarkers in clinically normal elderly. **Neurology**, v. 84, n. 21, p. 2153–2160, 2015.

HÄHNER, A.; WELGE-LÜSSEN, A. Riechstörungen bei neurodegenerativen Erkrankungen. **HNO**, v. 58, n. 7, p. 644–649, 19 jul. 2010.

HEDNER, M. *et al.* Cognitive factors in odor detection, odor discrimination, and odor identification tasks. **Journal of Clinical and Experimental Neuropsychology**, v. 32, n. 10, p. 1062–1067, 8 dez. 2010.

HERZ, R. The Role of Odor-Evoked Memory in Psychological and Physiological Health. **Brain Sciences**, v. 6, n. 3, p. 22, 2016.

HSIEH, J. W. *et al.* SMELL-S and SMELL-R: Olfactory tests not influenced by odor-specific insensitivity or prior olfactory experience. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 2017.

HUART, C. *et al.* Unirhinal Olfactory Testing for the Diagnostic Workup of Mild Cognitive Impairment. **Journal of Alzheimer's Disease**, v. 47, n. 1, p. 253–270, 9 jul. 2015.

HUMMEL, T. *et al.* “Sniffin” Sticks’: Olfactory Performance Assessed by the Combined Testing of Odour Identification, Odor Discrimination and Olfactory Threshold. **Chemical Senses**, v. 22, n. 1, p. 39–52, 1997.

HUMMEL, T. *et al.* Normative data for the “Sniffin’ Sticks” including tests of odor identification, odor discrimination, and olfactory thresholds: an upgrade based on a group of more than 3,000 subjects. **European Archives of Oto-Rhino-Laryngology**, v. 264, n. 3, p. 237–243, 2 fev. 2007.

HÜTTENBRINK, K. HUMMEL, T., BERG, D. *et al.* Olfactory dysfunction: common in later life and early warning of neurodegenerative disease. **Deutsches Ärzteblatt international**, v. 110, n. 1–2, p. 1–7, e1, 2013.

HYMAN, B., PHELPS, C., BEACH, T. *et al.* National Institute on Aging–Alzheimer’s Association guidelines for the neuropathologic assessment of Alzheimer’s disease. **Alzheimer & Dementia**, v. 8, p. 1–13, 2012.

JONKER, C.; GEERLINGS, M. I.; SCHMAND, B. Are memory complaints predictive for dementia? A review of clinical and population-based studies. **International Journal of Geriatric Psychiatry**, v. 15, n. 11, p. 983–991, 1 nov. 2000.

KAPCZINSKI, F.; QUEVEDO, J.; IZQUIERDO, I. Bases biológicas dos transtornos psiquiátricos. Porto Alegre: Artmed, 2011.

KJELVIK, G. *et al.* The brain structural and cognitive basis of odor identification deficits in mild cognitive impairment and Alzheimer’s disease. **BMC neurology**, v. 14, p. 168, 26 ago. 2014.

KOBAL, G. *et al.* Multicenter investigation of 1,036 subjects using a standardized method for the assessment of olfactory function combining tests of odor identification, odor discrimination, and olfactory thresholds. **European archives of oto-rhino-laryngology**: official journal of the European Federation of Oto-Rhino-Laryngological Societies (EUFOS): affiliated with the German Society for Oto-Rhino-Laryngology - Head and Neck Surgery, v. 257, n. 4, p. 205–11, 2000.

KOHLI, P. *et al.* The Association Between Olfaction and Depression: A Systematic Review. **Chemical Senses**, v. 41, n. 6, p. 479–486, 1 jul. 2016.

KOVACS, T. Mechanisms of olfactory dysfunction in aging and neurodegenerative disorders. **Ageing Research Reviews**, v. 3, n. 2, p. 215–232, abr. 2004.

KOUZUKI, M. *et al.* Comparison of olfactory and gustatory disorders in Alzheimer’s disease. **Neurological Sciences**, v. 39, n. 2, p. 321–328, 11 fev. 2018.

KÜHN, M., ABOLMAALI, M.; SMITKA *et al.* Riechstörungen. **HNO**, v. 61, n. 11, p. 975–986, 13 nov. 2013.

KÜHN, M. *et al.* Riechstörungen. **HNO**, v. 64, n. 7, p. 517–529, 30 jul. 2016.

LEBOUCQ, N., CHAMPFLEUR, N.M., CHAMPFLEUR, S.M. *et al.* The olfactory

system Anatomy of the olfactory system Neuroepithelium and olfactory nerve Olfactory bulbs and tract. **Diagnostic and Interventional Imaging**, v. 94, p. 985–991, 2013.

LIMA, A. M. P. *et al.* Depressão em idosos: uma revisão sistemática da literatura. **Revista de Epidemiologia e Controle de Infecção**, v. 6, n. 2, p. 96–103, 30 ago. 2016

LIVINGSTON, G. *et al.* Dementia prevention, intervention, and care. **The Lancet**, jul. 2017.

LUNDSTRÖM, J.N. *et al.* Methods for building an inexpensive computer-controlled olfactometer for temporally-precise experiments. **International Journal of Psychophysiology**. v.78, n. 2, pp. 179–89, 2010.

MACHADO, T. H. *et al.* Normative data for healthy elderly on the phonemic verbal fluency task – FAS. **Dementia & Neuropsych**, v. 3, n. 1, p. 55–60, 2009.

MALLOY-DINIZ, L. F. *et al.* The Rey Auditory-Verbal Learning Test: applicability for the Brazilian elderly population. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, v. 29, n. 4, p. 324–329, 3 ago. 2007.

MARIN, C., VILAS, D., LANGDON, C., *et al.* Olfactory Dysfunction in Neurodegenerative Diseases. **Current Allergy and Asthma Reports**, v. 18, n. 42, p. 1–19, 15 ago. 2018.

MCKHANN, G. M. *et al.* The diagnosis of dementia due to Alzheimer’s disease: Recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer’s Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer’s disease. **Alzheimer’s & Dementia**, v. 7, n. 3, p. 263–269, 1 maio 2011.

MARTZKE, J. S.; KOPALA, L. C.; GOOD, K. P. Olfactory dysfunction in neuropsychiatric disorders: Review and methodological considerations. **Biological Psychiatry**, v. 42, n. 8, p. 721–732, 1997.

MEMÓRIA, C. M. *et al.* Brief screening for mild cognitive impairment: validation of the Brazilian version of the Montreal cognitive assessment. **International Journal of Geriatric Psychiatry**, v. 28, n. 1, p. 34–40, 1 jan. 2013.

MACEDO MONTAÑO, M. B. M.; RAMOS, L. R. Validade da versão em português da Clinical Dementia Rating. **Revista de Saúde Pública**, v. 39, n. 6, p. 912–917, dez. 2005.

MORLEY, J. F. *et al.* Optimizing olfactory testing for the diagnosis of Parkinson’s disease: item analysis of the university of Pennsylvania smell identification test. **NPJ Parkinson’s Disease**, v. 4, n. 2, 2018.

MORRIS, J. C. Clinical Dementia Rating: A Reliable and Valid Diagnostic and Staging Measure for Dementia of the Alzheimer Type. **International Psychogeriatrics**, v. 9, n. S1, p. 173–176, dez. 1997.

NAKAMURA, A. *et al.* Early functional network alterations in asymptomatic elders at

risk for Alzheimer's disease. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1(2017), p. 6517, 2017.

NGANDU, T. *et al.* A 2 year multidomain intervention of diet, exercise, cognitive training, and vascular risk monitoring versus control to prevent cognitive decline in at-risk elderly people (FINGER): a randomised controlled trial. **The Lancet**, v. 385, n. 9984, p. 2255–2263, jun. 2015.

OLESZKIEWICZ, A. *et al.* Updated Sniffin' Sticks normative data based on an extended sample of 9139 subjects. **European Archives of Oto-Rhino-Laryngology**, p. 1–10, 15 dez. 2018.

PARADEDA, E. M. P.; LOURENÇO, R. A.; VERAS, R. P. [Validation of geriatric depression scale in a general outpatient clinic]. **Revista de saúde pública**, v. 39, n. 6, p. 918–23, 2005.

PARK, S.; LEE, J.; LEE, K. *et al.* Comparison of odor identification among amnesic and non-amnesic mild cognitive impairment, subjective cognitive decline, and early Alzheimer's dementia. **Neurological Sciences**, v. 39, n. 3, p. 557–564, 30 mar. 2018.

PETERS, J. M. *et al.* Olfactory function in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease: An investigation using psychophysical and electrophysiological techniques. **American Journal of Psychiatry**, v. 160, n. 11, p. 1995–2002, 2003.

QUAGLIATO, L. B. *et al.* Alterações do olfato na doença de Parkinson. **Arquivos de Neuro-Psiquiatria**, v. 65, n. 3a, p. 647–652, set. 2007.

QUARMLEY, M. *et al.* Odor Identification Screening Improves Diagnostic Classification in Incipient Alzheimer's Disease. **Journal of Alzheimer's disease : JAD**, v. 55, n. 4, p. 1497–1507, 2017.

RAGGUETT, R.-M., CHA, D., KAKAR, K. *et al.* Assessing and measuring cognitive function in major depressive disorder. **Evid Based Mental Health**, v. 19, n. 4, p. 106–109, 2016.

RAHAYEL, S.; FRASNELLI, J.; JOUBERT, S. The effect of Alzheimer's disease and Parkinson's disease on olfaction: A meta-analysis. **Behavioural Brain Research**, v. 231, n. 1, p. 60–74, 16 maio 2012.

ROALF, D. R. *et al.* A quantitative meta-analysis of olfactory dysfunction in mild cognitive impairment. **Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry**, v. 88, n. 3, 2017.

ROCHA, J.P., BÓS, A. J. G., *et al.* **Perfil dos Idosos e Longevos do Brasil. Análise da Pesquisa Nacional de Saúde do IBGE 2013.** Disponível online em: <https://www2.camara.leg.br/atividade-legislativa/comissoes/comissoes-permanentes/comissao-de-defesa-dos-direitos-da-pessoa-idosa-cidoso/documentos/publicacoes/perfil-dos-idosos-e-longevos-do-brasil/perfil-dos-idosos-e-longevos-do-brasil-tomo-1> . Acesso em 05/3/2019.

RUMEAU, C.; NGUYEN, D. T.; JANKOWSKI, R. How to assess olfactory performance

with the Sniffin' Sticks test®. **European Annals of Otorhinolaryngology, Head and Neck Diseases**, v. 133, n. 3, p. 203–206, 1 jun. 2016.

SANTIN, R. *et al.* Olfactory function and Parkinson's disease in Southern Brazil. **Arquivos de Neuro-Psiquiatria**, v. 68, n. 2, p. 252–257, abr. 2010.

SCHELTENS, P. *et al.* Alzheimer's disease. **The Lancet**, v. 388, n. 10043, p. 505–517, jul. 2016.

SHIP, J. A.; WEIFFENBACH, J. M. Age, Gender, Medical Treatment, and Medication Effects on Smell Identification. **Journal of Gerontology**, v. 48, n. 1, p. M26–M32, 1 jan. 1993.

SELIGMAN, S. C. *et al.* Olfaction and apathy in Alzheimer's disease, mild cognitive impairment, and healthy older adults. **Aging & Mental Health**, v. 17, n. 5, p. 564–570, 2013.

SEO, E. H. *et al.* Association of subjective memory complaint and depressive symptoms with objective cognitive functions in prodromal Alzheimer's disease including pre-mild cognitive impairment. **Journal of Affective Disorders**, v. 217, n. February, p. 24–28, 2017.

SPERLING, R. A. *et al.* Toward defining the preclinical stages of Alzheimer's disease: Recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. **Alzheimer's & Dementia**, v. 7, n. 3, p. 280–292, maio 2011.

SILVEIRA-MORIYAMA, L. *et al.* The use of smell identification tests in the diagnosis of Parkinson's disease in Brazil. **Movement Disorders**, v. 23, n. 16, p. 2328–2334, 2008.

STAMPS, J. J.; BARTOSHUK, L. M.; HEILMAN, K. M. A brief olfactory test for Alzheimer's disease. **Journal of the Neurological Sciences**, v. 333, n. 1–2, p. 19–24, 2013.

STUART, K. E. *et al.* Environmental novelty exacerbates stress hormones and A β pathology in an Alzheimer's model. **Scientific Reports**, v. 7, n. 2764, 2017.

TAYLOR, W. D. Depression in the Elderly. **New England Journal of Medicine**, v. 371, n. 13, p. 1228–1236, 25 set. 2014.

TENG, E., LEONE-FRIEDMAN, G., LEE *et al.* Similar Verbal Fluency Patterns in Amnesic Mild Cognitive Impairment and Alzheimer's Disease. **Archives of Clinical Neuropsychology**, v. 28, n. 5, p. 400–410, 1 ago. 2013.

VELAYUDHAN, L.; LOVESTONE, S. Smell Identification Test as a Treatment Response Marker in Patients With Alzheimer Disease Receiving Donepezil. **Journal of Clinical Psychopharmacology**, v. 29, n. 4, p. 387–390, ago. 2009.

VELAYUDHAN, L. Smell identification function and Alzheimer's disease. **Current**

Opinion in Psychiatry, v. 28 (2), p. 173–179, 2015.

VELAYUDHAN, L., WILSON-MORKEH, PENNEY, E., *et al.* Smell identification function in early-onset Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. **International Psychogeriatrics**, p. 1–6, 15 out. 2018.

VOS, S. J. *et al.* Preclinical Alzheimer's disease and its outcome: a longitudinal cohort study. **The Lancet Neurology**, v. 12, n. 10, p. 957–965, 2013.

WANG, J. *et al.* Olfactory deficit detected by fMRI in early Alzheimer's disease. **Brain Research**, v. 1357, p. 184–194, 21 out. 2010.

WARD, A. M. *et al.* Association between olfaction and higher cortical functions in Alzheimer's disease, mild cognitive impairment, and healthy older adults. **Journal of Clinical and Experimental Neuropsychology**, v. 39, n. 7, p. 646–658, 9 ago. 2017.

WILSON, R. S. *et al.* Olfactory impairment in presymptomatic Alzheimer's disease. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1170, p. 730–735, 2009.

WHO. Draft global action plan on the public health response to dementia. Seventieth world health assembly a70/28 Disponível em: http://apps.who.int/gb/ebwha/pdf_files/WHA70/A70_28-en.pdf?ua=1 . Acessado em: 12/07/2017.

WONG, L.L.R., CARVALHO, J.A. O rápido processo de envelhecimento do Brasil: sérios desafios para as políticas públicas. **Rev Bras Estud Popul** 2006; 23(1): 5-26.

XYDAKIS, M. S.; BELLUSCIO, L. Detection of neurodegenerative disease using olfaction. **The Lancet. Neurology**, v. 16, n. 6, p. 415–416, 1 jun. 2017.

YU, Q. *et al.* Olfactory Dysfunction and Its Relationship with Clinical Symptoms of Alzheimer Disease. **Aging and disease**, v. 9, n. 6, p. 1084–1095, dez. 2018.

APÊNDICE 1

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

Eu, Marlise Araújo dos Santos, PhD, responsável pela pesquisa: **Avaliação de um novo teste olfativo para auxílio no diagnóstico da Doença de Alzheimer**, juntamente com nossos colaboradores, estamos fazendo um convite para você participar como voluntário nesse estudo.

Esta pesquisa pretende avaliar a aplicação de um novo teste olfativo para auxílio no diagnóstico de Doença de Alzheimer.

Acreditamos que ela seja importante porque pretende investigar a correlação entre os testes cognitivos e neurológicos de imagem com a hiposmia, para que esse teste possa, posteriormente, ser aplicado no Sistema Único de Saúde como alternativa no auxílio do diagnóstico precoce da Doença de Alzheimer.

Para a sua realização será feito o seguinte: você responderá a um questionário, será examinado tanto física como mentalmente, e irá passar pelo teste de olfato. Para a realização do teste do olfato, você colocará uma máscara e, através dela, sentirá diferentes odores. Ao sentir o odor, você imediatamente apertará um botão para avisar ao avaliador que o sentiu. Este tempo será medido. Em outro dia, você será submetido a avaliação de diferentes odores liberados através do uso de canetas contendo diferentes odores, teste este chamado *Sniffin Sticks*[®]. Em cada um dos dias o teste terá uma duração máxima de 2 horas.

Sua participação é voluntária. Só responderá a essas avaliações se concordar. A não participação não mudará em nada seu atendimento, seja ele realizado no ambulatório ou no consultório médico.

O possível desconforto que você poderá ter ao participar da pesquisa está relacionado ao deslocamento até o Ambulatório de Neurologia no HSL da PUCRS, ou no consultório médico localizado no Centro Clínico da PUCRS, ao cansaço e/ou desconforto ou alergia aos odores.

Você tem o direito de pedir uma indenização por qualquer dano que resulte da sua participação no estudo.

Os benefícios que esperamos como estudo focam em contribuir para o desenvolvimento de ferramentas que possam auxiliar no diagnóstico precoce de Doença de Alzheimer.

Durante todo o período da pesquisa você tem o direito de esclarecer qualquer dúvida ou pedir qualquer outro esclarecimento, bastando para isso entrar em contato, com Marlise Araújo dos Santos, PhD, no telefone (51) 998287743 a qualquer hora.

Em caso de algum problema relacionado com a pesquisa você terá direito à assistência gratuita que será prestada pelo médico pesquisador da equipe, no Ambulatório de Neurologia do Hospital São Lucas da PUCRS.

Você tem garantido o seu direito de não aceitar participar ou de retirar sua permissão, a qualquer momento, sem nenhum tipo de prejuízo ou retaliação, pela sua decisão.

Se por algum motivo você tiver despesas decorrentes da sua participação neste estudo com transporte e/ou alimentação, você será ressarcido adequadamente pelos pesquisadores.

As informações desta pesquisa serão confidenciais, e serão divulgadas apenas em eventos ou publicações científicas, não havendo identificação dos participantes, a não ser entre os responsáveis pelo estudo, sendo assegurado o sigilo sobre sua participação.

Caso você tenha qualquer dúvida quanto aos seus direitos como participante de pesquisa, entre em contato com Comitê de Ética em Pesquisa da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (CEP-PUCRS) em (51) 33203345, Av. Ipiranga, 6681/prédio 50 sala 703, CEP: 90619-900, Bairro Partenon, Porto Alegre – RS, e-mail: cep@pucrs.br, de segunda a sexta-feira das 8h às 12h e das 13h30 às 17h. O Comitê de Ética é um órgão independente constituído de profissionais das diferentes áreas do conhecimento e membros da comunidade. Sua responsabilidade é garantir a proteção dos direitos, a segurança e o bem-estar dos participantes por meio da revisão e da aprovação do estudo, entre outras ações.

Ao assinar este termo de consentimento, você não abre mão de nenhum direito legal que teria de outra forma.

Não assine este termo de consentimento a menos que tenha tido a oportunidade de fazer perguntas e tenha recebido respostas satisfatórias para todas as suas dúvidas.

Se você concordar em participar deste estudo, você rubricará todas as páginas e assinará e datará duas vias originais deste termo de consentimento. Você receberá uma das vias para seus registros e a outra será arquivada pelo responsável pelo estudo.

Eu, _____ (nome completo do participante), após a leitura (ou a escuta da leitura) deste documento e de ter tido a oportunidade de conversar com o pesquisador responsável, para esclarecer todas as minhas dúvidas, acredito estar suficientemente informado, ficando claro para mim que minha participação é voluntária e que posso retirar este consentimento a qualquer momento sem penalidades ou perda de qualquer benefício. Estou ciente também dos objetivos da pesquisa, dos procedimentos aos quais serei submetido, dos possíveis danos ou riscos deles provenientes e da garantia de confidencialidade e esclarecimentos sempre que desejar.

Diante do exposto expesso minha concordância de espontânea vontade em participar deste estudo.

Assinatura do participante da pesquisa ou de seu representante legal

Assinatura de uma testemunha

DECLARAÇÃO DO PROFISSIONAL QUE OBTEVE O CONSENTIMENTO

Expliquei integralmente este estudo clínico ao participante ou ao seu cuidador. Na minha opinião e na opinião do participante e do cuidador, houve acesso suficiente às informações, incluindo riscos e benefícios, para que uma decisão consciente seja tomada.

Data: _____

Assinatura do Investigador

Nome do Investigador (letras de forma)

APÊNDICE 2

QUESTIONÁRIO CONDIÇÕES DE SAÚDE E ASPECTOS SOCIOCULTURAIS

Nome:

Data de nascimento:

Sexo : (F) (M)

Lateralidade:

Endereço:

Escolaridade:

Profissão:

Ocupação atual:

Língua materna:

Outros idiomas:

Com quem mora?

Contato responsável:

Histórico saúde

	Sim	Não	Qual
Doenças psiquiátricas(ansiedade, depressão, outras demências)			
Doenças cardíacas			
Doenças neurológicas (TCE, tumor, epilepsia, meningite, AVC)			
Dificuldade visão			Corrigido?
Dificuldade audição			Corrigido?
Problemas respiratórios(sinusite,rinite)			
Fumo			
Bebidas alcoólicas			

Medicações

NOME	RAZÃO	DOSAGEM

AUTO AVALIAÇÃO OLFATO em relação ao passado: () pior () igual () melhor

Observações:

ANEXO 1 - ESCALA DE ESTADIAMENTO CDR (CLINICAL DEMENTIA RATING)

AValiação Clínica da Demência – CLINICAL DEMENTIA RATING (CDR)

NOME: _____ DATA DA AVALIAÇÃO: _____

	SAUDÁVEL CDR 0	DEMÊNCIA QUESTIONÁVEL CDR 0,5	DEMÊNCIA LEVE CDR 1	DEMÊNCIA MODERADA CDR 2	DEMÊNCIA GRAVE CDR 3
MEMÓRIA	Sem perda da memória, ou apenas esquecimento discreto e inconsistente []	Esquecimento leve e consistente; lembrança parcial de eventos; esquecimento "benigno" []	Perda de memória moderada, mais acentuada para fatos recentes, o déficit interfere com atividades do dia-a-dia []	Perda de memória grave; apenas material muito aprendido é retido; materiais novos são rapidamente perdidos []	Perda de memória grave; apenas fragmentos permanecem []
ORIENTAÇÃO	Plenamente orientado []	Plenamente orientado []	Dificuldade moderada com as relações do tempo; orientado no espaço, no exame, mas pode ter desorientação geográfica em outros locais []	Geralmente desorientado []	Orientação pessoal apenas []
JULGAMENTO E SOLUÇÃO DE PROBLEMAS	Resolve bem problemas do dia-a-dia; juízo crítico é bom em relação ao desempenho passado []	Leve comprometimento na solução de problemas, semelhanças e diferenças []	Dificuldade moderada na solução de problemas, semelhanças e diferenças; julgamento social geralmente mantido []	Gravemente comprometido para solução de problemas, semelhanças e diferenças; juízo social geralmente comprometido []	Incapaz de resolver problemas ou de ter qualquer juízo crítico []
ASSUNTOS DA COMUNIDADE	Função independente nas atividades de trabalho, compras, negócios, finanças e grupos sociais []	Leve dificuldade nestas atividades []	Incapaz de funcionar independentemente nas atividades, embora ainda possa desempenhar algumas; pode parecer normal na avaliação inicial []	Sem possibilidade de desempenho fora de casa; parece suficientemente bem para ser levado a atividades fora de casa []	Sem possibilidade de desempenho fora de casa; parece muito doente para ser levado a atividades fora de casa []
LAR E PASSATEMPOS	Vida em casa, passatempos e interesses intelectuais mantidos []	Vida em casa, passatempos e interesses intelectuais levemente afetados []	Comprometimento leve mas evidente em casa; abandono de tarefas mais difíceis; passatempos e interesses mais complicados são abandonados []	Só realiza tarefas mais simples. Interesses muito limitados e pouco mantidos []	Sem qualquer atividade significativa em casa []
CUIDADOS PESSOAIS	Plenamente capaz []	Plenamente capaz []	Necessita de assistência ocasional []	Requer assistência no vestir e na higiene []	Requer muito auxílio nos cuidados pessoais. Geralmente incontinente []

Score final: _____

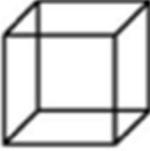
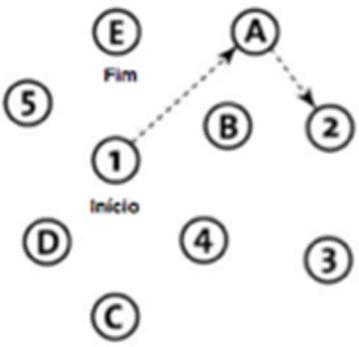
Assinatura e carimbo do médico

ANEXO 2 - MINI EXAME DO ESTADO MENTAL (MEEM)

Orientação temporal (5 pontos)	Qual a hora aproximada?
	Em que dia da semana estamos?
	Que dia do mês é hoje?
	Em que mês estamos?
	Em que ano estamos?
Orientação espacial (5 pontos)	Em que local estamos?
	Que local é este aqui?
	Em que bairro nós estamos ou qual é o endereço daqui?
	Em que cidade nós estamos?
Registro (3 pontos)	Repetir: CARRO, VASO, TIJOLO
Atenção e cálculo (5 pontos)	Subtrair: $100-7 = 93-7 = 86-7 = 79-7 = 72-7 = 65$
Memória de evocação (3 pontos)	Quais os três objetos perguntados anteriormente?
Nomear 2 objetos (2 pontos)	Relógio e caneta
REPETIR (1 ponto)	"Nem aqui, nem ali, nem lá"
Comando de estágios (3 pontos)	Apanhe esta folha de papel com a mão direita, dobre-a ao meio e coloque-a no chão
Escrever uma frase completa (1 ponto)	Escrever uma frase que tenha sentido
Ler e executar (1 ponto)	Fechе seus olhos
Copiar diagrama (1 ponto)	Copiar dois pentágonos com interseção 

Fonte: Brucki SMD, Nitrini R, Caramelli P, Bertolucci PHB, Okamoto H. Sugestões para o uso do mini-exame do estado mental no Brasil. Arq Neuropsiquiatr. 2003; 61(3B):777-81.

ANEXO 3 - MONTREAL COGNITIVE ASSESSMENT (MOCA)

VISUO-ESPACIAL / EXECUTIVA							Copiar o cubo Desenhar um Relógio (onze e dez) (3 pontos)	Pontos
		<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>					<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	___/5
NOMEAÇÃO		  					<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	___/3
MEMÓRIA	Leia a lista de palavras. O sujeito deve repeti-las. Realize dois ensaios. Solicite a evocação da lista 5 minutos mais tarde.	Boca	Linho	Igreja	Cravo	Azul	Sem Pontuação	
	1º ensaio							
	2º ensaio							
ATENÇÃO	Leia a sequência de números. (1 número/segundo) O sujeito deve repetir a sequência. <input type="checkbox"/> 2 1 8 5 4 O sujeito deve repetir a sequência na ordem inversa. <input type="checkbox"/> 7 4 2						___/2	
	Leia a série de letras (1 letra/segundo). O sujeito deve bater com a mão cada vez que for dita a letra A. Não se atribuem pontos se >= 2 erros	<input type="checkbox"/> FBACMNAAJKLBAFAKDEAAAJAMOFAB					___/1	
	Subtrair de 7 em 7 começando em 100. <input type="checkbox"/> 93 <input type="checkbox"/> 86 <input type="checkbox"/> 79 <input type="checkbox"/> 72 <input type="checkbox"/> 65 4 ou 5 subtrações correctas: 3 pontos; 2 ou 3 correctas: 2 pontos; 1 correcta: 1 ponto; 0 correctas: 0 pontos						___/3	
LINGUAGEM	Repetir: Eu só sei que hoje devemos ajudar o João. <input type="checkbox"/> O gato esconde-se sempre que os cães entram na sala. <input type="checkbox"/>						___/2	
	Fluência verbal: Dizer o maior número possível de palavras que comecem pela letra "P" (1 minuto). <input type="checkbox"/> _____ (N ≥ 11 palavras)						___/1	
ABSTRAÇÃO	Semelhança p.ex. entre banana e laranja = fruta <input type="checkbox"/> comboio - bicicleta <input type="checkbox"/> relógio - régua						___/2	
EVOCAÇÃO DIFERIDA	Deve recordar as palavras SEM PISTAS	Boca	Linho	Igreja	Cravo	Azul	Pontuação apenas para evocação SEM PISTAS	
		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
ORIENTAÇÃO	<input type="checkbox"/> Dia do mês <input type="checkbox"/> Mês <input type="checkbox"/> Ano <input type="checkbox"/> Dia da semana <input type="checkbox"/> Lugar <input type="checkbox"/> Localidade						___/6	
© Z.Nosreddine MD		Examinador: _____				TOTAL	___/30	

ANEXO 4 – FLUÊNCIA VERBAL CATEGÓRICA (FAS) E ANIMAIS

6. Fluência fonética: FAS

F	A	S
1	1	1
2	2	2
3	3	3
4	4	4
5	5	5
6	6	6
7	7	7
8	8	8
9	9	9
10	10	10
11	11	11
12	12	12
13	13	13
14	14	14
15	15	15
16	16	16
17	17	17
18	18	18
19	19	19
20	20	20
21	21	21
22	22	22
23	23	23
24	24	24
1 minuto	1 minuto	1 minuto

7. Category fluency test: Animais

Fluência em Animais	
1	14
2	15
3	16
4	17
5	18
6	19
7	20
8	21
9	22
10	23
11	24
12	25
13	26
1 minuto	

ANEXO 5– ESCALA DE DEPRESSÃO GERIÁTRICA (EDG-15)

8. Geriatric depression scale (GDS-15)

Escala de depressão geriátrica na versão curta (EDG-15)	Score	
	Não	Sim
1. Você está basicamente satisfeito com sua vida?	1	0
2. Você deixou muito de seus interesses e atividades?	0	1
3. Você sente que sua vida está vazia?	0	1
4. Você se aborrece com frequência?	0	1
5. Você se sente de bom humor a maior parte do tempo?	1	0
6. Você tem medo que algum mal vá lhe acontecer?	0	1
7. Você se sente feliz a maior parte do tempo?	1	0
8. Você sente que sua situação não tem saída?	0	1
9. Você prefere ficar em casa a sair e fazer coisas novas?	0	1
10. Você se sente com mais problemas de memória do que a maioria?	0	1
11. Você acha maravilhoso estar vivo?	1	0
12. Você se sente um inútil nas atuais circunstâncias?	0	1
13. Você se sente cheio de energia?	1	0
14. Você acha que sua situação é sem esperanças?	0	1
15. Você sente que a maioria das pessoas está melhor que você?	0	1

0-4: Normal

5-10: Depressão leve-moderada

11-15: Depressão

(Depressão é critério de exclusão)

ANEXO 6 – TESTE DE LIMIAR OLFATIVO

Data :
Nome Paciente:
Resultado:

TESTE DE LIMIAR COM n-BUTANOL

escala de diluições	1							
	2							
	3							
	4							
	5							
	6							
	7							
	8							
	9							
	10							
	11							
	12							
	13							
	14							
	15							
	16							

ANEXO 7 – TESTE DE DISCRIMINAÇÃO OLFATIVA

SNIFFIN STICKS

TESTE DE DISCRIMINAÇÃO

Data:

Idade:

Nome:

Sexo:

Teste Bilateral

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
Vermelho																
Azul																
verde																

Resultado (soma acertos teste discriminação): _____

=

ANEXO 8 – TESTE DE IDENTIFICAÇÃO OLFATIVA

Teste do Olfato - Cartão 01

LARANJA	MORANGO
AMORA	ABACAXI

Teste do Olfato - Cartão 02

FUMAÇA	COURO
COLA	GRAMA

Teste do Olfato - Cartão 03

MEL	CHOCOLATE
BAUNILHA	CANELA

Teste do Olfato - Cartão 04

CEBOLINHA	"PINHO-SOL"
MENTA	CEBOLA

Teste do Olfato - Cartão 05

COCO	NOZES
BANANA	CEREJA

Teste do Olfato - Cartão 06

PÊSSEGO	LIMÃO GALEGO
MAÇA	LARANJA-LIMA

Teste do Olfato - Cartão 07

ALCAÇUZ	MENTA
CEREJA	BOLACHA

Teste do Olfato - Cartão 08

MOSTARDA	BALA DE MENTA
BORRACHA	SOLVENTE DE TINTA

Teste do Olfato - Cartão 09

CEBOLA	ALHO
REPOLHO	CENOURA

Teste do Olfato - Cartão 10

CIGARRO	VINHO
CAFÉ	FUMAÇA

Teste do Olfato - Cartão 11

MELÃO	LARANJA
PÊSSEGO	MAÇA

Teste do Olfato - Cartão 12

CRAVO	CANELA
PIMENTA	MOSTARDA

Teste do Olfato - Cartão 13

PÉRA	PÊSSEGO
AMEIXA	ABACAXI

Teste do Olfato - Cartão 14

CAMOMILA	ROSA
FRAMBOESA	CEREJA

Teste do Olfato - Cartão 15

ANIS	MEL
PINGA	"PINHO-SOL"

Teste do Olfato - Cartão 16

PÃO	QUEJO
PEIXE	PRESUNTO



Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul
Pró-Reitoria de Graduação
Av. Ipiranga, 6681 - Prédio 1 - 3º. andar
Porto Alegre - RS - Brasil
Fone: (51) 3320-3500 - Fax: (51) 3339-1564
E-mail: prograd@pucrs.br
Site: www.pucrs.br