



UNICAMP

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS**

MARIA ANGÉLICA NATALÍCIO

**DESENVOLVIMENTO E USO DE TESTES OLFATÓRIOS EM
ESTUDOS COM PORTADORES DE EPILEPSIA**

**TESE DE DOUTORADO APRESENTADA À FACULDADE
DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS DA UNICAMP
PARA OBTENÇÃO DO TÍTULO DE DOUTOR EM
ALIMENTOS E NUTRIÇÃO NA ÁREA DE CONSUMO
E QUALIDADE DE ALIMENTOS.**

**Maria Aparecida Azevedo Pereira da Silva
ORIENTADORA**

Este exemplar corresponde à versão final da tese
defendida por Maria Angélica Natalicio,
aprovada pela comissão julgadora em 23/03/2012 e orientada
pela Prof^a Dr^a Maria Aparecida Azevedo Pereira da Silva.

Assinatura do Orientador

CAMPINAS, 2012

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA POR
CLAUDIA AP. ROMANO DE SOUZA – CRB8/5816 - BIBLIOTECA DA FACULDADE DE
ENGENHARIA DE ALIMENTOS – UNICAMP

N191d Natalicio, Maria Angélica, 1977-
Desenvolvimento e uso de testes olfatórios em estudos com portadores de epilepsia / Maria Angélica Natalicio. -- Campinas, SP: [s.n.], 2012.

Orientador: Maria Aparecida Azevedo Pereira da Silva.
Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos.

1. Olfato. 2. Epilepsia. 3. Disfunção olfatória. 4. Teste de identificação de odores. I. Silva, Maria Aparecida Azevedo Pereira da. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em inglês: Development and use of olfactory testing in studies of patients with epilepsy

Palavras-chave em inglês:

Olfaction

Epilepsy

Olfactory dysfunction

Odor identification test

Área de concentração: Consumo e Qualidade de Alimentos

Titulação: Doutor em Alimentos e Nutrição

Banca examinadora:

Maria Aparecida Azevedo Pereira da Silva [Orientador]

Eliete Vaz de Faria

Karina de Lemos Sampaio

Maria Elisabeth Machado Pinto e Silva

Tereza Cristina Avancini de Almeida

Data da defesa: 23/03/2012

Programa de Pós Graduação: Alimentos e Nutrição

MARIA ANGÉLICA NATALÍCIO

M.Sc. em Ciência de Alimentos

**DESENVOLVIMENTO E USO DE TESTES OLFATÓRIOS EM
ESTUDOS COM PORTADORES DE EPILEPSIA**

Prof^a Dr^a MARIA APARECIDA AZEVEDO PEREIRA DA SILVA
Orientadora

Campinas
2012

BANCA EXAMINADORA

Prof^a Dr^a Maria Aparecida Azevedo Pereira da Silva
Orientadora

Dr^a Eliete Vaz de Faria
Membro Titular

Dr^a Karina de Lemos Sampaio
Membro Titular

Dr^a Maria Elisabeth Machado Pinto e Silva
Membro Titular

Dr^a Tereza Cristina Avancini de Almeida
Membro Titular

Dr^a Clarissa Lin Yasuda
Suplente

Dr^a Fernando Cendes
Suplente

Dr^a Helena Maria André Bolini
Suplente

“De tudo, ficaram três coisas:

A certeza de que estamos sempre começando...

A certeza de que precisamos continuar...

A certeza de que seremos interrompidos antes de terminar....

Portanto devemos:

Fazer da interrupção, um caminho novo ...

Da queda, um passo de dança...

Do medo, uma escada...

Do sonho, uma ponte...

Da procura, um encontro...”

Fernando Sabino

Aos meus queridos pais, Natalin e Sueli, por toda educação transmitida ao longo dos anos, pelo amor, incentivo, apoio e confiança.

Às minhas irmãs Gisele e Flávia pelo amor, carinho e companheirismo.

AGRADECIMENTOS

À Deus pelo dom da vida.

À Prof^a Dr^a Maria Aparecida Azevedo Pereira da Silva pela orientação, ensinamentos, confiança, dedicação durante o desenvolvimento deste trabalho e pela contribuição na minha formação profissional.

Ao Prof. Dr. Fernando Cendes pelos ensinamentos, atenção e por ter concedido a realização do estudo no Departamento de Neurologia da FCM- Unicamp.

À Prof^a Dr^a Heidi Kirsch, por ter me recebido tão bem na University of California, San Francisco (UCSF) e por todo o ensinamento prestado e dedicação.

À todos os membros da banca examinadora pelas valiosas correções e sugestões.

À Prof^a Dr^a Helena Maria André Bolini por todo apoio e atenção no decorrer do curso.

À Dr^a Clarissa Lin Yasuda pelos ensinamentos e dedicação no período em que estive no laboratório de neurologia e pela grande ajuda no recrutamento e análise dos dados dos pacientes que participaram do presente estudo.

À querida Dr^a Karina de Lemos Sampaio pela amizade e ajuda constante. A sua colaboração foi fundamental para a finalização desse trabalho.

À Cristina Korogui e Martha V. dos Santos pela agradável companhia e grandioso auxílio na parte experimental.

À Gláucia Navarro Ruga pela amizade e colaboração para o desenvolvimento da presente pesquisa.

À querida Izabela Rocha pela amizade e socorro na finalização deste trabalho.

Às queridas Nice (Erenice) e Lia (Eliete) por todos os serviços prestados, pelo companheirismo e incentivo.

Aos colaboradores do DEPAN: Cidinha, Sônia, Fátima, Carla, Susana, Eliana e Chico por toda dedicação e serviços prestados.

Aos colaboradores da FEA: Cosme, Marcos e Cláudia pela eficiência e auxílio.

À todos os amigos da FEA e DEPAN que estiverem presentes durante a realização do curso de doutorado pelo companheirismo e momentos de alegria.

Aos colaboradores do Departamento de Neurologia do HC da Unicamp por toda a ajuda durante o período em que estive no setor.

À todos os colaboradores do Departamento de Epilepsia da UCSF pela hospitalidade e auxílio constante.

Aos professores da Faculdade de Engenharia de Alimentos pelas informações e todo conhecimento recebido.

Aos amigos da empresa Hypermarchas por toda compreensão, confiança e apoio.

Ao Conselho Nacional de Pesquisa, Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão das bolsas de estudo.

Às queridas amigas Leila, Tatiane e Lorena, pela ótima convivência, momentos de descontração e amizade.

À todos os voluntários que participaram da presente pesquisa, pois foram fundamentais para a realização deste trabalho.

Aos meus pais Natalin e Sueli, minhas irmãs Gisele e Flávia, meus sobrinhos Vinícius e Luiza e toda minha família pela força, incentivo e pelo maior amor do mundo que recebo todos os dias.

Às amigas Ana Lucia, Nara, Karen, Taisa, Maria Juliane, Andréa, Jomara, Josi, Rubia, Alessandra....que sempre estiveram presentes com todo apoio e amizade verdadeira.

Á todos aqueles que colaboraram direta ou indiretamente para a realização e finalização deste trabalho.

Muito obrigada!

SUMÁRIO

ÍNDICE DE FIGURAS.....	xiv
ÍNDICE DE TABELAS.....	xvi
RESUMO GERAL	xviii
ABSTRACT	xx
INTRODUÇÃO GERAL	1
1. <i>Capítulo 1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA: O SISTEMA OLFATÓRIO: FISIOLOGIA, PATOLOGIAS E MÉTODOS DE AVALIAÇÃO</i>	3
1.1 Anatomia e fisiologia do sistema olfatório	3
1.2 Disfunções do sistema olfatório	7
1.3 Testes para avaliação da função olfatória.....	9
1.3.1 Testes psicofísicos.....	9
1.3.1.1 Testes threshold	9
1.3.1.2 Testes suprathreshold	11
1.3.1.2.1 Teste de identificação de odores.....	11
1.3.1.2.2 Teste de discriminação de odores.....	12
1.3.1.2.3 Teste de memória odorífera	13
1.4 CONCLUSÃO	13
1.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS	14
2. <i>Capítulo 2. TESTE DE IDENTIFICAÇÃO DE ODORES PARA AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO OLFATÓRIA DE BRASILEIROS: DESENVOLVIMENTO, CONFIABILIDADE E VALIDAÇÃO</i>	19
RESUMO	19
2.1 INTRODUÇÃO	20
2.2 MATERIAIS E MÉTODOS	25
2.2.1 Voluntários	26

2.2.2 Desenvolvimento do teste de avaliação da capacidade de identificação de odores	27
2.2.2.1 Escolha dos odores e veículo de apresentação dos mesmos	27
2.2.2.2 Desenvolvimento das pastilhas de odor	29
2.2.2.3 Apresentação dos odores	30
2.2.2.4 Caracterização dos odores	30
2.2.3 Desempenho e validação do teste “Pastilhas de Odor”	32
2.2.3.1 Efeito do sexo e da idade na função olfatória de indivíduos	33
2.2.3.1.1 Voluntários	33
2.2.3.1.2 Teste olfatório	33
2.2.3.2 Efeito da epilepsia do lobo temporal (ELT) na função olfatória dos indivíduos	35
2.2.3.2.1 Voluntários	35
2.2.3.2.2 Teste olfatório	37
2.2.4 Coeficiente de confiabilidade do teste “Pastilhas de Odor”	38
2.2.5 Estabilidade das pastilhas de odor	38
2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	38
2.3.1 Caracterização de “Pastilhas de Odor”	38
2.3.2 Desempenho e validação do teste “Pastilhas de Odor”	47
2.3.2.1 População controle vs. Terceira idade	47
2.3.2.2 Homens vs. mulheres	52
2.3.2.3 População Controle vs. Portadores de Epilepsia do Lobo Temporal (ELT)	54
2.3.3 Confiabilidade do teste “Pastilhas de Odor”	58
2.3.4 Estabilidade das pastilhas de odor	59
2.4 CONCLUSÃO	60
2.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	60
ANEXO A	128
ANEXO B	131

3. Capítulo 3. DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE TESTE DE AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE DE DISCRIMINAÇÃO DE ODORES DE INDIVÍDUOS.....	66
RESUMO.....	66
3.1 INTRODUÇÃO.....	67
3.2 MATERIAIS E MÉTODOS	71
3.2.1 Voluntários.....	72
3.2.2 Desenvolvimento do teste de discriminação de odores.....	73
3.2.2.1 Seleção de voláteis odoríferos	73
3.2.2.2 Formulação de estímulos odoríferos	74
3.2.3 Desempenho e validação do teste de discriminação de odores	79
3.2.3.1 Teste olfatório	79
3.2.3.2 Análise dos resultados	81
3.2.4 Acuidade Olfatória	82
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	83
3.3.1 Intensidade e pungência dos estímulos odoríferos	83
3.3.2 Desempenho e validação do teste de discriminação de odores	86
3.3.2.1 População Controle vs. Terceira Idade	86
3.3.2.2 População Controle: Homens vs. Mulheres	88
3.3.2.3 População Controle: Narina Direita vs. Narina Esquerda	90
3.3.2.4 População Controle vs. Portadores de Epilepsia.....	91
3.4 CONCLUSÃO	94
3.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	94
ANEXO A.....	128
ANEXO B.....	131
4. Capítulo 4. ODOR IDENTIFICATION AND EMOTION RECOGNITION IN TEMPORAL LOBE EPILEPSY	100
ABSTRACT	100

4.1 INTRODUCTION.....	101
4.2 METHOD	105
4.2.1 Subjects	105
4.2.2 Procedure	107
4.2.2.1 Evaluation of olfactory function	107
4.2.2.1.1 Odor threshold test.....	107
4.2.2.1.2 Odor identification test	108
4.2.2.2 Facial and prosody emotion assessment	109
4.2.3.1 Data analysis	111
4.3 RESULTS AND DISCUSSION.....	111
4.3.1 Olfactory function	111
4.3.2 Emotion	116
4.3.3 Correlations between the emotion recognition and odor identification ability.....	119
4.4 CONCLUSION.....	119
4.5 REFERENCES.....	120
CONCLUSÃO GERAL	125

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1: Estruturas relacionadas ao mecanismo de transdução do sistema olfatório.....	5
Figura 1.2: Localização de estruturas cerebrais relacionadas ao processamento olfatório ...	6
Figura 2.1A: Pastilha de odor	27
Figura 2.1B: Embalagem de armazenamento individual da pastilha de odor	27
Figura 2.1C: Frasco utilizado para apresentação do odor ao indivíduo	27
Figura 2.2: Indivíduo realizando o teste “Pastilhas de Odor”	31
Figura 2.3: Teste de identificação de odores, conforme apresentado no livreto de “Pastilhas de Odor”	34
Figura 2.4: Valores médios de intensidade de aroma, de pungência, de refrescância, de aceitação e de familiaridade dos 36 odores do teste “Pastilhas de Odor”	40
Figura 2.5: Valores médios de intensidade de aroma (S = Strength), de familiaridade (F=Familiarity), pungência (I=Irritation), aceitação (P/U=Pleasantness/Unpleasantness) e “Warm/Cool” (W/C) dos 40 odores do teste UPSIT desenvolvido por Doty et al., (1984)	41
Figura 2.6A: Histogramas de frequência mostrando o total de pontos de identificação obtidos por cada amostra de “Pastilhas de Odor” ($n_1= 36$ amostras, $n_2= 52$ indivíduos)	46
Figura 2.6B: Histogramas de frequência mostrando o total de pontos de identificação obtidos por cada amostra do UPSIT ($n_1= 40$ amostras, $n_2= 52$ indivíduos)	46
Figura 2.7: Distribuição da % de identificações corretas dos indivíduos do grupo controle (Grupo I) e da terceira idade (Grupo II) no teste “Pastilhas de Odor”	49
Figura 2.8: Porcentagem de identificações corretas do grupo controle e da terceira idade em cada um dos 36 odores do teste “Pastilhas de Odor”	50
Figura 2.9A: Porcentagem de respostas corretas em diferentes idades de indivíduos do sexo feminino do grupo controle e terceira idade utilizando-se o teste “Pastilhas de Odor” .	51
Figura 2.9B: Numero de pontos corretos em diferentes idades de indivíduos do sexo feminino e masculino do grupo controle e terceira idade utilizando-se o teste UPSIT	52
Figura 2.10: Porcentagens de homens e mulheres do grupo controle que identificaram corretamente cada odor do teste “Pastilhas de Odor”	54
Figura 2.11: Porcentagem de identificação dos odores “Pastilha de Odor” alcançadas pelo grupo controle (grupo I), portadores de epilepsia sem cirurgia (grupo III), portadores de epilepsia pós-cirurgia (grupo IV). NE: narina esquerda, ND: narina direita.....	55

Figura 2.12: Porcentagem de identificação dos odores “Pastilhas de Odor” alcançada pelos portadores de epilepsia sem cirurgia (grupo III) e portadores de epilepsia pós cirurgia (grupo IV) nas narinas ipsilateral e contralateral à lesão/lobectomia	56
Figura 2.13: Correlação entre a porcentagem de identificações corretas obtida no teste e reteste (n = 38) do teste de identificação “Pastilhas de Odor”	58
Figura 3.1: Frasco utilizado para apresentação dos estímulos odoríferos aos indivíduos ...	75
Figura 3.2: Voluntária realizando o teste de discriminação de odores.....	76
Figura 3.3A: Taxas de acertos (HR), falsos alarmes (FR), poder discriminativo (d’L) e vício de resposta (CL) para grupo controle e narina direita de portadores de epilepsia obtidos na presente pesquisa	90
Figura 3.3B: Taxas de acertos (HR), falsos alarmes (FR), poder discriminativo (d’L) e vício de resposta (CL) para grupo controle e narina esquerda de portadores de epilepsia obtidos na presente pesquisa.....	90
Figura 3.3C: Taxas de acertos (HR), falsos alarmes (FR), poder discriminativo (d’L) e vício de resposta (CL) de portadores de epilepsia obtidos nos estudos de Hudry et al., (2003) ...	90
Figura 4.1: Squeezable plastic bottles used to detect odor threshold.....	105
Figura 4.2: University of Pennsylvania Smell Identification Test (UPSIT).....	106
Figura 4.3: Percentage of correct odor identification (UPSIT) for each nostril of the control, preoperative and postoperative groups.....	109
Figura 4.4: Effect of the ipsilateral and contralateral odor presentation on the percentage of odor identification by the preoperative and postoperative groups.....	110
Figura 4.5: Threshold detection for amyl acetate for each nostril of the control, preoperative and postoperative groups, expressed as log ₃ dilution from 1.0 x 10 ⁻² v/v (step 0)	111
Figura 4.6: Detection threshold performance: Ipsilateral x contralateral interactions expressed as log ₃ dilution from 1.0 x 10 ⁻² v/v (step 0) amyl acetate in mineral oil	112

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 2.1: Substâncias odoríferas utilizadas no preparo das pastilhas de odor.....	28
Tabela 2.2: Valores médios de cada atributo de odor e respectivos desvios-padrão obtidos nos estudos preliminares de desenvolvimento do UPSIT e no desenvolvimento do teste “Pastilhas de Odor”.....	42
Tabela 2.3: Valores médios de cada atributo de odor das pastilhas de “Pastilhas de Odor” segmentados entre os sexos masculino e feminino (n= 52 indivíduos)	47
Tabela 2.4: Valores médios de cada atributo de odor do teste UPSIT segmentados entre os sexos masculino e feminino (n= 52 indivíduos) (Doty et al., 1984).....	47
Tabela 2.5: Valores médios de limiar de detecção ao álcool fenil etílico (v/v) e respectivos desvios-padrão para a narina esquerda e direita da população controle (grupo I, n=50) e portadores de epilepsia sem cirurgia (grupo III, n=18) e após cirurgia (grupo IV, n=23).....	56
Tabela 2.6: Valores médios de limiar de detecção ao álcool fenil etílico (v/v) e respectivos desvios-padrão para a narina ipsilateral e contralateral de portadores de epilepsia sem cirurgia (grupo III, n=18) e após cirurgia (grupo IV, n=23).....	57
Tabela 3.1: Compostos odoríferos selecionados para compor o teste de avaliação da capacidade de indivíduos em discriminar odores.....	74
Tabela 3.2: Média dos valores de intensidade e pungência de cada amostra e respectivos desvios padrão	83
Tabela 3.3: Valores médios de intensidade e pungência dos 24 estímulos odoríferos do teste de discriminação de odores, segmentados por sexo (n1=26 homens, n2=26 mulheres).	84
Tabela 3.4: Média dos parâmetros taxa de acertos (HR), taxa de falsos alarmes (FR), poder discriminativo (d'_L), vício de resposta (C_L) e respectivos desvios padrão para a população controle ($n_{\text{homens}}=19$; $n_{\text{mulheres}}=27$) e o grupo da terceira idade ($n_{\text{mulheres}}=14$).....	84
Tabela 3.5: Limiares de detecção médios e respectivos desvios padrão da população controle ($n_{\text{homens}}=10$; $n_{\text{mulheres}}=15$) e do grupo da terceira idade ($n_{\text{mulheres}}=14$).....	85
Tabela 3.6: Taxa de acertos (HR), taxa de falsos alarmes (FR), poder discriminativo (d'_L), vício de resposta (C_L) e respectivos desvios padrão da população controle ($n_{\text{homens}}=19$; $n_{\text{mulheres}}=27$).	86
Tabela 3.7: Valores médios da taxa de acertos (HR), taxa de falsos alarmes (FR), poder discriminativo (d'_L), vício de resposta (C_L) e respectivos desvios padrão da narina direita da população controle ($n_{\text{homens}}=25$; $n_{\text{mulheres}}=25$).	87
Tabela 3.8: Valores médios da taxa de acertos (HR), taxa de falsos alarmes (FR), poder discriminativo (d'_L), vício de resposta (C_L) e respectivos desvios padrão da narina esquerda da população controle ($n_{\text{homens}}=25$; $n_{\text{mulheres}}=25$).	87

Tabela 3.9: Valores médios da taxa de acertos (HR), taxa de falsos alarmes (FR), poder discriminativo (d'_L), vício de resposta (C_L) e respectivos desvios padrão das narinas esquerda e direita da população controle ($n_{\text{homens}}=25$; $n_{\text{mulheres}}=25$)..... 88

Tabela 3.10: Valores médios do limiar de detecção e respectivos desvios padrão para a narina direita e esquerda da população controle ($n=50$) e portadores de epilepsia ($n=19$) .. 91

Tabela 4.1: Demographic data of the control, preoperative and postoperative groups..... 103

Tabela 4.2: Means (% correct) and standard deviations obtained for the control and, the preoperative and postoperative groups in each subtest of CATS..... 112

Tabela 4.3: Means (% correct) and standard deviations obtained by the control ($n=15$), preoperative ($n=12$) and postoperative ($n=17$) groups for each basic CATS emotion subtest 114

RESUMO GERAL

Testes sensoriais para a avaliação da função olfatória de indivíduos têm sido validados e utilizados em diagnósticos da população em geral, e em portadores de desordens cerebrais e pesquisas em neurociência em particular. No Brasil, testes para serem utilizados com segurança e eficiência para a avaliação da capacidade de identificação e discriminação de odores de indivíduos ainda não foram adequadamente desenvolvidos e validados. Assim, os objetivos da presente pesquisa foram: i) desenvolver, testar e validar testes de identificação e discriminação de odores para avaliar a função olfatória de indivíduos brasileiros, ii) avaliar a potencialidade das metodologias desenvolvidas para uso em pré-diagnóstico clínico de indivíduos da terceira idade e pacientes portadores de epilepsia, iii) verificar o desempenho, em portadores de epilepsia, de uma metodologia já validada e utilizada mundialmente para avaliar a capacidade de identificação de odores de indivíduos e, iv) avaliar em portadores de epilepsia, funções que são processadas por substratos neurais comuns à função olfatória, neste caso, a capacidade de reconhecimento de emoção facial e vocal. Para o teste de identificação de odores, foi desenvolvido um instrumento intitulado “Pastilhas de Odor” contendo em pastilhas individuais, 36 odores familiares aos brasileiros. Os odores foram caracterizados quanto à intensidade, aceitação, pungência, refrescância e familiaridade, sendo considerados adequados para comporem um teste de avaliação da função olfatória. A identificação dos odores de “Pastilhas de Odor” foi realizada através de um teste de múltipla escolha contendo quatro alternativas, das quais apenas uma é a correta. Para o desenvolvimento do teste de discriminação de odores, 24 voláteis odoríferos puros (P.A.), associados a 6 diferentes categorias de odor - doce, verde, frutal, cítrico, floral e desagradável - foram selecionados e diluídos em propilenoglicol. Com essas amostras, 36 testes de comparação pareada foram construídos, onde em cada categoria de odor, uma amostra alvo foi selecionada para ser comparada com as demais da mesma categoria. O desempenho de cada indivíduo neste teste é analisado utilizando-se a teoria “*signal-detection*”, através dos seguintes parâmetros: taxa de acertos (HR), taxa de falsos alarmes (FR), poder discriminativo (d') e vício de resposta (CL). Os dois testes desenvolvidos - “Pastilhas de Odor” e teste de discriminação - foram validados com a participação de três grupos de indivíduos: grupo controle, grupo da terceira idade e grupo de indivíduos portadores de epilepsia do lobo temporal (ELT). A capacidade de identificação de odores, de pacientes norte-americanos portadores de ELT foi também avaliada, utilizando-se com esse fim, o teste já validado, denominado “University of Pennsylvania Smell Identification Test” (UPSIT), o qual consiste em um teste de múltipla escolha, composto por 40 estímulos odoríferos microencapsulados. Adicionalmente, avaliou-se nesses pacientes, a capacidade de reconhecimento de emoção facial e vocal, utilizando-se uma nova ferramenta intitulada “Comprehensive Affect Testing System” (CATS). Com relação à capacidade de identificação de odores dos indivíduos brasileiros, os resultados obtidos através do teste “Pastilhas de Odor” revelaram significância estatística tanto para o efeito “sexo” ($p=0,0003$), como para o efeito “idade” ($p<0,001$). O teste também permitiu identificar que os portadores de ELT, sem cirurgia e após ressecção do lobo temporal, apresentavam menor capacidade de identificação de odores comparativamente ao grupo controle ($p\leq 0,05$); este mesmo resultado foi observado ao aplicar o UPSIT em portadores de ELT norte-americanos, antes e após os mesmos terem sido submetidos à mencionada cirurgia. O teste “Pastilhas de Odor” mostrou ser de fácil manuseio e aplicação em indivíduos adultos, apresentou alto coeficiente de confiabilidade no teste-reteste ($r=0,87$, $p<0,001$) e suas pastilhas apresentaram boa estabilidade ao armazenamento durante 3 meses. Por sua vez, os dados obtidos através do teste de discriminação de odores identificaram que tanto o grupo da terceira idade como o dos portadores de ELT apresentaram poder discriminativo e taxa de acertos inferiores ($p\leq 0,05$) aos indivíduos do grupo controle. Os resultados obtidos pela aplicação do teste CATS em indivíduos norte-americanos, revelaram que pacientes ELT tanto pré- como pós-cirúrgicos apresentaram menor reconhecimento de emoção facial e vocal quando

comparados com o grupo controle, principalmente para as emoções negativas. O fato dos testes “Pastilhas de Odor” e de discriminação de odores desenvolvidos na presente pesquisa terem detectado deficiência olfatória nos indivíduos brasileiros da terceira idade e portadores de epilepsia, constrói validade para a utilização dos mesmos em diagnósticos clínicos associados a essas populações.

ABSTRACT

Sensory tests to evaluate olfactory function have been validated and used in the diagnosis of subjects, mainly in brain disorders patients, and in the neuroscience research. In Brazil, reliable tests of odor discrimination and identification have not been appropriately developed and validated. The aims of the present study were: i) to develop, test and validate odor discrimination and identification tests to assess olfactory function of Brazilian population; ii) to evaluate the methodologies performance in the diagnosis of elderly subjects and epilepsy patients. For odor identification test, the developed instrument was entitled "Odor Tablets", with 36 different odors familiar to Brazilians; to verify the performance in patients with epilepsy, a methodology previously validated and used worldwide to evaluate the ability to identify odors of individuals, and iv) to evaluate in patients with epilepsy, functions that are processed by common neural substrates for olfactory function, in this case, the ability of recognition of voice and facial emotion. Odors were rated as to their intensity, pleasantness, pungency, coolness and familiarity and they were considered suitable for composing a test to assess olfactory function. "Odor Tablets" proceeded through multiple-choice test with four alternatives which only one was correct. For the development of odor discrimination test, 24 pure odorants, associated with six different odor categories – sweet, green, fruity, citric, floral and unpleasant - were selected and diluted in propylene glycol. With these samples, 36 paired comparison tests were constructed, where in each odor category, a target sample was selected to be compared with the others in the same category. The participant's performance in the odor discrimination test was analyzed using the "signal-detection" theory through the following parameters: hit rate (HR), false-alarm rate (FR), discrimination measurement (d') and bias response (C_b). Both tests, "Odor Tablets" and odor discrimination test, were validated with three groups of subjects: control group, elderly group and temporal lobe epilepsy patients group (TLE). The ability to identify odors from North American TLE patients was also measured, using for this purpose, the validated test "University of Pennsylvania Smell Identification Test" (UPSIT), a multiple choice test consisting of 40 microencapsulated odor stimuli. In addition, the ability of recognition of voice and facial emotion of TLE patients were evaluated using a new tool entitled "Comprehensive Affect Testing System" (CATS). For the subject's ability to identify odors, there were significant differences for gender ($p=0.0003$) and age ($p<0.001$). Also, for this test, the results showed that pre- and post-surgery epilepsy patients presented lower performance than the control group ($p\leq 0.05$); This same result was observed when applying the UPSIT in American TLE patients before and after surgery. "Odor Tablets" proved to be easy to administer in adult subjects, showed a high coefficient of the test-retest reliability ($r = 0.87$, $p<0.001$), and the tablets presented a storage stability for 3 months. The discrimination test results showed that elderly and epilepsy patient groups presented lower performance in the discrimination measurement and hit rate parameters than the control group. The results obtained using the CATS test in American TLE patients revealed that both pre-and post-surgery showed deficits in the facial and vocal emotions when compared with the control group, especially for negative emotions. The fact that the "Odor Tablets" and the discrimination odor test developed in the present study had detected olfactory dysfunction in elderly subjects and epilepsy patients, provides their validity for use in the diagnoses of these population.

INTRODUÇÃO GERAL

O olfato é fundamental para a qualidade de vida e segurança dos indivíduos, pois é responsável pela percepção do aroma e sabor de alimentos e bebidas e funciona como um sistema de alerta diante de produtos que podem ser prejudiciais à saúde (Rolls, 1997; Nordin et al., 2000; Mattes, 2003; Doty, 2009).

A perda ou diminuição do sentido do olfato é uma incidência comum na população em geral e ocorre devido a vários fatores, dentre eles, o envelhecimento do ser humano (Doty et al., 1984; Wang et al., 2005; Rawson, 2006; Larsson et al., 2009), a obstrução das vias nasais, danos no neuroepitélio olfatório e em estruturas olfatórias centrais e/ou conexões (Deems et al., 1991; Victor et al., 2001; Doty & Deems, 2001; Wrobel & Leopold, 2004; Kovacs, 2004; Doty, 2005), entre outros. Desordens cerebrais, como doença de Parkinson, esclerose múltipla, esquizofrenia, síndrome de Kallmann, entre outras, estão também associadas à disfunção olfatória (Doty et al., 1997; Meshulam et al., 1998; Moberg et al., 1999; Doty & Deems, 2001; Kovacs, 2004).

A epilepsia, condição neurológica grave de maior prevalência no mundo (Min & Sander, 2003), encontra-se entre as desordens cerebrais com impacto na função olfatória. Ela promove deficiências na capacidade de discriminação, identificação e memória dos indivíduos para odores (Eskenazi et al., 1986; Carrol et al., 1993; West & Doty, 1995; Savic et al., 1997; Kohler et al., 2001; Hudry et al., 2003). Assim, testes olfatórios cientificamente validados têm sido utilizados para identificar e lateralizar regiões epileptogênicas de origem no lobo temporal (Savic et al., 1997; Doty, 2008), funcionando como ferramentas auxiliares no diagnóstico e pesquisas na área de neurociência.

Dentre os testes sensoriais mais utilizados para avaliar a função olfatória dos indivíduos, incluindo os portadores de epilepsia, encontram-se os testes de identificação e

de discriminação de odores. O primeiro avalia a habilidade do indivíduo para perceber e atribuir o correto nome a uma série de odores apresentados (Martzke et al., 1997) enquanto o segundo requer que o indivíduo, após cheirar dois odores, identifique se eles são iguais ou diferentes (Zatorre & Jones Gotman, 1991; Kobal et al., 2000).

No mundo, o teste mais utilizado para determinar a capacidade de identificação de odores dos indivíduos é o teste desenvolvido e patenteado pela Universidade da Pensilvânia, conhecido como “*University of Pennsylvania Smell Identification Test (UPSIT)*” (Doty et al., 1984). O UPSIT apresenta nível de confiabilidade adequado nos EUA (0,90 – 0,95) (Doty et al., 1984; Doty et al., 1985; Doty et al., 1995), país onde foi inicialmente validado (Doty et al., 1984). No entanto, vários odores empregados no UPSIT não são familiares a indivíduos de diferentes culturas. Por isso, para a Europa Central, pesquisadores como Kobal et al., (1996), Hummel et al., (1997) e Kobal et al., (2000), desenvolveram o que eles denominaram “bastão de cheirar” (*sniffin’ sticks*). Trata-se de um bastão similar a uma caneta hidrocor que, ao invés de tinta, é quantitativamente preenchida com uma essência odorífera. Em outro teste alternativo de identificação de odores, Hashimoto et al., (2006), apresentam as substâncias odoríferas em batons, denominados “*odor sticks*”.

No Brasil, testes sensoriais para identificar perda olfatória dos indivíduos, como testes de identificação e/ou discriminação de odores, ainda não foram adequadamente desenvolvidos e validados. Esta é uma dificuldade adicional a ser transposta por nossos pesquisadores que tentam relacionar função olfatória com desordens cerebrais. O desenvolvimento e validação dessas metodologias se fazem necessário porque elas são ferramentas auxiliares valiosas tanto em diagnósticos de doenças cerebrais, como em pesquisas no campo da neurociência.

Capítulo 1. O SISTEMA OLFATÓRIO: FISIOLOGIA, PATOLOGIAS E MÉTODOS DE AVALIAÇÃO

1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1 Anatomia e fisiologia do sistema olfatório

Em indivíduos adultos, três sistemas neurais relacionam-se ao olfato: o sistema olfatório (nervo craniano I - nervo olfatório), o sistema trigeminal (nervo craniano V – nervo trigeminal) e o sistema do nervo terminal (nervo craniano 0 – nervo terminal). O nervo craniano I é responsável pela mediação do odor propriamente dito e pelas sensações de sabor, já o nervo craniano V pelas sensações somatossensoriais como irritação, ardor e refrescância. Quanto ao nervo craniano 0, sua função ainda não é conhecida em seres humanos, mas sabe-se que em algumas espécies está relacionado à reprodução (Doty et al., 1978; Doty, 2001; Doty & Deems 2001; Doty & Mishra 2001).

O sistema olfatório apresenta aproximadamente 6 milhões de células receptoras bipolares, sendo estas neurônios dos quais os corpos celulares, dendritos e porções iniciais de axônio encontram-se no neuroepitélio olfatório, localizados nas partes superiores e posteriores da cavidade nasal, mais especificamente na altura da lâmina crivosa do osso etmoide, cobrindo a placa cribiforme, concha nasal superior e porção superior do septo nasal (Moran et al., 1982; Paik et al., 1992; Victor et al., 2001). Leopold et al., (2000) realizou estudos de eletro-olfatografia e constatou que o neuroepitélio olfatório apresenta uma maior distribuição, se estendendo na inserção anterior das conchas nasais mediais.

As células receptoras apresentam uma característica única que é a capacidade de se regenerarem. Além disso, cada célula receptora expressa somente um tipo de receptor olfatório, mas responde para uma variedade de odores, ou seja, diferentes odores podem

ativar o mesmo receptor. No entanto, um determinado receptor, não responde para todos os estímulos o qual outro receptor responde (Johnson & Leon, 2007).

O neuroepitélio olfatório também apresenta células de suporte ou sustentação que isolam fisicamente as células receptoras umas das outras, secretam mucopolissacarídeos, degradam odorantes protegendo o epitélio de danos causados por agentes externos e transportam algumas moléculas sobre o epitélio. No entanto, a maior parte do muco que cobre a superfície do epitélio olfatório origina-se das glândulas de Bowman, glândulas especializadas encontradas somente no epitélio olfatório (Moran et al., 1982; Doty, 2001; Menco & Morrison, 2003). Células basais estão localizadas na membrana da mucosa olfatória, entre as células de suporte e axônios de neurônios olfatórios. As células basais podem ser subdivididas em células basais horizontais e globosas, sendo que as globosas são muito importantes na regeneração e diferenciação de neurônios olfatórios (Jang et al., 2003). Outro tipo de células encontradas no epitélio olfatório são as células microvilares (Moran et al., 1982; Doty, 2001).

As moléculas de odor quando inaladas são detectadas na cavidade nasal pelas células receptoras bipolares que estão localizadas no neuroepitélio olfatório. As células receptoras apresentam em sua parte apical, nas terminações dendríticas, os cílios olfatórios, sendo que estes se estendem na camada mucosa cobrindo o neuroepitélio e representam o local da transdução sensorial. Nos cílios olfatórios encontram-se as proteínas receptoras de odor, denominadas proteínas-G (Jones & Reed, 1989; Victor et al., 2001).

A etapa inicial da transdução olfatória é a migração dos odores provenientes do ar que estão na cavidade nasal para a fase aquosa do muco olfatório. Os odores então difundem ou são transportados através do meio aquoso para proteínas receptoras dos cílios, induzindo potenciais de ação nas células receptoras (Pevsner & Snyder, 1990). Cada

receptor de odor ativa primeiramente uma proteína G, a qual é acoplado. A proteína G ativa a enzima adenil ciclase que converte ATP em AMP cíclico e ativa um canal iônico o qual se abre permitindo a entrada de íons sódio e cálcio, dando início assim a um potencial de ação ativando a célula (Jones & Reed, 1989; Lowe et al., 1989).

Os axônios das células receptoras, que são emitidos através da membrana basal do neuroepitélio olfatório, projetam-se através da placa cribiforme do osso etmoide e ocorre sinapse no glomérulo (camada glomerular) do bulbo olfatório. Nos glomérulos estão as células mitrais e tufoas, principais neurônios do bulbo olfatório, que apresentam terminações dendríticas responsáveis pela sinapse com as células receptoras. Os axônios das células mitrais e tufoas se unem para formar o trato olfatório lateral, enviando assim os sinais do odor para o Sistema Nervoso Central, onde serão processados (Figura 1.1) (Jones & Reed, 1989; Cullen & Leopold, 1999; Doty & Deems, 2001).

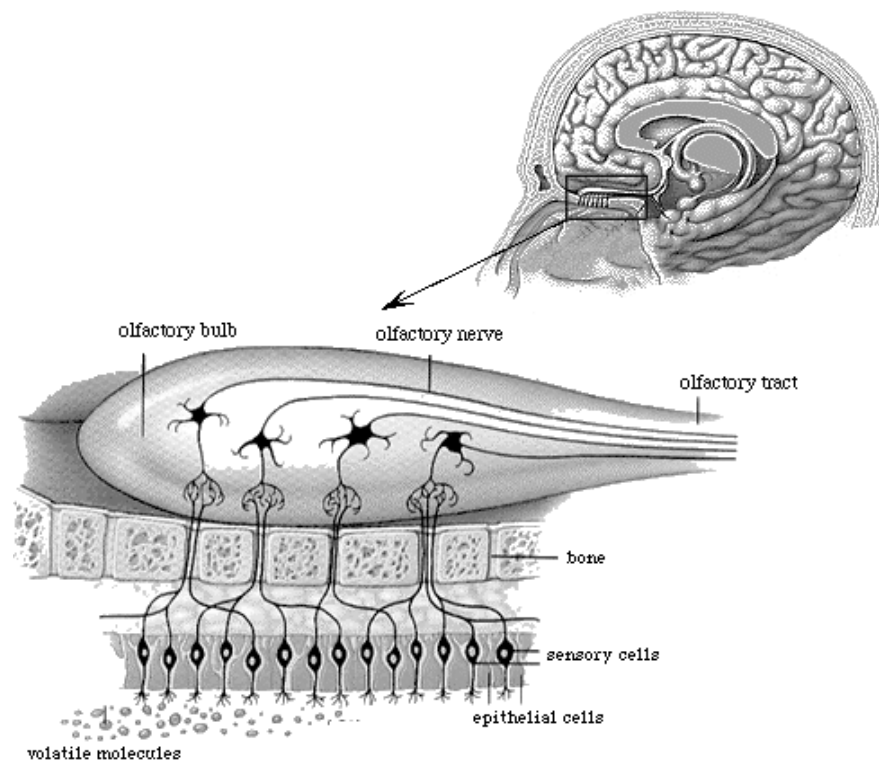


Figura 1.1: Estruturas relacionadas ao mecanismo de transdução do sistema olfatório (Boyle et al., 1999)

Assim, os axônios das células mitrais e tufoas deixam o bulbo olfatório via trato olfatório lateral para realizar sinapse em estruturas do córtex olfatório primário, incluindo o núcleo olfatório anterior, córtex piriforme, núcleo cortical anterior da amígdala, complexo periamigdalóide e o córtex entorrinal rostral. Os componentes do córtex olfatório relacionam-se uns com os outros e com várias estruturas cerebrais superiores, como estruturas do sistema límbico, amígdala e hipocampo e com o córtex frontal e orbitofrontal (Figura 1.2) (Brunjes et al., 2005; Doty, 2009).

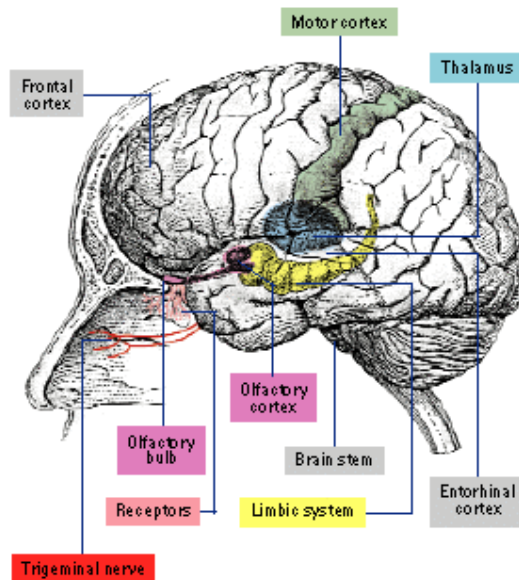


Figura 1.2: Localização de estruturas cerebrais relacionadas ao processamento olfatório (Fischer, 1999).

Em geral, o córtex piriforme está associado com a memória e aprendizado de odores, assim como na correlação entre informações dos sentidos do olfato, visão e gosto. A amígdala, córtex orbitofrontal e frontal relacionam-se com a hedonicidade dos odores agradáveis e desagradáveis. O córtex entorrinal e hipocampo ao aprendizado e memória e o córtex orbitofrontal a detecção de odores, memória de trabalho, aprendizado e memória de reconhecimento de odores de curto e longo termo (Gottfried et al, 2002).

1.2 Disfunções do sistema olfatório

Disfunções olfatórias são comuns na população em geral e ocorrem em aproximadamente 50% da população com idade entre 65 e 80 anos e em 75% dos indivíduos com idade superior a 80 anos (Doty et al., 1984; Ship & Weiffenbach, 1993).

De um modo geral, as disfunções olfatórias podem ser totais (anosmia), reduzidas (hiposmia) ou apresentarem alterações na percepção do odor, incluindo a fantosmia, quando ocorre percepção do odor sem estímulos presentes, a parosmia, quando a percepção de um odor é alterada na presença de um estímulo e cacosmia, quando ocorre a percepção de odores desagradáveis (Wrobel & Leopold, 2004).

A anosmia e hiponosmia podem ocorrer devido ao envelhecimento normal do ser humano ou a uma das seguintes condições: i) obstrução das vias nasais, no qual os odorantes não atingem os receptores olfatórios; ii) danos no neuroepitélio olfatório, decorrente na destruição de receptores ou dos filamentos dos axônios; e, iii) danos em estruturas olfatórias centrais e/ou conexões (Victor et al., 2001; Doty & Deems, 2001; Doty, 2005).

Diversos fatores podem ocasionar diminuição na função olfatória. Infecções respiratórias superiores, traumatismo craniano, e desordens nos seios nasal e paranasal representam dois terços dos casos de anosmia e hiponosmia (Deems et al., 1991). Outras causas incluem intervenções iatrogênicas, neoplasmas intranasais, tumores ou lesões intracranianas, desordens neurodegenerativas, agentes tóxicos, cigarro, desordens psiquiátricas e desordens endócrinas e metabólicas (Doty & Deems, 2001; Wrobel & Leopold, 2004; Doty, 2005). O gênero dos indivíduos também influencia na função olfatória, sendo que as mulheres apresentam geralmente melhor desempenho do que os homens (Doty et al., 1984; Brand & Millot, 2001; Choudhury et al., 2003).

A disfunção olfatória está também associada a diversas desordens cerebrais, incluindo doença de Alzheimer, doença de Parkinson, esclerose múltipla, esquizofrenia, síndrome de Kallmann, epilepsia, entre outras (West & Doty, 1995; Doty et al., 1997; Mesholam et al., 1998; Moberg et al., 1999; Doty & Deems, 2001; Kovacs, 2004).

Dentre as desordens cerebrais que apresentam disfunção olfatória, na doença de Alzheimer e de Parkinson a deficiência está associada com a diminuição da ativação de estruturas centrais do processamento do odor e está presente em 85 a 90% dos pacientes em estágio inicial da doença (Doty et al., 1992). Na doença de Alzheimer, regiões cerebrais do sistema límbico que recebem as projeções das células mitrales e tufoas do bulbo olfatório apresentam elevadas concentrações de emaranhados neurofibrilares e placas senis, contribuindo assim com a perda do olfato. (Reys et al., 1993; Kovacs, 2004). Na doença de Parkinson, a disfunção olfatória pode estar relacionada com o fato de que núcleos específicos da amígdala são diferencialmente danificados nessa patologia (Harding et al., 2002). Os núcleos corticais, que são as principais conexões com regiões olfatórias cerebrais, apresentam perdas neuronais severas e atrofia com proeminente formação de corpo de Lewy (Sims & Williams, 1990).

Outra patologia associada com disfunção olfatória é a esquizofrenia, devido ao fato dos bulbos e tratos olfatórios apresentarem um tamanho menor do que o normal, além das disfunções em substratos neurais do sistema límbico (Moberg et al., 1997; Turetsky et al., 2000; Kohler et al., 2001).

Na epilepsia, deficiências olfatórias ocorrem porque o sistema límbico, localizado no lobo temporal, abriga estruturas que processam sinais gerados por estímulos olfatórios que estão alteradas. Dentre essas estruturas, citam-se principalmente a amígdala, córtex

piriforme, córtex entorrinal e hipocampo (West & Doty, 1995; Kohler et al., 2001; e Grant, 2005).

1.3 Testes para avaliação da função olfatória

Os testes modernos de avaliação da função olfatória são divididos em três classes: testes eletrofisiológicos, testes psicofisiológicos e testes psicofísicos. Os testes eletrofisiológicos são aqueles em que uma influência do estímulo no organismo é medida por mudanças elétricas na região olfatória ou cerebral. Exemplos desses testes são o eletroolfatograma e o potencial evocado cognitivo. Os testes psicofisiológicos dependem de alterações relacionadas ao estímulo com mensurações controladas pelo sistema nervoso autônomo. Como exemplo, mudanças na pressão sanguínea, batimentos cardíacos, respiração, entre outros. Nos testes psicofísicos os estímulos são apresentados ao indivíduo e solicita-se que ele relate algumas informações sobre a sua percepção. Testes de limiar de detecção, discriminação, identificação e memória de odores são uns dos exemplos de testes psicofísicos (Doty & Laing, 2003; Kobal, 2003; Doty, 2006).

Os testes psicofísicos são os mais utilizados na clínica médica para avaliação da função olfatória por não necessitarem de equipamentos complexos e apresentarem testes validados e confiáveis de fácil aplicação. Em geral, os testes psicofísicos podem ser subdivididos em duas classes: threshold e suprathreshold (Doty & Laing, 2003; Kobal, 2003; Doty, 2006).

1.3.1 Testes psicofísicos

1.3.1.1 Testes threshold

Os testes threshold, ou seja, testes de limiar, são utilizados para estimar a menor concentração de um estímulo que pode ser detectada (limiar de detecção), reconhecida

(limiar de reconhecimento) ou diferenciada de outra concentração do mesmo estímulo (limiar de diferenciação) (Meilgaard et al., 1999; Doty, 2006).

Os testes de limiares de detecção são os mais utilizados para avaliar a acuidade olfatória dos indivíduos em estudos sobre a função olfatória humana e sua inter-relação com disfunções cerebrais, uma vez que a avaliação da acuidade olfatória é de fundamental importância para avaliar se o sistema olfatório encontra-se íntegro, validando assim estudos subsequentes de natureza fisiológica-cerebral e cognitiva sobre o indivíduo (Martzke et al., 1997).

Dentre os diversos métodos de limiar de detecção disponíveis na literatura científica, os mais utilizados são o método ascendente de limites e o método “single staircase” (Wrobel & Leopold, 2004; Doty & Laing, 2003). Nessas metodologias, estímulos químicos puros como o álcool fenil etílico e n-butanol são apresentados ao indivíduo em diferentes concentrações. Nos testes, dois frascos são apresentados ao indivíduo, um contendo o estímulo em determinada concentração, começando com a menor concentração, e outro contendo apenas o diluente. Assim, solicita-se que o indivíduo identifique qual frasco contém o estímulo químico (Cain et al., 1983; Cain et al., 1989; Doty et al., 1995; Kobal et al., 2000).

No método ascendente de limites o indivíduo avalia determinado nível de concentração uma única vez; se a identificação for incorreta, a próxima concentração superior é avaliada; quando o indivíduo apresenta uma resposta correta, a mesma concentração do estímulo é apresentada numa série de cinco repetições e se todas as respostas forem corretas determina-se o limiar de detecção (Cain, 1989). No método “single staircase” para cada nível de concentração, o indivíduo avalia cinco repetições. Se uma ou mais respostas incorretas são dadas pelo indivíduo nas cinco repetições, a concentração

imediatamente superior na série “*staircase*” é similarmente testada. A concentração da substância odorífera é aumentada em escala logarítmica até ocorrer a detecção correta nas cinco repetições consecutivas da concentração apresentada. Quando o indivíduo fornece respostas corretas nas cinco repetições de um dado nível de concentração, a “*staircase*” é invertida; movendo-se para cima e para baixo em acréscimos ou decréscimos logarítmicos de 1,0, dependendo do desempenho do indivíduo nos dois testes de concentrações subjacentes. A média geométrica dos primeiros quatro pontos da “*staircase*” onde a inversão iniciou-se, é utilizada como a medida referente ao limiar de detecção do indivíduo (Doty et al., 1995).

1.3.1.2 Testes suprathreshold

Nesses testes, estímulos claramente perceptíveis são utilizados. Os indivíduos são solicitados a identificar, reconhecer, discriminar, lembrar ou mensurar os estímulos. Os testes mais utilizados para avaliar a função olfatória são os de identificação, discriminação e memória de odores (Doty & Laing, 2003; Doty, 2006).

1.3.1.2.1 Teste de identificação de odores

Avalia a habilidade do indivíduo para perceber e atribuir o correto nome aos odores apresentados (Martzke et al., 1997). O teste de identificação de múltipla escolha, onde o indivíduo identifica o estímulo a partir de uma lista contendo quatro termos descritores é o procedimento mais sensível e utilizado (Kobal et al., 2000; Eibeinstein et al., 2005).

O teste mais utilizado para se determinar a capacidade de identificação de odores dos indivíduos é o teste desenvolvido e patenteado pela Universidade da Pensilvânia, conhecido como “*University of Pennsylvania Smell Identification Test (UPSIT)*” (Doty et al., 1984). Trata-se de um teste de múltipla escolha, em que os estímulos estão contidos em microcápsulas fixadas em tiras de papel. Os indivíduos são solicitados a rasparem as tiras e

identificarem o odor liberado escolhendo uma entre quatro alternativas de nomes apresentadas.

Outros testes também desenvolvidos e utilizados para avaliação da função olfatória de indivíduos são o “*Sniffin’ Sticks*” desenvolvido por Kobal et al., (1996) em que trata-se de um bastão similar a uma caneta hidrocor que, ao invés de tinta, é quantitativamente preenchida com uma essência odorífera e o “Odor Sticks” desenvolvido por Hashimoto et al., (2004) para ser utilizada em testes olfatórios de identificação no Japão, através do qual, as substâncias odoríferas são alocadas em batons.

1.3.1.2.2 Teste de discriminação de odores

Avalia a habilidade do indivíduo para discriminar odores. Este teste requer que o indivíduo avalie se dois odores são iguais ou diferentes (Zatorre & Jones Gotman, 1991; Kobal et al., 2000). Diversos pares de amostras apresentando odores iguais ou diferentes são submetidos à avaliação do indivíduo, e sua capacidade de discriminação é calculada de acordo com a proporção de pares de amostras que são corretamente identificadas como possuindo odores iguais ou diferentes (Potter & Butters, 1980; Zatorre & Jones Gotman, 1991). Os resultados também podem ser avaliados utilizando a teoria “*signal detection*”, considerando-se as identificações corretas e os alarmes falsos (Hudry et al., 2003).

Para tanto, um teste triangular é utilizado, onde três amostras são apresentadas: duas contendo o mesmo odor, e uma apresentando odor diferente. O indivíduo é solicitado a identificar a amostra diferente (Kobal et al, 2000). Uma outra metodologia utilizada é a avaliação de pares de odores de acordo com a similaridade e diferença (Parola & Libertini, 1999; Zatorre & Jones Gotman, 1991; Dade et al., 2002; Hudry et al., 2003).

1.3.2. Teste de memória odorífera

Neste teste, inicialmente, o indivíduo é solicitado a avaliar através do olfato, uma série de até 10 estímulos odoríferos. Decorrido um tempo, rigidamente definido de acordo com os objetivos do pesquisador, uma nova série contendo até 20 odores é apresentada ao indivíduo. Este é informado que na nova série haverá odores iguais e odores diferentes daqueles avaliados na primeira série. O indivíduo é então solicitado a identificar, na segunda série, todos os odores que lhe foram apresentados na primeira série. O tempo decorrido entre a primeira e a segunda série de odores pode variar entre alguns segundos (Hudry et al., 2003), alguns minutos (Carrol et al., 1993; Jones-Gotman & Zatorre 1993; Martinez et al., 1993; Dade et al., 2002) e até algumas horas, em função do tipo de memória que se pretende avaliar. O tempo decorrido pode também variar até mais que 24 horas (Jones-Gotman & Zatorre, 1993; Dade et al., 2002), como ocorre na avaliação da memória de longo termo.

1.4 CONCLUSÃO

O sistema olfatório apresenta anatomia e fisiologia complexas ainda não totalmente elucidadas, sendo de fundamental importância o seu entendimento, pois além de estar intimamente interligado a qualidade de vida dos indivíduos, a sua disfunção pode estar relacionada a desordens cerebrais como doença de Alzheimer, Parkinson e epilepsia. Assim, a avaliação da função olfatória pode ser uma ferramenta importante para auxiliar no diagnóstico dessas patologias. Atualmente existem diversos métodos validados para a avaliação da função olfatória de indivíduos, mas ainda é necessário o desenvolvimento de um maior número de métodos de avaliação para que estes sejam adequados à população em estudo e apresentem assim resultados confiáveis.

1.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRAND, G.; MILLOT, J. Sex differences in human olfaction: between evidence and enigma. **The Quarterly Journal of Experimental Psychology**, v.54B, n.3, p.259-270, 2001.

BRUNJES, P.C.; ILLIG, K.R.; MEYER, E.A. A field guide to the anterior olfactory nucleus (cortex). **Brain Res Rev**, v. 50, n.2, p.305-335, 2005.

CAIN, W.S.; GENT, J.; CATALANOTTO, F.A. Clinical evaluation of olfaction. *American Journal of Otolaryngology*, v.4, p. 253-256, 1983.

CAIN, W.S. Testing Olfaction in a clinical setting. **Ear, Nose and Throat Journal**, v. 68, p. 316-328, 1989.

CARROL, B.; RICHARDSON, J.Y.; THOMPSON, P. Olfactory information processing and temporal lobe epilepsy. **Brain-and-cognition**, v.22, n.2, p.230-243, 1993.

CHOUDHURY E.S.; MOBERG, P.; DOTY, R.L.; Influences of age and sex on microencapsulated odor memory test. **Chemical Senses**, v. 28, p.799-805, 2003.

BOYLE, M.; INDGE, B.; SENIOR, K. **Collins Advanced Science–Human Biology**.1999
Disponível em:<<http://www.campus.bt.com/public/ScienceNet/database/Social/Senses/s00122b.html>. Acesso em: 10 out. 2011.

CULLEN, M.M.; LEOPOLD, D.A. Disorders of smell and taste. **Medical Clinics of North America**, v.83, n.1, p.57-74, 1999.

DADE, L.A.; ZATORRE, R.J.; JONES-GOTMAN, M. Olfactory learning: convergent findings from lesion and brain imaging studies in humans. **Brain**, v. 125, p. 86-101, 2002.

DEEMS D. A, DOTY R. L, SETTLE R. G..Smell and taste disorders: A study of 750 patients from the University of Pennsylvania Smell and Taste Center. **Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg**. v.7, p.519-528, 1991.

DOTY, R.L.; BRUGGER, W.E.; JURIS, P.C.; ORNDORFF, M.A.; SNYDER, P.J.; LOWRY, L.D. Intranasal trigeminal stimulation from odorous volatiles: psychometric responses from anosmic and normal humans. **Physiology & Behavior**, v.20, p.175-185, 1978.

DOTY, R.L.; SHAMAN, P.; DANN, M. Development of the University of Pennsylvania Smell Test: Standardized microencapsulated test for olfactory function. **Physiological and Behavior**, 32, 482-502, 1984.

DOTY, R.L.; STERN, M.B.; PFEIFFER, C.; GOLLOMP, S.M.; HURTIG, H.I. Bilateral olfactory dysfunction in early stage treated and untreated idiopathic Parkinson's disease. **J Neurol Neurosurg Psychiatry**, v.55, n.2, p.138-142, 1992.

DOTY, R.L.; MCKEOWN, D.A.; LEE, W.W.; SHAMAN, P. A study of the test-retest reliability of ten olfactory tests. **Chemical Senses**, 20, 646-656, 1995.

DOTY, R.L. LI, C.; MANNON, L.J.; YOUSEM, D.M. Olfactory dysfunction in multiple sclerosis. **New England Journal of Medicine**, 336, 1918-1919, 1997.

DOTY, R.L. Olfaction. **Annual Review of Psychology**, v.52, p. 423-452, 2001.

DOTY, R.L.; DEEMS D.A. Olfactory function and dysfunction. In: BAILEY, B.J.; PILLSBURY, H.C.; NEULANDES, S.D. **Head and Neck Surgery-Otolaryngology**. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, p. 247-260, 2001.

DOTY R.L.; MISHRA, A. Olfaction and its alteration by nasal obstruction, rhinitis and rhinosinusitis. **Laryngoscope**, v. 111, p.409-423, 2001.

DOTY, R.L.; LAING, D.G. Psychophysical measurement of olfactory function, including odorant mixture assessment. In: DOTY R.L. **Handbook of Olfaction and Gustation**. 2nd ed. New York: Marcel Dekker, p. 203-228, 2003.

DOTY, R.L. Clinical studies of olfaction. **Chemical Senses**, v.30, p.207-209, 2005.

DOTY, R.L. Olfactory dysfunction and its measurement in the clinic and workplace. **Int Arch Occup Environ Health**, v. 79, p. 268-282, 2006.

DOTY, R.L. The olfactory system and its disorders. **Seminars in Neurology**, v. 29, n.1, p.74-81, 2009.

EIBENSTEIN, A.; FIORETTI, A.B.; LENA, C.; ROSATI, N.; AMABILE, G.; FUSETTI, M. Modern psychophysical tests to assess olfactory function. **Neurological Sciences**, v.26, p. 147-155, 2005.

FISHER, B.E. Scents Sensitivity. **Environmental Health Perspectives**, v.106, 1999

GOTTFRIED, J.A.; DEICHMAN R.; WINSTON, J.S.; DOLAN, R.J. Functional heterogeneity in human olfactory cortex: an event-related functional magnetic resonance imaging study. **Journal of Neuroscience**, v. 22, n. 24, p; 10819-10828, 2002.

GRANT, A.C. Interictal perceptual function in epilepsy. **Epilepsy & Behavior**, v.6, p.511-519, 2005.

HARDING, A.J.; STIMSON, E.; HENDERSON, J.M.; HALLIDAY, G.M. Clinical correlates of selective pathology in the amygdala of patients with Parkinson's disease. **Brain**, v.125, n.11, p. 2431-2445, 2002.

HASHIMOTO, Y.; FUKAZAWA, K.; FUJII, M.; TAKAYASU, S.; MUTO, T.; SAITO, S.; TAKASHIMA, Y.; SAKAGAMI, M. Usefulness of the odor stick identification test for Japanese patients with olfactory dysfunction. **Chemical Senses**, 29, 565-571, 2004.

HUDRY, J.; PERRIN, F.; RYVLIN, P.; MANGUIERE, F.; ROYET, J.P. Olfactory short-term memory and related amygdala recordings in patients with temporal lobe epilepsy. **Brain**, v.126, n.8, p.1851-1863, 2003.

JANG, W.; YOUNGENTOB, S.L.; SCHWOB, J.E. Globose basal cells are required for reconstitution of olfactory epithelium after menthyl bromide lesion. **Journal Comp Neurol**, v. 460, p. 123-140, 2003.

JONES D.; REED, R.R.; G_{olf}: an olfactory neuron specific-G protein involved in odorant signal transduction. **Science**, v.244, p.790-795, 1989.

JONES-GOTMAN, M.; ZATORRE, R.J. Odor recognition memory in humans: role of right temporal and orbitofrontal regions. **Brain and Cognition**, v.22, p.182-198, 1993.

JOHNSON, B.A.; LEON, M. Chemotropic odorant coding in mammalian olfactory system. **Journal Comp Neurol**, v. 503, p. 1-34, 2007.

KOBAL, G.; HUMMEL, T.; SEKINGER, B.; BARZ, S.; ROSCHER, S.; WOLF, S.R. "Sniffing Sticks": Screening of olfactory performance. **Rhinology**, 34 ,222-226, 1996.

KOBAL, G.; KLIMEK, L.; WOLFENSBERGER, M.; GUDZIOL, H.; TEMMEL, A.; OWEN, C.M.; SEEBER, H.; PAULI, E.; HUMMEL, T. 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 Otorhinolaryngology**, v.257, p.205-211, 2000.

KOBAL, G. Electrophysiological measurement of olfactory function In: DOTY R.L. **Handbook of Olfaction and Gustation**. 2nd ed. New York: Marcel Dekker, p. 229-249, 2003.

KOHLER, C.G.; MOBERG, P.J.; GUR, R.E.; O'CONNOR, M.J.; SPERLING, M.R.; DOTY, R.L. Olfactory dysfunction in schizophrenia and temporal lobe epilepsy. **Neuropsychiatry, Neuropsychology and Behavior Neurology**, v.14, n.2, p.83-88, 2001.

KOVACS, T. Mechanisms of olfactory dysfunction in aging and neurodegenerative disorders. **Ageing Research Reviews**, 3, 215-232, 2004.

LEOPOLD, D.A.; HUMMEL, T.; SCHWOB, J.E.; HONG, S. C.; KNECHT, M.; KOBAL, G. Anterior distribution of human olfactory epithelium. **Laryngoscope**, v. 110, n. 3, p. 417-421, 2000.

LOWE G.; NAKAMURA, T.; GOLD, GH.; Adenylate cyclase mediates olfactory transduction for a wide variety of odorants. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, v. 86, p. 5641-5645, 1989.

MARTINEZ, B.A.; CAIN, W.S.; WIJK, R.A.; SPENCER, D.D.; NOVELLY, R.A.; SASS, K.J. Olfactory functioning before and after temporal lobe resection for intractable seizures. **Neuropsychology**, v.7, n.3, p.351-363, 1993.

MARTZKE, J.S.; KOPALA, L.C.; GOOD, K.P. Olfactory dysfunction in neuropsychiatric disorders: review and methodological considerations. **Biological Psychiatry**, 42, 721-732, 1997.

MATTES, R.D. Nutritional implications of taste and smell disorders. In: Doty RL, ed. **Handbook of Olfaction and Gustation**. New York: Marcel Dekker, p 881-903, 2003.

MEILGAARD, M.; CIVILLE, B.; CARR, T. **Sensory Evaluation Techniques**. 3 ed. Boca Raton: CRC Press, p. 281, 1999.

MENCO, B.P.M.; MORRISON, E.E. Morphology of the mammalian olfactory epithelium: form, fine structure, function and pathology. In: DOTY R.L. **Handbook of Olfaction and Gustation**. 2nd ed. New York: Marcel Dekker, p. 17-49, 2003.

MESHOLAM, R.I.; MOBERG, P.J.; MAHR, R.N.; DOTY, R.L. Olfaction in neurodegenerative disease. A meta-analyses of olfactory functioning in Alzheimer's and Parkinson's diseases. **Archives of Neurology**, 55, 84-90, 1998.

MOBERG, P.J.; DOTY, R.L.; TURETSKY, B.I.; ARNOLD, S.E.; MAHR, R.N.; GUR, R.C.; BILKER, W.; GUR, R.E. Olfactory identification deficits in schizophrenia: correlation with duration of illness. **American Journal of Psychiatry**, v.154, p.1016-1018, 1997.

MOBERG, P.J.; AGRIN, R.; GUR, R.E.; GUR, R.C.; TURETSKY, B.I.; DOTY, R.L. Olfactory dysfunction in schizophrenia: a qualitative and quantitative review. **Neuropsychopharmacology**, 21, 325-340, 1999.

MORAN, D.T.; ROWLEY, J.C.I.I.; JAKEF, B.W.; LOVELL, M.A. The fine structure of the olfactory mucosa in man. **Journal of Neurocytology**, v. 11, p. 721-746, 1982.

NORDIN, S.; BRAMERSON, A.; BLOMGVIST, E.H. Consequences of olfactory dysfunction for life quality and adopted coping mechanisms. **International Journal of Psychology**, v.35, n.3-4, p.108-108, 2000.

PAIK, S.I.; LEHMAN M.N.; SEIDEN, A.M.; DUNCAN, H.J.; SMITH, D.V. Human olfactory mucosa: the influence of age and receptor distribution. **Arch Otolaryngol Head Neck Surgery**, v. 118, p. 731-738, 1992.

PAROLA, S.; LIBERINI, P. Assessing olfaction in the Italian population: methodology and clinical application. **Italian Journal of Neurological Sciences**, v. 20, p.287-296, 1999.

PEVSNER, J.; SNYDER, S.H. odorant-binding protein: odorant transport function in the vertebrate nasal epithelium. **Chemical Senses**, v. 15, n. 2, p. 217-222, 1990.

POTTER, H., BUTTERS, N.M.; An assessment of olfactory deficits in patients with damage to prefrontal cortex. **Neuropsychologia**, v.18, p.621-628, 1980.

REYS, P.F.; DEEMS, D.A.; SUAREZ, M.G.; Olfactory-related changes in Alzheimer's disease: a quantitative neuropathologic study. **Brain Research Bulletin**, v. 32, p.1-5, 1993.

ROLLS, E.T. Taste and olfactory processing in the brain and its relation to the control of eating. **Crit. Rev. Neurobiol.**, v.11, p. 263-287, 1997.

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, 1993.

SIMS, K.S.; WILLIAMS, R.S.; The human amygdaloid complex: a cytologic and histochemical atlas using Nissl, myelin, acetylcholinesterase and nicotinamide adenine dinucleotide phosphate diaphorase staining. **Neuroscience**, v.36, p.449-472, 1990.

TURETSKY, B.I.; MOBERG, P.J.; YOUSEM, D.M.; DOTY, R.L. ARNOLD, S.E.; GUR, R.E. Reduced olfactory bulb volume in patients with schizophrenia. **American Journal of Psychiatry**, v. 157, p.828-830, 2000.

VICTOR, M.; ROPPER, A.H.; ADAMS, R.D. Disorders of smell and taste. In: VICTOR, M.; ADAMS, R.D. **Adams & Victor's Principles of Neurology**. 7 th ed. New York: McGraw-Hill, p. 238-243, 2001.

WANG, J.; ESLINGER, P.J.; SMITH, M.B.; YANG, Q.X. Functional magnetic resonance imaging study of human olfaction and normal aging. **Journals of Gerontology Series A-Biological Sciences and Medical Sciences**, v.60, n.4, p.510-514, 2005.

WEST, S.E.; DOTY, R.L. Influence of epilepsy and temporal lobe resection on olfactory function. **Epilepsia**, 36, 531-542, 1995.

WROBEL, B.B.; LEOPOLD, D.A. Clinical assessment of patients with smell and taste disorders. **Otolaryngologic Clinics of North America**, v.37, p.1127-1142, 2004.

ZATORRE, R.J.; JONES-GOTMAN, M. Human olfactory discrimination after unilateral frontal or temporal lobectomy. **Brain**, v.114, p.71-84, 1991.

Capítulo 2. TESTE DE IDENTIFICAÇÃO DE ODORES PARA AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO OLFATÓRIA DE BRASILEIROS: DESENVOLVIMENTO, CONFIABILIDADE E VALIDAÇÃO

RESUMO

No presente estudo, um teste para avaliação da capacidade de identificação de odores de indivíduos brasileiros foi desenvolvido, testado e validado. O instrumento desenvolvido foi intitulado “Pastilhas de Odor” e contém em pastilhas individuais, 36 odores familiares aos brasileiros. Os odores, pertencentes a diferentes categorias odoríferas, foram caracterizados quanto à intensidade, aceitação, pungência, refrescância e familiaridade, sendo considerados adequados para comporem o teste “Pastilhas de Odor”. Quando um grupo controle apresentando função olfatória normal, um grupo da terceira idade e portadores de epilepsia do lobo temporal avaliaram os 36 odores, identificando-os através de teste de múltipla escolha contendo quatro alternativas, verificou-se significância estatística tanto com relação ao efeito “sexo” dentro do grupo controle ($p=0,0003$), como do efeito “idade” ($p<0,001$) na capacidade de identificação de odores dos indivíduos. Com o teste “Pastilhas de Odor” foi possível detectar a superioridade das mulheres na identificação de odores e a diminuição da função olfatória com o aumento da idade dos indivíduos. Os portadores de epilepsia, sem cirurgia e após ressecção do lobo temporal apresentaram menor capacidade de identificação de odores comparativamente ao grupo controle ($p\leq 0,05$). O fato do teste “Pastilhas de Odor” ter detectado deficiência olfatória nos indivíduos da terceira idade e portadores de epilepsia constrói validade para sua utilização em diagnósticos clínicos associados a essas populações. Adicionalmente, o teste apresentou alto coeficiente de confiabilidade no teste-reteste ($r=0,87$, $p<0,001$) e as pastilhas apresentaram boa estabilidade ao armazenamento durante 3 meses. “Pastilhas de Odor” apresentou-se como um teste de fácil manuseio e aplicação em indivíduos adultos.

Palavras-chave: Olfato, teste de identificação de odores, disfunção olfatória, terceira idade, epilepsia

2.1 INTRODUÇÃO

O olfato é fundamental para a percepção do aroma e sabor de alimentos e bebidas, apresentando impacto sobre o apetite, consumo alimentar e estado nutricional dos indivíduos (Rolls, 1997; Nordin et al., 2000; Mattes, 2003). Ele funciona também como sistema de alerta, importante para a sobrevivência do indivíduo; como no caso de identificação de alimentos deteriorados, poluentes prejudiciais à saúde e outros.

A perda ou diminuição do sentido do olfato, conhecidas respectivamente como estado de anosmia e hiposmia, podem ocorrer devido a vários fatores, dentre eles, o envelhecimento normal do ser humano (Doty et al., 1984; Wang et al., 2005; Rawson, 2006; Larsson et al., 2009) a obstrução das vias nasais, danos no neuroepitélio olfatório, danos em estruturas olfatórias centrais e/ou conexões, dentre outros (Deems et al, 1991; Victor et al, 2001; Doty & Deems, 2001; Wrobel & Leopold, 2004; Kovacs, 2004; Doty, 2005).

Disfunções olfatórias ocorrem em aproximadamente 50% da população com idade entre 65 e 80 anos, e em 75% dos indivíduos com idade superior a 80 anos (Doty et al., 1984).

As alterações olfatórias relacionadas à idade dos indivíduos incluem: o aumento do limiar de detecção de odores (Deems & Doty, 1987; Cain & Gent, 1991; Stevens & Spencer, 1994), a redução na habilidade em identificar odores (Doty et al., 1984; Murphy et al., 1997), a redução da memória para odores (Murphy et al., 1997) e a diminuição na habilidade dos

indivíduos em discriminar odores (Schiffman & Pasternak, 1979; Kobal et al., 2000). Adicionalmente, idosos são mais susceptíveis que jovens à adaptação olfatória e mais lentos para restabelecer a sensibilidade aos odores após uma curta exposição às substâncias odoríferas (Stevens et al., 1989).

A disfunção olfatória decorrente do envelhecimento do indivíduo pode ser causada por alterações na anatomia de estruturas associadas ao olfato, como a perda de células receptoras olfatórias. Mudanças no ambiente que envolve os receptores celulares, como a alteração da composição do muco nasal, pode também causar disfunção olfatória em indivíduos da terceira idade. O envelhecimento do indivíduo pode também alterar a distribuição, a densidade e o desempenho tanto de proteínas receptoras específicas, como de canais iônicos e/ou de moléculas sinalizadoras, reduzindo a habilidade de elementos neurais em processar a informação da substância odorífera, e promovendo assim, disfunção olfatória em idosos (Rawson, 2006).

Perdas olfatórias decorrentes do envelhecimento podem também ser atribuídas à redução da superfície do epitélio olfatório (Paik et al., 1992). Chen et al. (1993) observaram que a densidade e complexidade da inervação adrenérgica da mucosa olfatória diminui com o avanço da idade, associando esse fenômeno a perdas olfatórias na terceira idade. Por sua vez, dentro do bulbo olfatório, o número de células mitrais diminui continuamente com a idade. Estima-se que o bulbo olfatório aos 25 anos contem aproximadamente 60.000 células mitrais, enquanto somente 14.500 células são usualmente encontradas na idade de 95 anos (Bhatnagar et al., 1987). Como as células mitrais estão envolvidas na sinapse dos impulsos gerados pelos receptores olfatórios, essa ocorrência reduz a capacidade olfatória de idosos.

Durante o envelhecimento do indivíduo, alterações relacionadas com o Alzheimer, como o aparecimento de emaranhados neurofibrilares e placas senis no cérebro, podem

contribuir com a perda olfatória de idosos (Kovacs, 2004). Em estudo conduzido por Kovacs et al., (1999), 86% dos indivíduos com idade média de $74,3 \pm 1,5$ anos apresentavam emaranhados neurofibrilares no bulbo olfatório; por sua vez, placas com depósito amilóide foram encontradas em aproximadamente um terço desses indivíduos. O bulbo olfatório é um dos primeiros locais onde as alterações relacionadas com Alzheimer aparecem no cérebro (Kovacs et al., 2001) e, segundo Aizenstein et al., (2008) um em cada cinco idosos cognitivamente normais apresenta sinais de placas amilóides no cérebro, decorrentes de Alzheimer.

Diversas outras desordens cerebrais, como doença de Parkinson, esclerose múltipla, esquizofrenia, síndrome de Kallmann, epilepsia, entre outras, estão também associadas a perdas olfatórias como deficiências na identificação, discriminação e memória para odores (West & Doty, 1995; Doty et al., 1997; Meshulam et al., 1998; Moberg et al., 1999; Doty & Deems, 2001; Kovacs, 2004). Finalmente, outra importante disfunção cerebral que se manifesta associada a deficiências da função olfatória de indivíduos, é a epilepsia, condição neurológica grave, de maior prevalência no mundo (Min & Sander, 2003).

A epilepsia é caracterizada pela ocorrência de crises recorrentes, provocadas por atividades eletroencefálicas anormais, resultantes de danos estruturais de determinadas regiões cerebrais, notadamente os lobos temporais (Carrol et al., 1993). Esta patologia acomete 1% da população mundial -cerca de 60 milhões de pessoas- (Sander & Shorvon, 1996) e, no Brasil, aproximadamente três milhões de indivíduos (Min, 2005).

De acordo com West & Doty (1995), Kohler et al. (2001) e Grant (2005), deficiências olfatórias em portadores de epilepsia ocorrem porque o sistema límbico, localizado no lobo temporal, abriga estruturas que processam sinais gerados por estímulos

olfatórios. Dentre essas estruturas, citam-se principalmente a amígdala, córtex piriforme, córtex entorrinal e hipocampo.

Disfunções olfatórias em portadores de epilepsia do lobo temporal têm sido associadas a problemas na discriminação de odores, na redução da memória de curto e longo termo para odores, além da redução da capacidade do indivíduo em identificar corretamente o nome de odores que lhe são familiares (Eskenazi et al., 1986; Carrol et al., 1993; West & Doty, 1995; Savic et al., 1997; Kohler et al., 2001; Hudry et al., 2003). Uma vez que os aferentes olfatórios projetam-se ipsilateralmente da narina ao córtex do indivíduo, testes olfatórios têm sido utilizados para identificar e lateralizar regiões epileptogênicas de origem no lobo temporal (Savic et al., 1997; Savic, 2000; Doty, 2008), procedimento importante no tratamento do indivíduo.

Uma alternativa frequentemente adotada para portadores de epilepsia do lobo temporal refratária à terapia medicamentosa tem sido a cirurgia com ressecção do lobo temporal. Este procedimento permite controlar as crises epilépticas, melhorando a qualidade de vida dos indivíduos. No entanto, a ressecção do lobo temporal invariavelmente infringe áreas anatômicas associadas ao olfato, incluindo o córtex entorrinal, amígdala, hipocampo, e as conexões com outras estruturas relacionadas com o olfato (Martinez et al., 1993). Consequentemente, diversos estudos têm reportado uma diminuição da capacidade olfatória de portadores de epilepsia após realização de cirurgia de excisão do lobo temporal, notadamente na narina ipsilateral à lesão (Eskenazi et al., 1986; Zatorre & Jones-Gotman; 1991; Savic et al., 1997; Jones-Gotman et al., 1997). Assim, a avaliação da função olfatória, pode vir a ser uma ferramenta auxiliar importante no diagnóstico pré e pós-cirúrgico de epilepsia, incluindo tanto a identificação e lateralização das regiões epileptogênicas de origem no lobo temporal, como a avaliação da eficácia da cirurgia do lobo temporal.

Dentre as perdas olfatórias que acometem portadores de epilepsia, uma das mais estudadas é a capacidade de identificação de odores, definida como a habilidade do indivíduo de atribuir a um odor, o correto nome da substância que o gerou (Carrol et al., 1993; Martzke et al., 1997; Kohler et al., 2001; Morrinson et al., 2002). O teste mais utilizado para se determinar a capacidade de identificação de odores dos indivíduos é o teste desenvolvido e patenteado pela Universidade da Pensilvânia, conhecido como “*University of Pennsylvania Smell Identification Test (UPSIT)*” (Doty et al., 1984). Trata-se de um teste de múltipla escolha, em que os estímulos estão contidos em microcápsulas fixadas em tiras de papel. Os indivíduos são solicitados a rasparem as tiras e identificarem o odor liberado escolhendo uma entre quatro alternativas de nomes apresentadas.

O UPSIT apresenta nível de confiabilidade adequado nos EUA (0,90 – 0,95) (Doty et al., 1984; Doty et al., 1985; Doty et al., 1995) e o teste foi minuciosamente validado nesse país (Doty et al., 1984). No entanto, vários odores empregados no UPSIT não são familiares a indivíduos de diferentes culturas e países como Escandinávia, Japão, Itália, Alemanha, China, Brasil entre outros (Doty et al., 1996; Kobal et al., 1996; Nordin et al., 1998; Parola & Liberini, 1999; Hashimoto et al., 2004; Lam et al., 2006). Dentre os odores universalmente não familiares a essas culturas encontram-se: queijo cheddar, picles doce, ponche de frutas, óleo de gualtéria, lima, alcaçuz, torta de abóbora, entre outros. Essa ocorrência reduz significativamente a eficiência e a validade do UPSIT nos citados países (Doty et al., 1996).

Uma versão simplificada do UPSIT contendo 12 odores familiares a várias culturas foi desenvolvida e denominada de “*12-Item Cross-Cultural Smell Identification Test (CC-SIT)*” (Doty et al., 1996). Infelizmente, a retirada de 28 odores do teste original, reduziu o nível de confiabilidade do CC-SIT para 0,70 e enfraqueceu o desempenho desse teste (Doty et al., 1995; Doty et al., 1996).

Opcionalmente, para a Europa Central, pesquisadores como Kobal et al., (1996), Hummel et al., (1997) e Kobal et al., (2000), desenvolveram o que eles denominaram “bastão de cheirar” (*sniffin’ sticks*). Trata-se de um bastão similar a uma caneta hidrocor que, ao invés de tinta, é quantitativamente preenchida com uma essência odorífera. Uma alternativa também interessante para a apresentação dos odores aos indivíduos, é a desenvolvida por Hashimoto et al., (2004) para ser utilizada em testes olfatórios de identificação no Japão, através da qual, as substâncias odoríferas são alocadas em batons, denominados “*Odor Sticks*”.

O teste de identificação de odores UPSIT é considerado muito eficiente para identificar deficiências olfatórias em indivíduos da terceira idade (Ship & Weiffenbach, 1993; Kareken et al., 2003; Wang et al., 2005) e portadores de epilepsia (Jones-Gotman & Zatorre, 1988; Jones-Gotman et al., 1997; Kohler et al., 2001). Da mesma forma, o teste Sniffin’ Sticks tem demonstrado eficiência para detectar perdas olfatórias em indivíduos da terceira idade (Landis et al., 2004).

No Brasil, uma ferramenta para avaliar a capacidade de identificação de odores e identificar perda olfatória dos indivíduos ainda não foi adequadamente desenvolvida, testada e validada. Por esse motivo, a presente pesquisa teve por objetivo desenvolver para o Brasil, um teste de identificação de odores de fácil aplicação, alta eficiência e validade.

2.2 MATERIAIS E MÉTODOS

O presente estudo foi desenvolvido nos laboratórios de análise sensorial da Faculdade de Engenharia de Alimentos (FEA) e nas dependências da área de neurologia do Hospital das Clínicas (HC), da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP).

Em atendimento à resolução nº 196/96 do Conselho Nacional de Saúde do Brasil, a pesquisa foi submetida ao Comitê de Ética da UNICAMP, tendo sido aprovada sob protocolo CAAE 0098.0.146.0000-06. Assim, todos os voluntários que participaram desta pesquisa foram devidamente informados quanto ao objetivo do estudo, tendo assinado um documento de consentimento esclarecido (Anexo A).

2.2.1 Voluntários

Participaram da presente pesquisa 3 grupos de indivíduos: grupo controle, grupo da terceira idade e grupo de indivíduos portadores de epilepsia do lobo temporal (ELT). O grupo controle consistiu-se de 302 indivíduos brasileiros, de idade entre 18 e 46 anos, recrutados entre funcionários, estudantes de graduação e pós-graduação da UNICAMP. Todos os voluntários responderam a um questionário sobre condições de saúde (Anexo B), tendo sido selecionados somente indivíduos com função olfatória normal, excluindo-se aqueles que apresentavam: rinite, adenóide, sinusite, asma; alergias associadas a substâncias odoríferas, gravidez, fase de amamentação, cirurgia no nariz, exposição diária a ambientes com odores; administração nasal de medicamentos; entre outras condições de impacto conhecido sobre o olfato humano.

O grupo da terceira idade foi recrutado entre estudantes da Universidade da Terceira Idade de São João da Boa Vista, SP, e consistiu-se de 50 indivíduos brasileiros, do sexo feminino e com mais de 60 anos de idade.

Finalmente, o grupo de portadores de epilepsia foi formado por 41 indivíduos brasileiros, com idade entre 15 e 51 anos, recrutados no Ambulatório de Epilepsia de Adultos do HC da UNICAMP, e diagnosticados por pesquisadores da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP. Os pacientes recrutados apresentavam histórico, características clínicas, eletroencefalograma (EEG) e imagem de ressonância magnética (MRI) evidenciando ELT.

No momento da aplicação do teste, os pacientes estavam sob tratamento de drogas anti-epilépticas, encontrando-se clinicamente estáveis. Todos os pacientes apresentavam inteligência normal, com QI superior a 78 na escala Wechsler (Wechsler, 1981).

Os testes sensoriais foram realizados em ambiente confortável, climatizado e apresentando adequada renovação de ar. Os testes foram aplicados através de entrevista individual, conduzida pela própria pesquisadora.

2.2.2 Desenvolvimento do teste de avaliação da capacidade de identificação de odores

O teste de avaliação da capacidade de identificação de odores foi desenvolvido e validado seguindo-se procedimentos descritos por Doty et al., (1984) na validação do UPSIT.

2.2.2.1 Escolha dos odores e veículo de apresentação dos mesmos

Tomando como base os “odor sticks” desenvolvidos por Hashimoto et al., (2004), utilizou-se como matriz de fixação das substâncias odoríferas, parafina comercial (plus pó com cera micro/estearina, Casa das Essências™). O material desenvolvido foi denominado “Pastilhas de Odor” (Figura 2.1), revelando-se uma alternativa de baixo custo e fácil manuseio para a apresentação dos odores.



Figura 2.1: (A) Pastilha de odor. (B) Embalagem de armazenamento individual da pastilha de odor. (C) Frasco utilizado para apresentação do odor ao indivíduo.

Para aromatizar as pastilhas, foram adquiridos odores familiares à cultura brasileira, pertencentes a diferentes categorias odoríferas: frutal, doce, tempero, etc. Na escolha dos aromas, deu-se preferência aos óleos essenciais, essências naturais (GRAS) e aromas idênticos ao natural, por serem estes mais similares aos que os brasileiros estão expostos em seu dia a dia. Os odores e correspondentes substâncias odoríferas selecionadas para o preparo das pastilhas desenvolvidas no presente estudo encontram-se na Tabela 2.1; suas respectivas categorias odoríferas foram definidas segundo classificação encontrada em Noble et al. (1987) e Saito et al. (1994).

Tabela 2.1: Substâncias odoríferas utilizadas no preparo das pastilhas de odor.

Categoria odorífera	Odores	Substância odorífera
Doce	Baunilha	Aroma idêntico ao natural ¹
	Chocolate	Alimento em pó comercial ⁷
	Mel	Aroma artificial ⁶
Frutal	Abacaxi	Aroma idêntico ao natural ¹
	Banana	Aroma idêntico ao natural ²
	Coco	Aroma idêntico ao natural ²
	Laranja	Óleo essencial ⁴
	Limão	Óleo essencial ³
	Maçã verde	Aroma artificial ²
	Mamão	Aroma idêntico ao natural ²
	Maracujá	Aroma idêntico ao natural ²
	Melão	Aroma artificial ⁶
	Pêssego	Aroma idêntico ao natural ²
Uva	Aroma idêntico ao natural ⁶	
Tempero	Alho	Aroma idêntico ao natural ¹
	Bacon	Condimento preparado ¹
	Canela	Aroma idêntico ao natural ²
	Cebola	Aroma idêntico ao natural ¹
	Cravo	Óleo essencial ³
	Erva-doce	Óleo essencial ³
	Gengibre	Alimento in natura
	Mostarda	Condimento comercial ⁸
	Noz moscada	Produto comercial ⁹
	Orégano	Produto comercial ⁹
Vinagre	Produto comercial ¹⁰	
Verde	Eucalipto	Óleo essencial ³
	Menta	Óleo essencial ³
Substância química	Acetona	Produto comercial ¹¹
	Água sanitária	Produto comercial ¹²

Tabela 2.1: Continuação. Substâncias odoríferas utilizadas no preparo das pastilhas de odor.

Categoria odorífera	Odores	Substância odorífera
Outros	Gasolina	Produto comercial ¹³
	Amendoim	Aroma idêntico ao natural ²
	Manteiga	Aroma idêntico ao natural ⁵
	Pinga	Produto comercial ¹⁴
	Queijo	Produto comercial ¹⁵
	Tabaco	Produto comercial ¹⁶
	Café	Aroma idêntico ao natural ²

1 Citromax® (Guarulhos – SP, CEP: 07232-152), 2 IFF® (Barueri – SP, CEP: 06454-020), 3 Bioessência® (São Paulo – SP, CEP: 04705-070), 4 Flavor Tec® (Pindorama – SP, CEP: 15830-000), 5 Givaudan® (São Paulo – SP, CEP: 05321-010), 6 Duas Rodas® (Jaraguá do Sul – SC, CEP: 89251-901), 7 Chocolate em pó solúvel 50% de cacau Nestlé®, 8 Molho de mostarda Hellmann's®, 9 Ervas e especiarias Kitano®, 10 Vinagre de vinho branco Castelo®, 11 Solução a base de acetona Farmax®, 12 Água Sanitária Qboa®, 13 Gasolina original Ipiranga, 14 Cachaça Pirassununga 51®, 15 Queijo parmesão ralado Vigor®, 16 Tabaco em pó.

2.2.2.2 Desenvolvimento das pastilhas de odor

Para a produção das pastilhas, em uma capela, derreteu-se a parafina em pó utilizando um recipiente de alumínio sobre a chama do bico de Bunsen, e controlando-se a temperatura para que esta se mantivesse entre 75-80°C. Com o auxílio de uma pipeta automática, as substâncias odoríferas descritas na Tabela 2.1 foram dosadas em recipientes apropriados. Devido a possíveis interesses futuros em comercializar o teste olfatório desenvolvido, as proporções de cada substância odorífera utilizada serão mantidas confidenciais. Um corante azul inodoro (Arcolor®) diluído em óleo mineral (MultLab®), foi também adicionado aos aromatizantes para mascarar e padronizar a cor final das pastilhas. Em seguida, adicionou-se 40 mL da parafina derretida sobre a substância odorífera, e os materiais foram misturados. Essa mistura foi transferida para formas plásticas, para a obtenção de pastilhas de odor similares à apresentada na Figura 2.1A.

Esperou-se até que a parafina esfriasse e endurecesse e então, as pastilhas apresentando dimensões de 3 cm de comprimento, 2 cm de largura e 1,3 cm de altura, foram retiradas do molde e acondicionadas em uma embalagem flexível laminada de polietileno e poliéster (PET/ Alumínio/ Polietileno), de espessura 120µm e gramatura 130g/m². A embalagem utilizada era de alta barreira, ou seja, baixa permeabilidade, apresentando taxa de permeabilidade ao vapor de água (TPVA) entre 0,01 a 0,03

$\text{gH}_2\text{O}/\text{m}^2\cdot\text{dia}$ e taxa de permeabilidade ao oxigênio (TPO_2) menor que $1\text{ mL O}_2/\text{m}^2\cdot\text{dia}$. Com a seladora a vácuo Tec Mac® calibrada para solda a aproximadamente 80°C , as embalagens foram seladas sem aplicação de vácuo (Figura 2.1B). Assim foram produzidas as 36 diferentes pastilhas odoríferas que compuseram a bateria de testes intitulada de “Pastilhas de Odor”.

2.2.2.3 Apresentação dos odores

Para a aplicação dos 36 odores listados na Tabela 2.1 aos indivíduos, cada uma das pastilhas de odor foi retirada da embalagem e colocada em um frasco de vidro de 100 mL, de cor âmbar, com tampa plástica de rosca e com diâmetro de abertura próximo a 2,5 cm. Cada frasco foi codificado com um número de três dígitos (Figura 2.1C). A apresentação das pastilhas em frascos permitiu o adequado controle da concentração dos voláteis que eram oferecidos aos indivíduos, reduzindo o erro experimental da pesquisa.

2.2.2.4 Caracterização dos odores

Seguindo os procedimentos descritos por Doty et al. (1984), Nordin et al. (1998) e Saito et al. (2006), o objetivo desta etapa do estudo foi caracterizar os odores quanto à intensidade, aceitabilidade, pungência, refrescância e familiaridade aos indivíduos.

Participaram desta etapa da pesquisa, 52 indivíduos (26 homens e 26 mulheres) do grupo controle, com idade média de $23,42 \pm 4,00$ anos, sendo a média de idade das mulheres igual a $23,73 \pm 4,53$ anos e a dos homens $23,12 \pm 3,45$ anos.

Cada uma das 36 pastilhas desenvolvidas com os odores listados na Tabela 2.1 foi avaliada pelos 52 voluntários quanto a: i) intensidade do odor, ii) grau de aceitação, de irritabilidade (pungência) e de refrescância e, iii) familiaridade. Para tanto foram utilizadas escalas híbridas de 9 cm, ancoradas respectivamente com os seguintes termos: 0=muito

fraco, 4,5=moderado, 9=muito forte (intensidade); 0=desgostei muito, 4,5=nem gostei/nem desgostei, 9=gostei muito (aceitação); 0=não pungente, 4,5=moderado, 9=muito pungente (irritabilidade); 0=não refrescante, 4,5=moderado, 9=muito refrescante (refrescância); 0=não familiar, 4,5=moderado, 9=muito familiar (familiaridade). Para a avaliação, a ordem de apresentação das pastilhas foi aleatorizada entre os indivíduos. Após avaliarem cada pastilha utilizando as escalas descritas acima, os indivíduos foram solicitados a identificarem, através do odor, o nome da substância avaliada: cravo, canela, laranja, etc.

Na avaliação das pastilhas, os indivíduos tiveram 30 segundos de intervalo entre uma amostra e outra durante a avaliação das primeiras 18 amostras, de um total de 36 amostras. Após a avaliação da 18ª pastilha, os indivíduos tiveram 10 minutos de intervalo, e então recomeçaram as avaliações das 18 amostras restantes. Os frascos eram abertos pelos próprios indivíduos, e mantidos próximos ao nariz (Figura 2.2) para a avaliação sensorial, sendo posteriormente tampados para que um novo equilíbrio do aroma no *headspace* do recipiente fosse alcançado.



Figura 2.2: Indivíduo realizando o teste “Pastilhas de Odor”.

Após a coleta de todos os dados, para cada pastilha, computou-se 1,0 ponto quando o indivíduo deu resposta correta ou resposta associativa bastante próxima da

substância odorífera presente na pastilha de odor (ex: indivíduo respondeu “cravo” ou “eugenol” para a amostra contendo óleo essencial de cravo). A pastilha recebeu 0,5 ponto quando a resposta do indivíduo apresentou associação menos específica com o aroma da amostra (ex: o indivíduo respondeu solvente para a amostra contendo gasolina). Foi dado 0 (zero) às respostas pouco associativas ou incorretas. Na seqüência, computou-se o total de pontos obtidos por cada pastilha junto aos 52 voluntários, e um gráfico de barras contendo o total de pontos obtido por cada pastilha foi elaborado. Esse gráfico teve por objetivo, identificar as amostras que eram mais familiares aos indivíduos e comparar os resultados obtidos por cada pastilha de odor com os odores em comum aqueles reportados por Doty et al. (1984) no teste de validação do UPSIT.

Gráficos de barra foram também elaborados para a avaliação dos parâmetros de intensidade, aceitação, irritabilidade, refrescância e familiaridade de cada amostra e, comparação com valores reportados por Doty et al. (1984) no teste de validação do UPSIT. Adicionalmente, análises estatísticas como ANOVA (Fontes de variação: amostra, provador e sexo) e teste de médias Tukey ($p=5\%$) foram realizadas para se avaliar diferenças entre os odores com relação aos atributos de intensidade de aroma, de irritabilidade (pungência), de refrescância, de aceitação e de familiaridade.

2.2.3 Desempenho e validação do teste “Pastilhas de Odor”

Para avaliar o desempenho e construir validação ao teste “Pastilhas de Odor”, o mesmo foi aplicado em outros indivíduos apresentando função olfatória normal (grupo controle) e em dois grupos com função olfatória reduzida (grupo da terceira idade e grupo dos portadores de epilepsia), avaliando-se a capacidade do teste tanto em segmentar os diferentes grupos, como produzir resultados comparáveis aos gerados por outros testes olfatórios de identificação de odores, como o UPSIT de Doty et al. (1984), o “Sniffin’ Stick”

de Kobal et al. (1996), o SOIT de Nordin et al. (1997) e o “Odor Stick” de Hashimoto et al. (2004).

2.2.3.1 Efeito do sexo e da idade na função olfatório de indivíduos

2.2.3.1.1 Voluntários

Dois grupos de indivíduos participaram desta etapa do estudo. O grupo I consistiu-se de 150 voluntários do grupo controle (75 homens e 75 mulheres) com idade média de $22,94 \pm 4,66$ anos, sendo a média de idade das mulheres de $23,60 \pm 5,06$ anos e a dos homens de $22,28 \pm 4,14$ anos. O grupo II foi formado pelos 50 indivíduos do grupo da terceira idade, apresentando idade média igual a $69,56 \pm 5,22$ anos.

2.2.3.1.2 Teste olfatório

A bateria do teste intitulada “Pastilhas de Odor” foi composta pelos 36 odores (Tabela 2.1) definidos anteriormente.

Similarmente ao UPSIT, cada uma das 36 pastilhas era apresentada aos indivíduos associada a um teste de múltipla escolha, contendo quatro termos descritores de odor; um deles descrevia corretamente o odor da amostra, e os demais representavam alternativas incorretas (Figura 2.3). Os 36 testes foram distribuídos em 4 livretos, 3 deles contendo 10 testes/livreto, e 1 contendo 6 testes; cada teste referia-se a uma das 36 pastilhas.

A ordem de apresentação das pastilhas foi aleatorizada entre as páginas dos livretos, porém pastilhas de odores semelhantes, tais como cebola e alho, não foram testadas em sequência. A ordem de apresentação das pastilhas também foi aleatorizada entre os indivíduos que realizaram o teste; assim, cada livreto apresentava uma ordem diferente das pastilhas aos indivíduos.

Escolha entre as quatro alternativas, aquela que melhor descreve a qualidade do odor percebido.

Amostra: 489

- a) Banana
- b) Água Sanitária
- c) Mostarda
- d) Cravo

Figura 2.3: Teste de identificação de odores, conforme apresentado no livreto de “Pastilhas de Odor”.

Para a escolha dos termos descritores contidos em cada folha do livreto, seguiu-se a metodologia empregada por Doty et al. (1984). Assim, inicialmente imprimiu-se o nome de cada um dos 36 odores a serem testados. Na sequência, eles foram espalhados em uma mesa, de modo que a distância entre os cartões fosse proporcional à similaridade dos odores. Por exemplo, alho e cebola foram colocados próximos um ao outro, enquanto chocolate e gasolina foram dispostos longe um do outro. Finalmente, em cada página dos livretos, para compor as alternativas incorretas, foram tomados os nomes dos odores distantes à amostra testada. Adicionalmente, ao longo das 36 páginas que compuseram os 4 livretos, procurou-se utilizar o nome de cada odor um mesmo número de vezes. Da mesma forma, o posicionamento de cada resposta correta foi balanceado entre as alternativas “a”, “b”, “c” e “d” das páginas dos livretos.

Para a realização do teste sensorial, cada livreto foi entregue aos indivíduos que, após cheirarem de forma birrinal cada pastilha, eram solicitados a escolher o nome que melhor descrevia o odor apresentado. Se o indivíduo não conseguisse identificar o odor na primeira vez que avaliasse a amostra, era permitido que uma nova tentativa fosse realizada. Uma resposta foi sempre solicitada, mesmo que o odor não fosse percebido pelo indivíduo. O indivíduo teve 30 segundos para completar a avaliação de cada amostra, sendo dado um intervalo de 30 segundos entre as apresentações de dois odores consecutivos e de 2

minutos entre cada livreto. O desempenho de cada indivíduo no teste foi expresso como a porcentagem de respostas corretas. O desempenho de cada amostra foi avaliado através da porcentagem de acertos obtida pela amostra junto à população testada: controle e terceira idade.

Adicionalmente, após testar-se a normalidade dos dados através do teste de Kolmogorov-Smirnov, os efeitos “sexo” e “idade” (grupo controle vs. grupo da terceira idade) foram avaliados através de teste não-paramétrico de Wilcoxon-Mann-Whitney e os resultados comparados àqueles reportados por Doty et al. (1984).

2.2.3.2 Efeito da epilepsia do lobo temporal (ELT) na função olfatória dos indivíduos

2.2.3.2.1 Voluntários

No grupo controle, participaram desta etapa da pesquisa, 50 voluntários (25 homens e 25 mulheres) com idade média de $25,42 \pm 4,22$ anos. O grupo dos portadores de epilepsia era composto por 41 indivíduos, dos quais 23 haviam sido operados para tratamento de ELT (grupo III) e 18 apresentavam diagnóstico positivo de ELT, não tendo sofrido cirurgia (grupo IV).

Conforme anteriormente mencionado, os portadores de epilepsia foram inicialmente submetidos a teste neuropsicológico para avaliação de suas funções cognitivas relacionadas ao poder intelectual (teste de quociente de Inteligência-QI). Isto garantiu a exclusão desse efeito do desempenho dos indivíduos nos testes de identificação de odores.

Para garantir que o sistema olfatório dos indivíduos encontrava-se íntegro, os portadores de epilepsia também realizaram um teste de acuidade olfatória, em que se avaliou o limiar de detecção dos mesmos ao álcool fenil etílico, obtido de forma independente em

cada narina. 50 indivíduos do grupo controle (25 homens e 25 mulheres) com idade média igual a $25,08 \pm 4,52$ anos, também realizaram o teste de acuidade olfatória, com o objetivo de se comparar seus desempenhos com o desempenho dos portadores de epilepsia.

A acuidade olfatória dos indivíduos foi avaliada através do limiar de detecção (threshold) para álcool fenil etílico (PEA) de forma mono-rinal, utilizando-se o procedimento “*single staircase*” descrito por Doty et al. (1995). Assim, álcool fenil etílico P.A. foi diluído em propilenoglicol, a concentrações variando em escala logarítmica entre 10^{-7} a 10^{-1} (v/v). Uma série de sete soluções foi preparada contendo as seguintes concentrações de PEA: 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} , 10^{-2} e 10^{-1} (v/v). As soluções foram colocadas em frascos de vidro transparentes de 100 mL com tampa plástica de diâmetro de abertura próximo a 2,5 cm. Todas as amostras foram codificadas com número de três dígitos.

O teste iniciou-se com a apresentação de dois frascos ao indivíduo: um contendo PEA na menor concentração, e outro contendo propilenoglicol puro. O indivíduo era informado que um dos frascos continha uma substância odorífera e o outro não, sendo instruído a cheirar os dois frascos de forma mono-rinal e identificar qual continha a substância odorífera. Para cada nível de concentração, o indivíduo realizava cinco repetições desse procedimento. Se uma ou mais respostas incorretas eram dadas pelo indivíduo nas cinco repetições, a concentração imediatamente superior na série “*staircase*” era similarmente testada. A concentração da substância odorífera era aumentada em escala logarítmica até ocorrer a detecção correta nas cinco repetições consecutivas da concentração apresentada.

Quando o indivíduo fornecia respostas corretas nas cinco repetições de um dado nível de concentração, a “*staircase*” era invertida; movendo-se para cima e para baixo em acréscimos ou decréscimos logarítmicos de 1,0, dependendo do desempenho do indivíduo

nos dois testes de concentrações subjacentes. A média geométrica dos primeiros quatro pontos da “*staircase*” onde a inversão iniciou-se, foi utilizada como a medida referente ao limiar de detecção do indivíduo. A ordem de apresentação das amostras com e sem estímulo foi balanceada em cada “degrau” da “*staircase*”.

As diferenças de acuidade olfatória entre os grupos - controle e portadores de epilepsia - e entre as narinas, foram avaliadas através do teste não-paramétrico de Wilcoxon-Mann-Whitney.

2.2.3.2.2 Teste olfatório

Nesta etapa do estudo, o teste “Pastilha de Odor” foi aplicado de forma mono-rinal, ou seja, as pastilhas foram avaliadas pelas narinas esquerda e direita separadamente. Assim, uma narina foi tampada com fita Microfoam 3M e o indivíduo inalava o odor com a narina livre.

Para a realização do teste, metade dos estímulos (18) foi apresentada à narina direita, mantendo-se a esquerda bloqueada e, a outra metade (18) à narina esquerda, mantendo-se a narina direita bloqueada. A ordem de apresentação dos odores foi aleatorizada entre os indivíduos e as narinas eram trocadas a cada 5 amostras apresentadas (Jones-Gotman et al., 1997). Após 10 odores avaliados, 5 para cada narina, era dado um intervalo de 2 minutos. No último livreto, composto por 6 odores, 3 odores foram avaliados por narina. Ao final da aplicação dos 36 testes, foi computada a % de identificação correta alcançada por cada indivíduo em cada narina.

As diferenças de capacidade de identificação de odores entre os grupos -controle e portadores de epilepsia- e entre as narinas, foram avaliadas através do teste não-paramétrico de Wilcoxon-Mann-Whitney.

2.2.4 Coeficiente de confiabilidade do teste “Pastilhas de Odor”

Para a avaliação do nível de confiabilidade do teste “Pastilhas de Odor”, 38 voluntários, sendo 28 do grupo I (controle) e 10 do grupo II (terceira idade), realizaram o teste em duas diferentes ocasiões, com intervalo de duas semanas entre cada aplicação do mesmo. O coeficiente de correlação de Pearson (r) entre os resultados da primeira e segunda repetição, e seu respectivo nível de significância (p), foram computados e utilizados como um parâmetro de avaliação do nível de confiabilidade do teste “Pastilhas de odor”, conforme sugerido por Doty et al. (1995).

2.2.5 Estabilidade das pastilhas de odor

Para verificação da estabilidade das pastilhas de odor ao armazenamento em temperatura ambiente, o teste foi aplicado por três meses consecutivos aos 150 indivíduos do grupo I, computando-se a porcentagem de acertos dos voluntários. Os dados foram estatisticamente analisados utilizando-se o teste estatístico t .

2.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.3.1 Caracterização de “Pastilhas de Odor”

Trinta e seis pastilhas compõem a bateria do teste olfatório desenvolvido nesta pesquisa e intitulado “Pastilhas de Odor”. A Figura 2.4 apresenta as médias de intensidade de aroma, de pungência, de refrescância, de aceitação e de familiaridade para cada uma das 36 pastilhas. Por sua vez, a Figura 2.5 apresenta os mesmos dados obtidos por Doty et al. (1984), em teste de validação do UPSIT. Conforme pode ser observado, os resultados obtidos pela aplicação de “Pastilhas de Odor”, são bastante comparáveis àqueles gerados pelo UPSIT de Doty et al. (1984).

Dezesseis dos 36 aromas que compõem o teste “Pastilhas de Odor” são comuns ao UPSIT, quais sejam: banana, chocolate, canela, cravo, coco, gasolina, limão, uva, menta, cebola, laranja, pêssago, amendoim, abacaxi, tabaco e gengibre. As pastilhas formuladas com odores de acetona, água sanitária, alho, bacon, baunilha, café, anis, eucalipto, maçã-verde, mamão, manteiga, maracujá, mel, melão, mostarda, noz moscada, orégano, pinga, queijo e vinagre estão presentes somente na bateria de testes “Pastilhas de Odor” e não no UPSIT, sendo que os odores do UPSIT que não estão presentes em “Pastilhas de Odor” são: goma de mascar, cedro, queijo cheddar, cereja, pickles doce, ponche de frutas, grama, couro, alcaçuz, violeta, lima, hortelã, óleo de motor, gás natural, solvente de tinta, pinho, pizza, root beer, rosa, morango, aguarrás, melancia e óleo de gualtéria. Eles não foram incluídos em “Pastilhas de Odor” por serem, via de regra, pouco familiares à cultura brasileira.

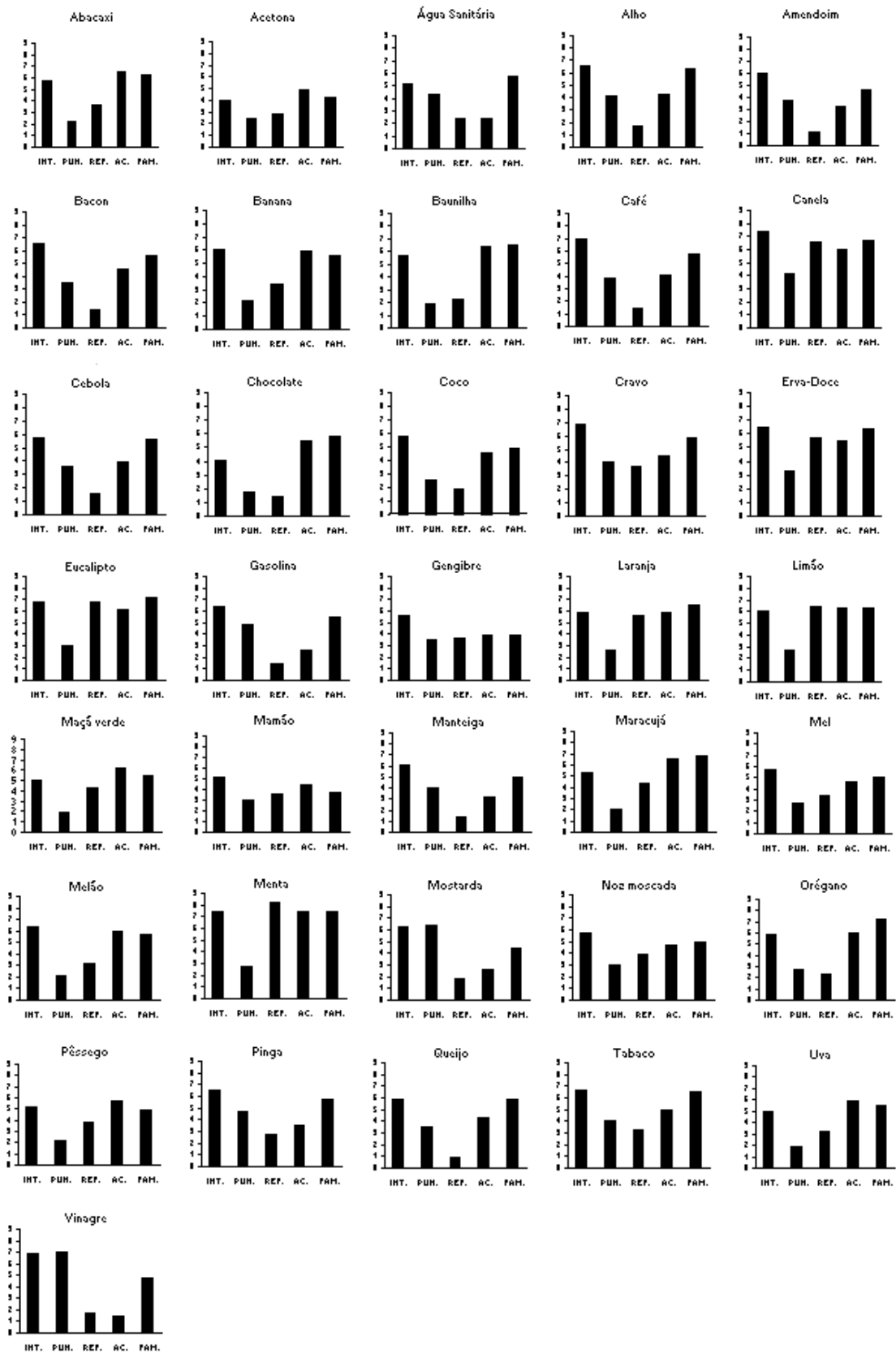


Figura 2.4: Valores médios de intensidade de aroma (INT.), de pungência (PUN.), de refrescância (REF.), de aceitação (AC.) e de familiaridade (FAM.) dos 36 odores do teste “Pastilhas de Odor”.

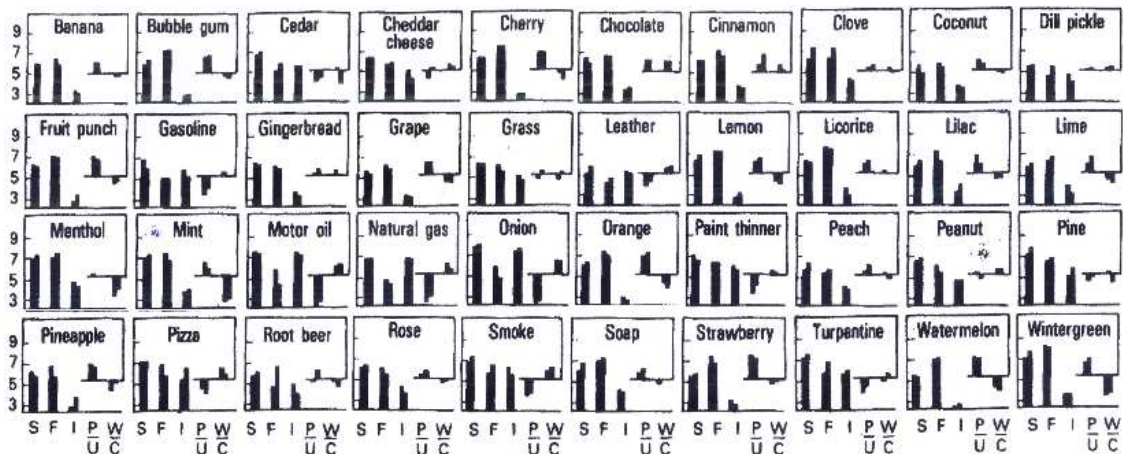


Figura 2.5: Valores médios de intensidade de aroma (S=Strength), de familiaridade (F=Familiarity), pungência (I=Irritation), aceitação (P/U=Pleasantness/Unpleasantness) e “Warm/Cool” (W/C) dos 40 odores do teste UPSIT desenvolvido por Doty et al. (1984).

“Pastilhas de Odor” apresenta 30,5% das amostras formuladas com aromas de frutas, valor proporcional ao encontrado no UPSIT (27,5%). Por outro lado, 30,5% das amostras de “Pastilhas de Odor” são compostas por aromas de tempero, enquanto que somente 10% dos aromas do UPSIT pertencem à essa categoria odorífera. Essa diferença relaciona-se a diferenças entre os hábitos alimentares e culturais de brasileiros e americanos. Quanto aos demais aromas, ambos os testes apresentam categorias odoríferas equivalentes, com exceção da categoria floral, que não foi incluída em “Pastilhas de Odor” em função da dificuldade em se achar óleos essenciais de flores com boa qualidade sensorial.

A Tabela 2.2 apresenta a média global das 36 amostras que compõem o teste “Pastilhas de Odor” (n= 52 indivíduos) com relação à intensidade de seus odores, pungência, refrescância, aceitação e familiaridade, comparativamente aos mesmos resultados reportados por Doty et al. (1984) em estudos preliminares de desenvolvimento do UPSIT (n₁=50 amostras e n₂=52 julgadores)

Nota-se que enquanto os valores médios associados ao teste “Pastilhas de Odor” encontram-se muito próximos àqueles reportados por Doty et al. (1984) para o UPSIT, os desvios-padrão das médias de “Pastilhas de Odor” apresentaram-se menores do que aqueles reportados para o UPSIT (Tabela 2.2). Isso sugere que houve um maior consenso entre os voluntários que realizaram o teste “Pastilhas de Odor” na avaliação dos atributos de aroma das amostras, comparativamente aos indivíduos que realizaram o UPSIT nos trabalhos de Doty et al. (1984).

Tabela 2.2: Valores médios de cada atributo de odor e respectivos desvios-padrão obtidos nos estudos preliminares de desenvolvimento do UPSIT e no desenvolvimento do teste “Pastilhas de Odor”.

Teste	Intensidade ¹	Pungência ²	Refrescância ³	Aceitação ⁴	Familiaridade ⁵
UPSIT*	6,22 ± 1,90	4,48 ± 2,44	5,01 ± 2,44	4,96 ± 2,34	6,08 ± 2,30
Pastilhas de Odor**	5,97 ± 0,79	3,30 ± 1,22	3,26 ± 1,82	4,86 ± 1,39	5,68 ± 0,93

¹ escala: 0= fraco, 9= forte; ² 0= nenhuma, 9= forte; ³ 0= não refrescante, 9= muito refrescante; ⁴ 0= desgostei muito, 9= gostei muito; ⁵ 0= não familiar, 9= muito familiar.

* n = 50 amostras (Doty et al., (1984))/ **n = 36 amostras

Um aspecto importante em um teste olfatório refere-se à intensidade dos aromas que compõem a bateria de testes. Essa intensidade não pode ser muito baixa, de forma a dificultar a percepção dos indivíduos, e nem muito alta, de forma a distorcer a qualidade do aroma e/ou promover excessiva pungência. Esse quesito é claramente atendido por Doty et al., (1984) no UPSIT, onde a intensidade de odor da grande maioria das amostras situa-se próxima a 6 (intensidade moderada) em uma escala de 9 pontos (Figura 2.5, Tabela 2.2). Da mesma forma, a grande maioria das pastilhas do teste “Pastilhas de Odor” apresentou intensidade média muito próxima a 6 (Figura 2.4, Tabela 2.2), encontrando-se portanto dentro da faixa de intensidade ideal. Em outros testes de identificação de odores, como o “SOIT” (Nordin et al.,1998) e o “Odor stick” (Saito et al., 2006), a média global dos odores foi de 3,3 (n= 16 odores) e 3,5 (n= 13 odores) respectivamente, indicando que eles também

apresentam seus odores em uma intensidade moderada, dado que nos dois estudos os autores utilizaram uma escala de 5 pontos para avaliar a intensidade dos odores.

Outro aspecto importante em um teste olfatório é a pungência e/ou refrescância dos odores que compõem a bateria de amostras a serem avaliadas. Sabe-se que compostos voláteis podem estimular tanto o sistema olfatório, através da interação com receptores situados no nervo olfatório (nervo craniano I), como o sistema trigeminal, pela estimulação do nervo trigeminal (nervo craniano V) (Doty et al., 1978; Doty & Deems, 2001). Odores pungentes e/ou refrescantes estimulam preferencialmente o sistema trigeminal e, segundo Doty et al. (1984), eles são incluídos em testes de identificação de odores para facilitar a detecção de possíveis fraudes, como a obtenção de respostas não verdadeiras dos indivíduos avaliados. Assim, 20% dos odores da bateria de testes que compõem o UPSIT desenvolvido por Doty et al. (1984) estimulam preferencialmente o nervo trigeminal em um grau moderado ou maior; sendo eles: hortelã, menta, canela, cravo, gasolina, óleo de motor, cebola e tabaco. No teste “Pastilhas de Odor”, 25% das amostras estimulam o nervo trigeminal em grau moderado ou maior, sendo elas: menta, eucalipto, canela, limão, anis, vinagre, mostarda, pinga e gasolina.

Em um teste olfatório, é desejável que a maioria dos odores seja agradável aos indivíduos, pois a presença de muitos odores desagradáveis pode contribuir para a indisposição do indivíduo em concluir o teste (Nordin et al., 1998). Em “Pastilhas de Odor”, a maioria das amostras apresentou-se agradável, sendo que 32 dos 36 odores (89%) obtiveram médias de aceitação superiores ou próximas a 4,5 (categoria associado ao termo “nem gostei/nem desgostei” da escala), indicando que em geral, a maioria dos indivíduos gostou desses odores; foram eles: menta, maracujá, abacaxi, baunilha, limão, maçã verde, eucalipto, orégano, canela, melão, uva, banana, laranja, pêssego, chocolate, anis, acetona, tabaco, noz moscada, mel, bacon, coco, cravo, mamão, queijo, alho, café, cebola, gengibre,

pinga, amendoim e manteiga. Apenas 4 pastilhas (11%) apresentaram baixa aceitação média (igual ou inferior a 3), indicando que em geral, a maioria dos indivíduos não gostou desses odores, foram eles: mostarda, gasolina, água sanitária e vinagre.

Doty et al. (1984) reportaram a existência de 7 amostras (17,5%) no UPSIT que apresentaram baixa aceitação, foram elas: óleo de motor, gasolina, gás natural, cebola, solvente de tinta e aguarrás, sendo que as demais se apresentaram agradáveis em diferentes graus. Assim, a aceitação das amostras que compõem o teste “Pastilhas de Odor” é comparável às utilizadas no UPSIT.

Um dos mais importantes requisitos para as amostras que compõem um teste olfatório de identificação, é que seus aromas sejam familiares aos indivíduos que irão realizar o teste. Nos estudos conduzidos por Doty et al. (1984), a grande maioria das amostras apresentou-se familiar aos indivíduos; o mesmo ocorrendo em “Pastilhas de Odor”, onde 32 das 36 amostras testadas, ou seja, 89%, apresentaram valores médios de familiaridade junto aos indivíduos, iguais ou superiores a 4,5, categoria da escala correspondente à opção “moderadamente familiar”, foram elas: menta, orégano, eucalipto, maracujá, canela, laranja, baunilha, tabaco, erva-doce, alho, limão, abacaxi, queijo, cravo, água sanitária, chocolate, pinga, melão, café, cebola, banana, bacon, uva, gasolina, maçã verde, mel, manteiga, pêssigo, noz moscada, coco, vinagre e amendoim.

Quando os indivíduos (n=52) foram solicitados a, sem nenhuma sugestão, identificar através do aroma, a substância a ele associada (café, orégano, etc.), verificou-se, conforme mostrado na Figura 2.6A, que alguns odores da bateria de teste “Pastilhas de Odor” foram mais facilmente identificáveis do que outros. Para a pastilha com aroma de menta, por exemplo, 43 indivíduos (83%) deram respostas corretas ou altamente associativas (1,0 ponto), enquanto outros 7 indivíduos (14%) deram respostas associativas

menos específicas, porém válidas (0,5 ponto). Assim, entre 70 e 100% dos indivíduos, sem qualquer tipo de ajuda, identificaram corretamente ou associativamente as seguintes amostras do teste “Pastilhas de Odor”: menta, café, eucalipto, orégano, alho, água sanitária e queijo; e mais de 50% dos indivíduos identificaram corretamente ou associativamente as amostras: laranja, pinga, chocolate, erva-doce, bacon, amendoim, cebola, abacaxi, limão, canela e maracujá.

Esses resultados são muito similares àqueles reportados por Doty et al. (1984) para o UPSIT (Figuras 2.6B), onde as seguintes amostras obtiveram níveis de familiaridade comparáveis aos encontrados em “Pastilhas de Odor”: menta, limão, canela, laranja, chocolate, banana, cravo, gasolina, uva, cebola, e gengibre. Os odores de amendoim, pêsego e abacaxi, foram melhor identificados em “Pastilhas de Odor” do que no UPSIT (Doty et al. 1984). Já o odor de tabaco foi melhor identificado no UPSIT do que em “Pastilhas de Odor”.

Os resultados da ANOVA (Fontes de variação: amostra, provador e sexo) mostraram que em “Pastilhas de Odor”, sexo foi um efeito significativo ($p \leq 0,05$) para os atributos intensidade ($F_{intensidade}=73,75$; $p_{F_{intensidade}} < 0,0001$), refrescância ($F_{refrescância}=36,00$; $p_{F_{refrescância}} < 0,0001$), e capacidade de identificação ($F_{pontos}=9,15$; $p_{F_{pontos}} < 0,0025$), sendo que as mulheres, em média, perceberam os odores mais intensos e menos refrescantes que os homens ($p \leq 0,05$) (Tabelas 2.3 e 2.4). Resultados similares foram reportados por Doty et al. (1984) em testes de validação do UPSIT. No entanto, não houve diferença significativa ($p \geq 0,05$) entre homens e mulheres com relação à aceitação dos odores, nem em “Pastilhas de Odor”, nem no UPSIT.

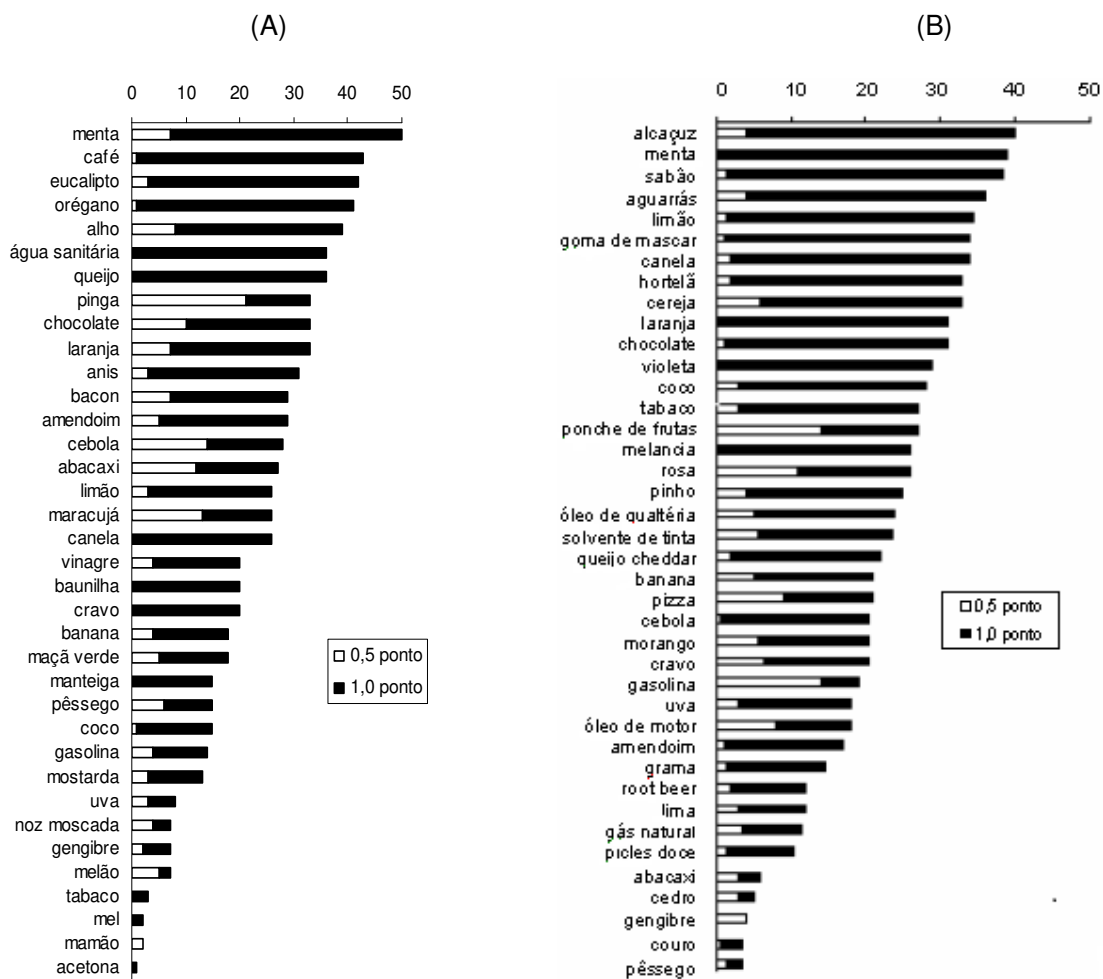


Figura 2.6: Histogramas de freqüência mostrando o total de pontos de identificação obtidos por cada amostra de “Pastilhas de Odor” ($n_1= 36$ amostras, $n_2= 52$ indivíduos) **(A)** e do UPSIT ($n_1= 40$ amostras, $n_2= 52$ indivíduos) **(B)**

Quanto aos atributos de pungência e familiaridade, em nossos resultados, sexo não foi um efeito significativo ($p \geq 0,05$), ao contrário do observado por Doty et al. (1984), onde se verificou que as mulheres classificaram as amostras como menos pungentes e mais familiares comparativamente aos homens a ($p \leq 0,001$). Quando os valores médios da capacidade de identificação de odores foram comparados entre homens e mulheres, observou-se que as mulheres apresentaram maior capacidade de identificação de odores do que os homens ($p=0,0025$).

Tabela 2.3: Valores médios de cada atributo de odor das pastilhas de “Pastilhas de Odor” segmentados entre os sexos masculino e feminino (n= 52 indivíduos).

	Intensidade	Pungência	Refrescância	Aceitação	Familiaridade	Capacidade de Identificação ¹
Homens	5,68±1,95	3,24±2,62	3,46±2,73	4,91±2,43	5,58±2,66	0,36±0,45
Mulheres	6,26±1,93	3,32±2,85	3,05±2,86	4,79±2,58	5,76±2,42	0,42±0,49
P	0,0001	Ns	0,0001	Ns	Ns	0,0025

p= nível de significância do teste F de diferença entre homens e mulheres. Não há diferença significativa (Ns) entre homens e mulheres a $p \leq 0,05$. ¹ Média de pontos obtidos no teste de identificação (valor máximo/indivíduo = 1 ponto).

Tabela 2.4: Valores médios de cada atributo de odor do teste UPSIT segmentados entre os sexos masculino e feminino (n= 52 indivíduos) (Doty et al., 1984).

	Intensidade	Pungência	Aceitação	Familiaridade
Homens	6,18 ± 1,75	4,54 ± 2,23	4,82 ± 2,18	5,84 ± 2,30
Mulheres	6,38 ± 2,04	4,29 ± 2,61	4,93 ± 2,41	6,12 ± 2,51
P	0,005	0,001	Ns	0,001

p= nível de significância do teste F de diferença entre homens e mulheres. Não há diferença significativa (Ns) entre homens e mulheres a $p \leq 0,05$

Em “Pastilhas de Odor”, as interações amostra*sexo na ANOVA não foram significativas a $p \leq 0,05$. Isso indica que as diferenças entre os sexos apresentadas na Tabela 2.3 ocorreram de forma homogênea entre os indivíduos, independente dos odores avaliados.

2.3.2 Desempenho e validação do teste “Pastilhas de Odor”

2.3.2.1 População controle vs. Terceira idade

Quando “Pastilhas de Odor” foi aplicado nos 150 indivíduos do grupo controle (Grupo I) e nos 50 indivíduos do grupo da terceira idade (Grupo II), verificou-se que a % de identificações corretas no grupo da terceira idade (Grupo II) apresentou-se como uma distribuição não normal, com média e mediana próximas a 85% de identificações corretas. O grupo controle também apresentou uma distribuição com razoável desvio da normalidade, com médias e medianas

próximas a 97% de identificações corretas (Figura 2.7). Uma grande diferença entre os dois grupos, controle e terceira idade, com relação à capacidade em identificar odores pode ser visualizada na Figura 2.7: enquanto aproximadamente 90% dos indivíduos do grupo controle mostraram capacidade em identificar corretamente entre 90 e 100% dos 36 odores que compõe o teste “Pastilhas de Odor”, no grupo da terceira idade, aproximadamente 30% dos indivíduos apresentaram desempenho similar. De fato, neste último grupo, 70% dos voluntários apresentaram capacidade de identificação de odores inferior a 86%, chegando a valores tão baixos quanto 60% de acerto. No grupo controle apenas 9% dos indivíduos apresentaram capacidade de identificação inferior a 86%.

Um teste Kolmogorov-Smirnov, aplicado aos dados de identificações corretas de cada uma das populações, rejeitou a hipótese nula de normalidade para o grupo controle ($p < 0,01$), e para o grupo da terceira idade ($p < 0,02$). Por esse motivo, os resultados de cada um dos grupos -controle e terceira idade- foram estatisticamente comparados através de testes não-paramétricos.

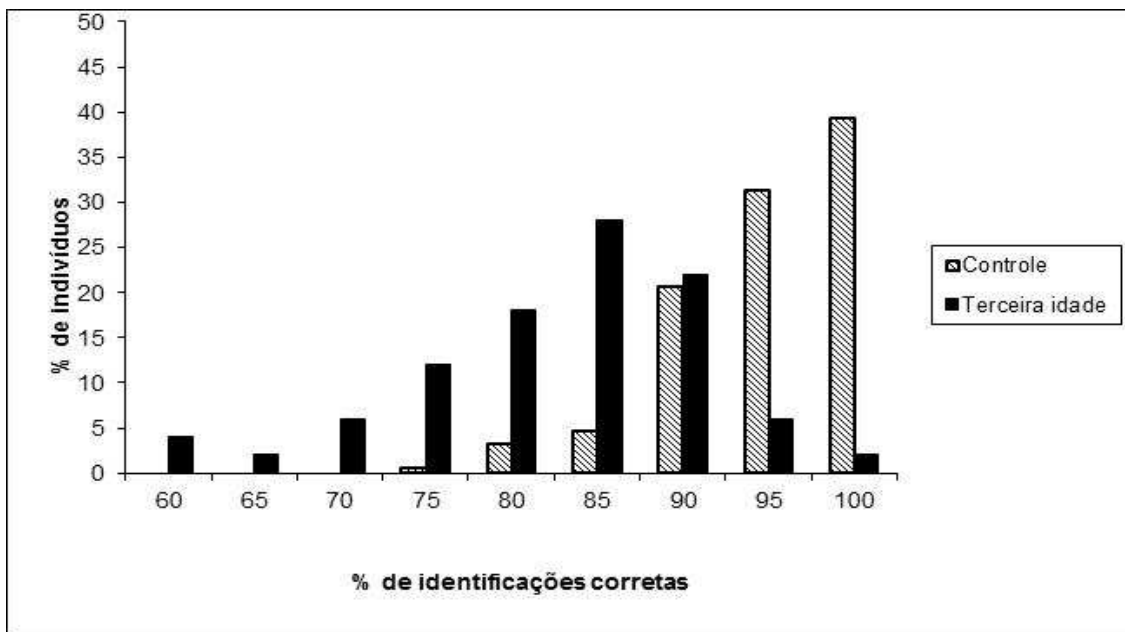


Figura 2.7: Distribuição da % de identificações corretas dos indivíduos do grupo controle (Grupo I) e da terceira idade (Grupo II) no teste “Pastilhas de Odor”.

O teste não-paramétrico de Wilcoxon-Mann-Whitney dos dados apresentados na Figura 2.7 confirmou que de fato, o grupo da terceira idade apresentou % de identificação de odores significativamente inferior ($p < 0,001$) ao grupo controle (Grupo I). Essa diferença pode ser atribuída à diminuição da função olfatória com o aumento da idade dos indivíduos (Doty et al., 1984; Evans et al., 1995; Kaneda et al., 2000; Choudhury et al., 2003; Mackay-Sim et al., 2004; Seiberling & Conley, 2004). Segundo Doty et al. (1984) essa diminuição ocorre gradativamente em ambos os sexos a partir de 70 anos de idade. O fato do teste “Pastilhas de Odor” ter segmentado o grupo da terceira idade do grupo controle com relação à capacidade de identificação de odores, constrói validade ao teste como um instrumento de avaliação da capacidade olfatória de indivíduos.

A Figura 2.8 apresenta o desempenho de cada grupo – controle e terceira idade- em cada um dos 36 odores do teste “Pastilhas de Odor”, confirmando um desempenho inferior dos indivíduos da terceira idade em quase todos os odores, com exceção dos odores de alho,

banana, anis e noz moscada. A Figura 2.8 mostra que a diferença de desempenho entre os dois grupos – controle e terceira idade – foi maior para os odores de uva, maracujá, melão, mostarda, gengibre, vinagre, mamão, noz moscada, chocolate, água-sanitária, acetona, tabaco e pinga; não havendo, no momento, uma explicação para essa ocorrência.

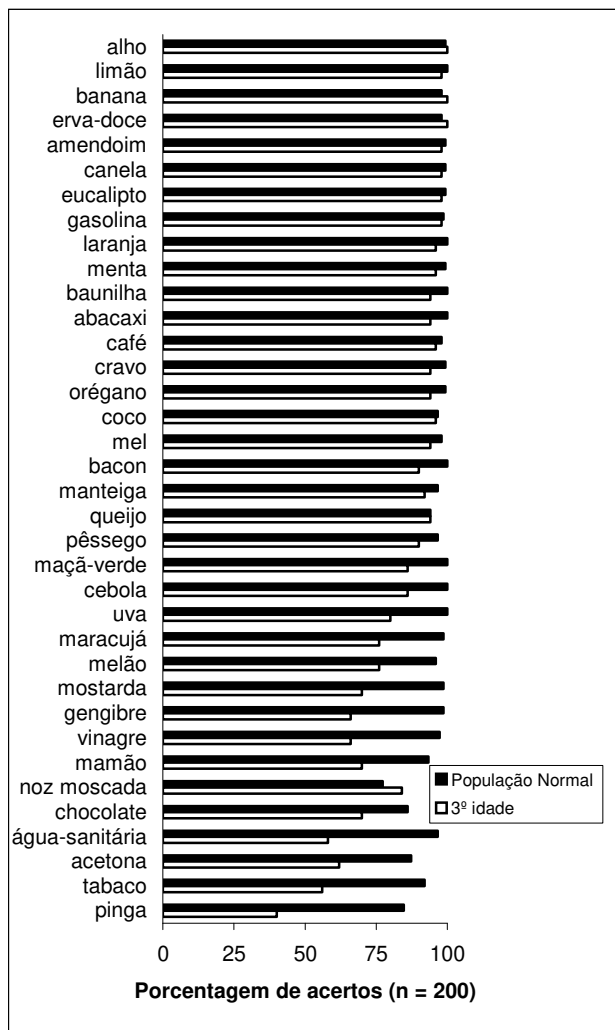


Figura 2.8: Porcentagem de identificações corretas do grupo controle e da terceira idade em cada um dos 36 odores do teste “Pastilhas de Odor”.

Finalmente, a Figura 2.9A apresenta a porcentagem de respostas corretas obtidas no teste “Pastilhas de Odor” pelos indivíduos do sexo feminino da população controle (n=75) e dos indivíduos da terceira idade (n=50) em diferentes grupos de idade. Os resultados indicam que

realmente a capacidade de identificação de odores dos indivíduos diminui com o aumento da idade, sendo que esta diminuição no grupo testado ocorreu gradativamente a partir dos 50 anos de idade. A Figura 2.9B apresenta os resultados obtidos por Doty et al. (1984) na utilização do UPSIT em indivíduos dos sexos masculinos e femininos da população controle e indivíduos da terceira idade. Utilizando-se o UPSIT, Doty et al. (1984) também observou uma leve diminuição da capacidade olfatória nos indivíduos a partir dos 50 anos de idade, ocorrendo uma maior queda a partir dos 70 anos de idade. O fato do teste “Pastilhas de Odor” ter confirmado as observações de Doty et al. (1984), constrói validade ao teste como um instrumento de avaliação da capacidade olfatória de indivíduos.

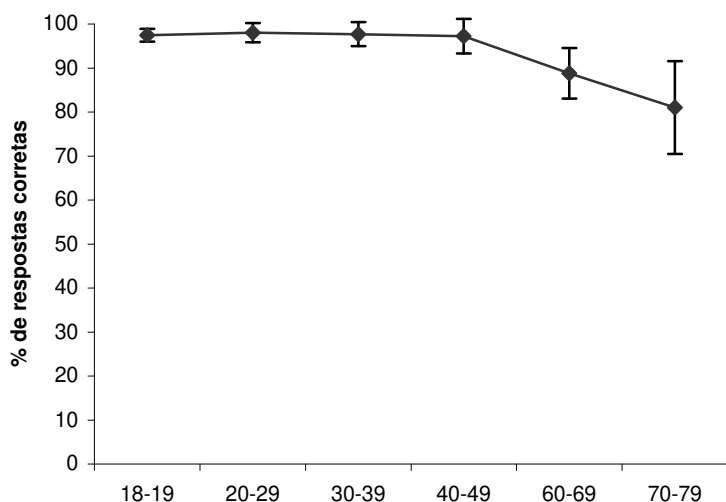


Figura 2.9A: Porcentagem de respostas corretas em diferentes idades de indivíduos do sexo feminino do grupo controle e terceira idade utilizando-se o teste “Pastilhas de Odor”.

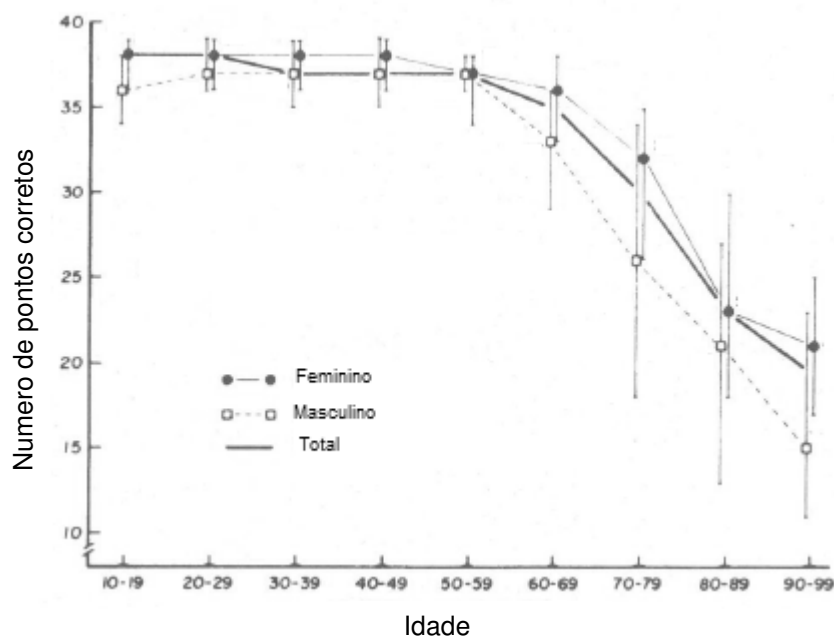


Figura 2.9B: Número de pontos corretos em diferentes idades de indivíduos do sexo feminino e masculino do grupo controle e terceira idade utilizando-se o teste UPSIT.

2.3.2.2 Homens vs. Mulheres

Quando os dados de homens (n=75) e mulheres (n=75) do grupo controle (Grupo I) foram avaliados, verificou-se uma média de acertos de 97,9% entre as mulheres, e de 95,3% entre os homens.

A Figura 2.10 demonstra que a superioridade das mulheres sobre os homens na identificação de odores, embora muito pequena, é homogênea para todas as amostras, à exceção das pastilhas com odor de maçã verde, baunilha, laranja, uva, cebola, limão, bacon e abacaxi, para as quais os homens apresentaram resultados iguais às mulheres, e para o odor de café, nos quais os homens superaram as mulheres. O teste não-paramétrico de Wilcoxon-Mann-Whitney confirmou superioridade de desempenho das mulheres ($p=0,0003$) com relação à identificação de 27 dos 36 odores: amendoim, cravo, canela, orégano, menta, eucalipto, alho,

maracujá, gasolina, gengibre, mostarda, banana, erva-doce, mel, vinagre, coco, pêsego, água sanitária, manteiga, melão, queijo, mamão, tabaco, acetona, chocolate, pinga, noz moscada.

Superioridade das mulheres na identificação de odores tem sido verificada por vários pesquisadores (Choudhury et al., 2003; Mackay-Sim et al., 2004; Olofsson & Nordin, 2004), inclusive Doty et al. (1984), que na validação do UPSIT observaram que a média e mediana da % de identificação correta obtida pelas mulheres foi maior que a dos homens em praticamente todas as idades estudadas. Para os homens com idade entre 10-49 anos, os valores da mediana foram de 92,5% e para as mulheres, de 95%, ambos valores muito próximos aos obtidos pela aplicação de “Pastilhas de Odor” em 75 homens e 75 mulheres do grupo controle, de idades entre 18 e 46 anos.

A superioridade das mulheres em testes de avaliação da função olfatória, incluindo a identificação de odores, foi atribuída por Bengtsson et al. (2001) à diferenças de natureza cognitiva, após os autores terem analisado as ativações bilaterais na amígdala, córtex piriforme e insular em ambos os sexos, sem encontrar diferenças significativas.

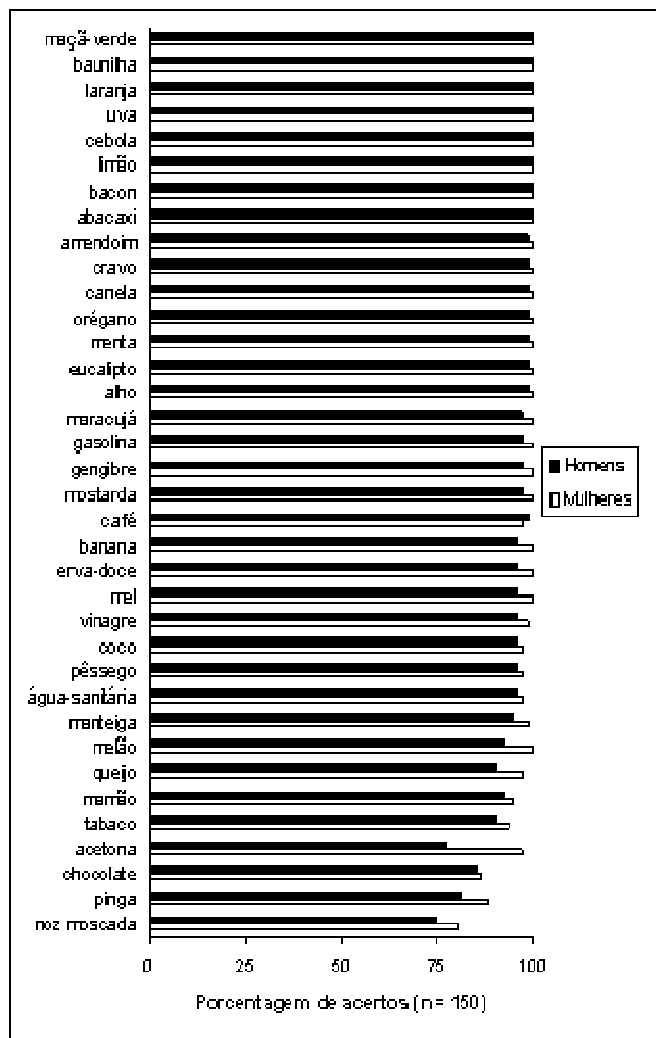


Figura 2.10: Porcentagens de homens e mulheres do grupo controle que identificaram corretamente cada odor do teste “Pastilhas de Odor”.

2.3.2.3 População Controle vs. Portadores de Epilepsia do Lobo temporal (ELT)

Quando o teste “Pastilhas de Odor” foi aplicado de forma mono-rinal no grupo controle (n= 50) e em portadores de epilepsia, observou-se que tanto os portadores de epilepsia sem cirurgia (n=18) como os portadores de epilepsia que haviam sofrido cirurgia (n=23), apresentaram menor capacidade de identificação de odores que os indivíduos do grupo controle; em ambas as narinas (Figura 2.11). Uma menor capacidade de identificação dos portadores de epilepsia que realizaram cirurgia, comparativamente àqueles portadores que não haviam sofrido cirurgia, pode também ser observada para ambas as narinas (Figura 2.11).

Tanto para a narina esquerda, como para a narina direita, testes estatísticos confirmaram diferença significativa dos dois grupos de portadores de epilepsia comparativamente ao grupo controle ($p \leq 0,05$). Para a narina esquerda, o grupo controle apresentou porcentagem de identificação correta de $92,44 \pm 5,35\%$, os portadores de epilepsia sem cirurgia de $82,38 \pm 16,29\%$ e os que realizaram cirurgia de $74,40 \pm 18,93\%$. Para a narina direita, o grupo controle apresentou porcentagem de identificação correta de $90,77 \pm 8,14\%$ e os grupos de portadores de epilepsia sem e com cirurgia de $79,93 \pm 16,30\%$ e $71,25 \pm 19,43\%$ respectivamente. Embora os pacientes portadores de epilepsia que realizaram cirurgia tenham apresentado porcentagens de acerto inferiores aos pacientes que não haviam realizado cirurgia, essa diferença não foi significativa a $p \leq 0,05$, nem para a narina esquerda ($p=0,1614$) nem para a narina direita ($p=0,1362$).

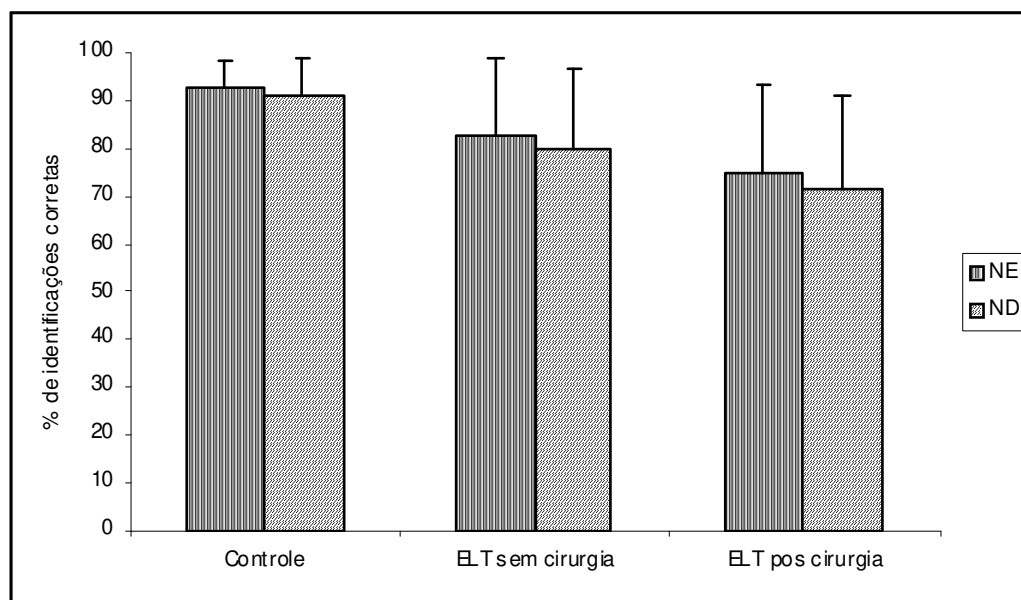


Figura 2.11: Porcentagem de identificação dos odores “Pastilhas de Odor” alcançada pelo grupo controle (grupo I), portadores de epilepsia sem cirurgia (grupo III), portadores de epilepsia pós-cirurgia (grupo IV). NE: narina esquerda, ND: narina direita.

A Figura 2.12 apresenta resultados de pacientes portadores de epilepsia sem e após cirurgia referentes à porcentagem de identificações corretas de odores para a narina ipsilateral e contralateral ao lado da lesão/lobectomia. O grupo de pacientes pós-cirúrgicos apresentou menor porcentagem de identificações corretas de odores na narina ipsilateral à lobectomia ($p=0,018$). Para o grupo de pacientes sem cirurgia não houve diferença significativa entre as narinas ipsilateral e contralateral à lesão cerebral ($p\geq 0,05$). Para o grupo de ELT sem cirurgia, a porcentagem de identificações corretas para a narina ipsilateral foi de $79,63\pm 15,71\%$ e para a narina contralateral de $82,71\pm 16,81\%$. Para o grupo de pacientes pós-cirúrgicos o desempenho para as narinas ipsilateral e contralateral foram de $68,12\pm 20,32\%$ e $77,54\pm 16,79\%$, respectivamente. Nos estudos conduzidos por Eskenazi et al., (1986) e Savic et al., (1997) pacientes portadores de ELT também apresentaram menor desempenho na capacidade de identificação de odores na narina ipsilateral à lesão cerebral.

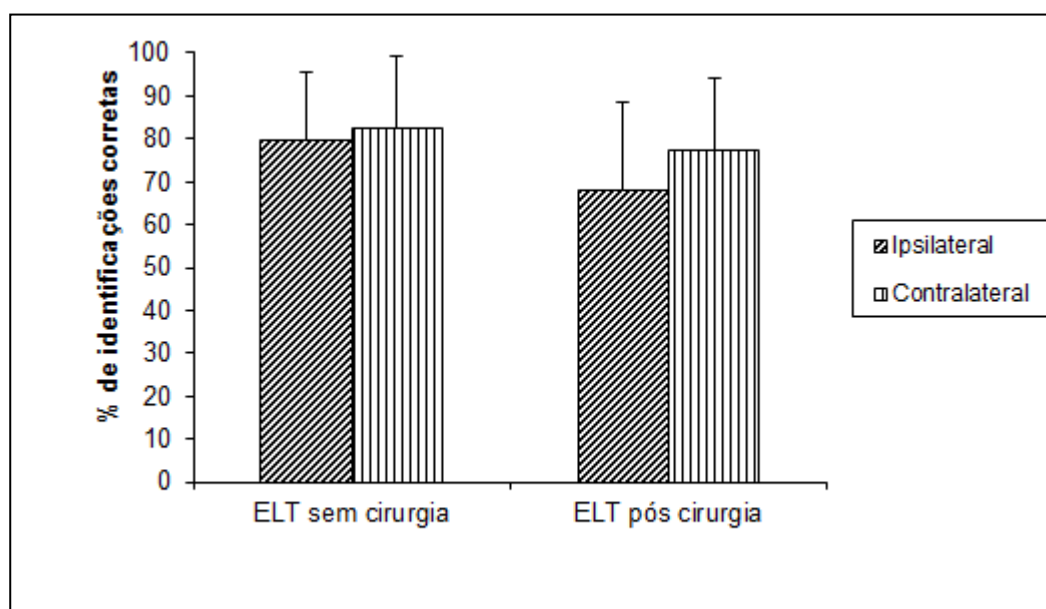


Figura 2.12: Porcentagem de identificação dos odores “Pastilhas de Odor” alcançada pelos portadores de epilepsia sem cirurgia (grupo III) e portadores de epilepsia pós cirurgia (grupo IV) nas narinas ipsilateral e contralateral à lesão/lobectomia.

As diferenças entre o grupo controle e os portadores de epilepsia não podem ser atribuídas à diferenças na acuidade olfatória entre os grupos, dado que os limiares de detecção do álcool fenil etílico (PEA) para as narinas esquerda e direita dos indivíduos dos citados grupos, não diferiram significativamente ($p \geq 0,05$) entre si, conforme mostram as Tabelas 2.5. Quando se avaliou os limiares de detecção para as narinas ipsilateral e contralateral à lesão/lobectomia de pacientes portadores de ELT (Tabela 2.6), não houve diferença significativa entre os resultados encontrados ($p \geq 0,05$). Esses resultados excluem a possibilidade de perda olfatória primária dos portadores de epilepsia, sugerindo que a perda da capacidade de identificação de odores deve-se à danos em estruturas olfatórias centrais e/ou conexões.

O limiar de detecção médio (v/v) da população controle ($n=50$) foi de $3,72 \times 10^{-6}$ para a narina esquerda e $3,85 \times 10^{-6}$ para a narina direita. Valores muito similares foram obtidos junto aos portadores de epilepsia, sendo que os pacientes que não realizaram cirurgia ($n=18$) apresentaram valor de $9,06 \times 10^{-6}$ para narina esquerda e $9,10 \times 10^{-6}$ para narina direita. Os pacientes que realizaram cirurgia ($n=23$) apresentaram valor de $5,12 \times 10^{-6}$ para a narina esquerda e $6,50 \times 10^{-6}$ para a narina direita (Tabela 2.5). Esses resultados são similares aos reportados por Kohler et al. (2001), que encontraram para um grupo controle, composto de 25 indivíduos, limiares de detecção para o PEA igual $5,24 \times 10^{-6}$ para a narina direita e $3,16 \times 10^{-6}$ para a narina esquerda.

Tabela 2.5: Valores médios de limiar de detecção ao álcool fenil etílico (v/v) e respectivos desvios-padrão para a narina esquerda e direita da população controle (grupo I, $n=50$) e portadores de epilepsia sem cirurgia (grupo III, $n=18$) e após cirurgia (grupo IV, $n=23$).

	Narina Esquerda	Narina Direita
Controle	$3,72E-06^a \pm 8,87E-06$	$3,85E-06^a \pm 5,90E-06$
Epilepsia sem cirurgia	$9,06E-06^a \pm 2,35E-05$	$9,10E-06^a \pm 2,27E-05$
Epilepsia após cirurgia	$5,12E-06^a \pm 7,13E-06$	$6,50E-06^a \pm 1,03E-06$

Em uma mesma coluna, médias com letras em comum, não diferem entre si a $p \leq 0,05$.

Tabela 2.6: Valores médios de limiar de detecção ao álcool fenil etílico (v/v) e respectivos desvios-padrão para a narina ipsilateral e contralateral de portadores de epilepsia sem cirurgia (grupo III, n=18) e após cirurgia (grupo IV, n=23).

	Narina Ipsilateral	Narina Contralateral
Epilepsia sem cirurgia	8,54E-06 ^a ± 2,26E-05	8,09E-06 ^a ± 2,27E-05
Epilepsia após cirurgia	7,47E-06 ^a ± 1,02E-06	4,15E-06 ^a ± 7,00E-06

Em uma mesma coluna, médias com letras em comum, não diferem entre si a $p \leq 0,05$.

Redução da capacidade de portadores de epilepsia em identificar odores foi também reportada por Carrol et al, (1993) que, ao avaliarem a capacidade de pacientes portadores de epilepsia (ELT direito, ELT esquerdo e não ELT) identificarem odores comuns, constataram que todos os indivíduos apresentavam essa função prejudicada. Da mesma forma, Kohler et al. (2001) comparando portadores de epilepsia (ELT direito e ELT esquerdo) com indivíduos normais, verificaram que indivíduos com ELT direito apresentavam significativa disfunção olfatória em testes de identificação de odor. Finalmente, Morrison et al. (2002) ao compararem a capacidade de identificação de odor de portadores de epilepsia com indivíduos do grupo controle, constataram que pacientes com epilepsia apresentavam desempenhos inferiores.

2.3.3 Confiabilidade do teste “Pastilhas de Odor”

Quando o teste “Pastilhas de Odor” foi aplicado em 38 indivíduos (grupo controle e terceira idade) em duas repetições consecutivas, intercaladas por um período de 2 semanas, obteve-se um valor de coeficiente de correlação de Pearson (r) entre os dados da primeira e segunda aplicação, igual a 0,8725 ($p < 0,001$) (Figura 2.13). Não houve diferença significativa ($p \geq 0,05$) entre a porcentagem de identificações corretas obtidas na primeira (teste) ($90,28 \pm 9,26$) e segunda (re-teste) ($90,64 \pm 9,67$) repetição do teste. Estes resultados indicam que “Pastilhas de Odor” apresentou alto coeficiente de confiabilidade, compatível àqueles observados em outros testes olfatométricos de identificação de odores como: o UPSIT, desenvolvido por Doty et al. (1984) ($r=0,95$, $p < 0,001$); o Sniffin’ Sticks de Kobal et al. (1996)

($r=0,75$ $p<0,001$); o SOIT de Nordin et al. (1998) ($r= 0,79$, $p<0,001$) e Saito et al. (2006) ($r=0,772$, $p<0,001$).

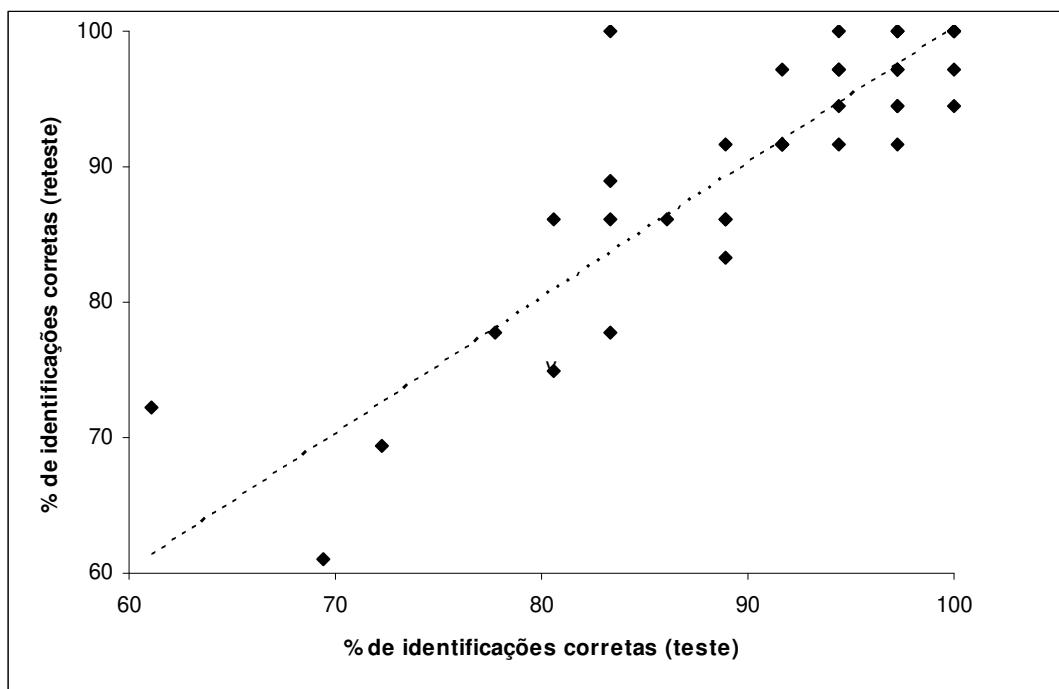


Figura 2.13: Correlação entre a porcentagem de identificações corretas de indivíduos dos grupos I e II obtida no teste e reteste ($n = 38$) do teste de identificação “Pastilhas de Odor”.

2.3.4 Estabilidade das pastilhas de odor

Quando as pastilhas armazenadas por 3 meses à temperatura ambiente ($\cong 26$ °C) foram utilizadas para aplicar o teste “Pastilhas de Odor” nos indivíduos do grupo controle ($n=150$), não houve diferenças significativas ($p\geq 0,05$) da porcentagem de identificações corretas dos indivíduos, comparativamente às pastilhas recém elaboradas. Portanto, as pastilhas de odor embaladas conforme anteriormente descrito apresentam-se estáveis no período de 3 meses após a produção.

2.4 CONCLUSÃO

No presente estudo, um instrumento de fácil administração para avaliar a capacidade de identificação de odores dos indivíduos foi desenvolvido e intitulado “Pastilhas de Odor”. Testando-se seu desempenho e validade através de metodologias sugeridas por Doty et al. (1984), verificou-se que a ferramenta desenvolvida é apropriada para uso em testes olfatórios. Com o teste “Pastilhas de Odor” foi possível detectar a superioridade das mulheres na identificação de odores e a diminuição da função olfatória com o aumento da idade dos indivíduos. Pacientes portadores de epilepsia do lobo temporal, sem cirurgia e após ressecção do lobo temporal, apresentando limiar de detecção normal ao álcool fenil etílico mostraram, como esperado, desempenho inferior ao grupo controle no teste de identificação de odores. O fato do teste “Pastilhas de Odor” diferenciar de um grupo controle, indivíduos da terceira idade e portadores de epilepsia, conhecidos por apresentarem disfunção olfatória, constrói validade para sua utilização em diagnósticos clínicos para a avaliação da capacidade de identificação de odores de indivíduos. O teste também apresentou alto coeficiente de correlação ($r=0,8725$, $p<0,001$) no teste-reteste com intervalo de duas semanas, confirmando que “Pastilhas de Odor” é um teste confiável para ser utilizado na avaliação da função olfatória de indivíduos. As pastilhas associados ao teste mostraram-se estáveis por 3 meses quando armazenadas na embalagem original à temperatura ambiente.

2.5 REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

AIZENSTEIN, H.J.; NEBES, R.D.; SAXTON, J.A.; PRICE, J.C.; MATHIS, C.A.; TSOPELAS, N.D.; ZIOLKO, S.K.; JAMES, J.A.; SNITZ, B.E.; HOUCK, P.R.; COHEN, A.D.; LOPRESTI, B.J.; DEKOSKY, S.T.; HALLIGAN, E.M.; KLUNK, W.E. Frequent amyloid deposition without significant cognitive impairment among the elderly. **Arch. Neurol**, v.65, n.11, p.1509-1517, 2008.

BHATNAGAR, K.P.; KENNEDY, R.C.; BARON, G.; GREENBERG, R.A. number of mitral cells and the bulb volume in the aging human olfactory bulb: a quantitative morphological study. **Anat. Rec.**, v.218, p.73-87, 1987.

BENGTSSON, S.; BERGLUND, H., GULYAS, B.; COHEN, E.; SAVIC, I. Brain activation during odor perception in males and females. **Chemical Senses**, v. 12, n. 9, 2001.

CAIN, W.S.; GENT, J.F. Olfactory sensitivity: reliability, generality, and association with aging. *J. Exp. Psychol. Hum. Percept. Perform.*, v.17, n.2, p.382-391, 1991.

CARROL, B.; RICHARDSON, J.Y.; THOMPSON, P. Olfactory information processing and temporal lobe epilepsy. **Brain-and-cognition**, v.22, n.2, p.230-243, 1993.

CHEN, Y.; GETCHELL, T.V.; LARRY SPARKS, D.; GETCHELL, M.L. patterns of adrenergic and peptidergic innervation in human olfactory mucosa: age-related trends. **J. Comp. Neurol.** V.334, p.104-116, 1993.

CHOUHDURY E.S.; MOBERG, P.; DOTY, R.L.; Influences of age and sex on microencapsulated odor memory test. **Chemical Senses**, v. 28, p.799-805, 2003.

DEEMS, D.A.; DOTY, R.L. Odor detection ability decreases with age. **Chemical Senses**, v.12, n.4, p.650-650, 1987.

DEEMS, D.A.; DOTY, R.L.; SETTLE, R.G.; MOORE-GILLON, V.; SHAMAN, P.; MESTER, A.F.; KIMMELMAN, C.P.; BRIGHTMAN, V.J; SNOW JR, J.B. Smell and taste disorders, a study of 750 patients from the University of Pennsylvania Smell and Taste center. **Archives of Otolaryngology and Head Neck Surgery**, v.117, p.519-528, 1991.

DOTY, R.L.; SHAMAN, P.; DANN, M. Development of the University of Pennsylvania Smell Test: Standardized microencapsulated test for olfactory function. **Physiological and Behavior**, 32, 482-502, 1984.

DOTY, R.L.; NEWHOUSE, M.G.; AZZALINA, J.D. Internal consistence and short-term test-retest reliability of the University of Pennsylvania Smell Identification Test. **Chemical Senses**,10, 297-300, 1985.

DOTY, R.L.; MCKEOWN, D.A.; LEE, W.W.; SHAMAN, P. A study of the test-retest reliability of ten olfactory tests. **Chemical Senses**, 20, 646-656, 1995.

DOTY, R.L.; MARCUS, A.; LEE, W.W. Development of the 12-Item Cross-Cultural Smell Identification test (CC-SIT). **Laryngoscope**, 106, 353-356, 1996.

DOTY, R.L. LI, C.; MANNON, L.J.; YOUSEM, D.M. Olfactory dysfunction in multiple sclerosis. **New England Journal of Medicine**, 336, 1918-1919, 1997.

DOTY, R.L.; DEEMS D.A. Olfactory function and dysfunction. In: BAILEY, B.J.; PILLSBURY, H.C.; NEWLANDES, S.D. **Head and Neck Surgery-Otolaryngology**. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 247-260, 2001.

DOTY, R.L. Clinical studies of olfaction. **Chemical Senses**, v.30, p.207-209, 2005.

DOTY, R.L. Temporal lobe epilepsy and temporal lobe resection: influences on olfactory function. In: International Symposium in Olfaction and Taste. Abstracts... San Francisco, 2008.

ESKENAZI, B.; CAIN, W.; NOVELLY, R.A.; MATTSON, R. Odor perception in temporal lobe epilepsy patients with and without temporal lobotomy. **Neuropsychology**, v.24, p.553-562, 1986.

EVANS, J.W.; CUI, L.; STARR, A. Olfactory event-related potentials in normal human subjects: effects of age and gender. **Electroencephalography and Clinical Neurophysiology**, v. 95, p. 293-301, 1995.

GRANT, A.C. Interictal perceptual function in epilepsy. **Epilepsy & Behavior**, v.6, p.511-519, 2005.

HASHIMOTO, Y.; FUKAZAWA, K.; FUJII, M.; TAKAYASU, S.; MUTO, T.; SAITO, S.; TAKASHIMA, Y.; SAKAGAMI, M. Usefulness of the odor stick identification test for Japanese patients with olfactory dysfunction. **Chemical Senses**, 29, 565-571, 2004.

HUDRY, J.; PERRIN, F.; RYVLIN, P.; MANGUIERE, F.; ROYET, J.P. Olfactory short-term memory and related amygdala recordings in patients with temporal lobe epilepsy. **Brain**, v.126, n.8, p.1851-1863, 2003.

HUMMEL, T.; SEKINGER, B.; WOLF, S.R.; PAULI, E.; KOBAL, G. "Sniffing Sticks": Olfactory performance assessed by the combined testing of odor identification, odor discrimination and olfactory thresholds. **Chemical Senses**, 22, 39-52, 1997.

JONES-GOTMAN, M.; ZATORRE, R.J. Olfactory identification deficits in patients with focal cerebral excision. **Neuropsychologia**, v.26, n.3, p.387-400, 1988.

JONES-GOTMAN, M.; ZATORRE, R.J.; CENDES, F.; OLIVIER, A.; ANDERMANN, F.; MCMACKIN, D.; STAUNTON, H.; SIEGEL, A.M.; WIESER, H.G. Contribution of medial versus lateral temporal-lobe structures to human odour identification, **Brain**, v.120, p.1845-1856, 1997.

KANEDA, H.; MAESHIMA, K.; GOTO, N.; KOBAYAKAWA, T.; AYABE-KANAMURA, S.; SAITO, S. decline in taste and odor discrimination abilities with age, and relationship between gestation and olfaction. **Chemical Senses**, v.25, p.331-337, 2000.

KAREKEN, D.A.; MOSNIK, D.M.; DOTY, R.L.; DZEMIDZIC, M.; HUTCHINS, G.D. Functional anatomy of human odor sensation, discrimination, and identification in health and aging. **Neuropsychology**, v.17, n.3, p.482-495, 2003.

KOBAL, G.; HUMMEL, T.; SEKINGER, B.; BARZ, S.; ROSCHER, S.; WOLF, S.R. "Sniffing Sticks": Screening of olfactory performance. **Rhinology**, 34 ,222-226, 1996.

KOBAL, G.; KLIMEK, L.; WOLFENBERGER, M.; GUDZIOL, H.; TEMMEL, A.; OWEN, C.M.; SEEBER, H.; PAULI, E.; HUMMEL, T. 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 Otorhinolaryngology**, v.257, 205-211, 2000.

KOHLER, C.G.; MOBERG, P.J.; GUR, R.E.; O'CONNOR, M.J.; SPERLING, M.R.; DOTY, R.L. Olfactory dysfunction in schizophrenia and temporal lobe epilepsy. **Neuropsychiatry, Neuropsychology and Behavior Neurology**, v.14, n.2, p.83-88, 2001.

KOVACS, T.; CAIRNS, N.J.; LANTOS, P.L. B-amyloid deposition and neurofibrillary tangle formation in the olfactory bulb in ageing and Alzheimer's disease. **Neuropathol. Appl. Neurobiol.**, v.25, p.481-491, 1999.

KOVACS, T.; CAIRNS, N.J.; LANTOS, P.L. Olfactory centres in Alzheimer's disease: olfactory bulb is involved in early Braak's stages. **Neuroreport**, v.12, n.2, p.285-288, 2001.

KOVACS, T. Mechanisms of olfactory dysfunction in aging and neurodegenerative disorders. **Ageing Research Reviews**, 3, 215-232, 2004.

LAM, H.C.K.; SUNG, J.K.K.; ABDULLAH, V.J.; HASSELT, C.A.V.H. The combined olfactory test in Chinese population. **The Journal of Laryngology & Otology**, 120,p. 113-116, 2006.

LANDIS, B.N.; KONNERTH, C.G.; HUMMEL, T. A study on the frequency of olfactory dysfunction. **The Laryngoscope**, v.114, p.1764-1769, 2004.

LARSSON, M.; FARDE, L.; HUMMEL, T.; WITT, M.; ERIXON LINDROTH, N.; BACKMAN, L. Age-related loss of olfactory sensitivity: association to dopamine transporter binding in putamen. **Neuroscience**, v.161, p.422-426, 2009.

MACKAY-SIM, A.;GRANT, L.; OWEN, C.; SILBURN, P. Australian norms for a quantitative olfactory function test. **Journal of Clinical Neuroscience**, v. 11, n. 8, p.874-879, 2004.

MARTINEZ, B.A.; CAIN, W.S.; WIJK, R.A.; SPENCER, D.D.; NOVELLY, R.A.; SASS, K.J. Olfactory functioning before and after temporal lobe resection for intractable seizures. **Neuropsychology**, v.7, n.3, p.351-363, 1993.

MARTZKE, J.S.; KOPALA, L.C.; GOOD, K.P. Olfactory dysfunction in neuropsychiatric disorders: review and methodological considerations. **Biological Psychiatry**, 42, 721-732, 1997.

MATTES, R.D. Nutritional implications of taste and smell disorders. In: Doty RL, ed. **Handbook of Olfaction and Gustation**. New York: Marcel Dekker, p 881-903, 2003.

MESHOLAM, R.I.; MOBERG, P.J.; MAHR, R.N.; DOTY, R.L. Olfaction in neurodegenerative disease. A meta-analysis of olfactory functioning in Alzheimer's and Parkinson's diseases. **Archives of Neurology**, 55, 84-90, 1998.

MIN, L.L.; SANDER, J.W.A.S. Projeto demonstrativo em epilepsia no Brasil. **Arquivos de Neuro-Psiquiatria**, v.61, p.153-156, 2003.

MIN, L.L. Entrevista concedida a Drauzio Varella. Campinas: Unicamp/FCM, [2005]. Folheto.

MOBERG, P.J.; AGRIN, R.; GUR, R.E.; GUR, R.C.; TURETSKY, B.I.; DOTY, R.L. Olfactory dysfunction in schizophrenia: a qualitative and quantitative review. **Neuropsychopharmacology**, 21, 325-340, 1999.

MORRISON, C.E.; BARR, W.; ZAROFF, C.; DEVINSKY, O. Olfactory assessment in epilepsy patients. **Epilepsia**, v.43, n.7, p.185, 2002.

- MURPHY, C.; NORDIN, S.; ACOSTA, L. Odor learning, recall and recognition memory in young and elderly adults. **Neuropsychology**, v.11, n.1, p. 126-137, 1997.
- NOBLE, A.C.; ARNOLD, R.A.; BUECHSENSTEIN, J.; LEACH, E.J.; SCHMIDT, J.O.; STERN, P.M. Modification of a standardized system of wine aroma terminology. **Am. J. Enol. Vitic.**,v.38, n.2, p.143-156, 1987.
- NORDIN, S.; BRAMERSON, A.; LIDEN, E.; BENDE, M. The Scandinavian odor-identification test: development, reliability, validity and normative data. **Acta Oto-Laryngologica**, 118, 226-234, 1998.
- NORDIN, S.; BROMERSON, A.; HEDZN BLOMGVIST, E. Consequences of olfactory dysfunction for life quality and adopted coping mechanisms. **Int. J. Psychol**, v.35, n.108, p. 2000.
- OLOFSSON, J.K.; NORDIN, S. gender differences in chemosensory perception and event-related potentials. **Chemical Senses**, v.29, n.7, p.629-637, 2004.
- PAIK, S.I.; LEHMAN, M.N.; SEIDEN, A.M.; DUNCAN, H.J.; SMITH, D.V. Human olfactory biopsy. The influence of age and receptor distribution. **Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg.**, v.118, p.731-738, 1992.
- PAROLA, S.; LIBERINI, P. Assessing olfaction in the Italian population: methodology and clinical application. **Italian Journal of Neurological Sciences**, 20, 287-296, 1999.
- RAWSON, N.E. Olfactory loss in aging. **Sci. Aging knowledge Environ**, v.2006, n.5, p.6, 2006.
- ROLLS, E.T. Taste and olfactory processing in the brain and its relation to the control of eating. **Crit. Rev. Neurobiol.**, v.11, p. 263-287, 1997.
- SAITO, S.; AYABE-KANAMURA, S.; TAKASHIMA, Y. A smell test based on odour classification of Japanese people. **Jpn. J. Taste Smell Res.**, p.327-330, 1994
- SAITO, S.; AYABE-KANAMURA, S.; TAKASHIMA, Y.; GOTOW, N.; NAITO, N.; NOZAWA, T.; MISE, M.; DEGUCHI, Y.; KOBAYAKAWA, T. Development of a smell identification test using a novel stick-type odor presentation kit. **Chemical Senses**, 31, 379-391, 2006.
- SANDER, J.W; SHORVON, S.D. Epidemiology of the epilepsies. **Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry** v. 61, p.433-443, 1996.
- SAVIC, I.; BOOKHEIMER, S.Y.; FRIED, I.; ENGEL, J.Jr. Olfactory bedside test. A simple approach to identify temporo-orbitofrontal dysfunction. **Archives of Neurology**, v.54, p.162-168, 1997.
- SAVIC, I. Processing of odorous signals in humans. **Brain Research Bulletin**, v.54, n.3, p.307-312, 2000.
- SCHIFFMAN, S.; PASTERNAK, M. Decreased discrimination of food odors in the elderly. **Journal of Gerontology**, v.34, n.1, p.73-79, 1979.

SEIBERLING, K.A.; CONLEY, D.B. Aging and olfactory and taste function. **Otolaryngol Clin N Am**, v. 37, p. 1209-1228, 2004.

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, 1993.

STEVENS, J.C.; CAIN, W.S.; SCHIET, F.T.; OATLEY, M.W. Olfactory adaptation and recovery in old age. **Perception**, v.18, n.2, p.265-276, 1989.

STEVENS, J.C.; SPENCER, N.A. Olfactory detection of complex versus a simple substance in advanced age. **Chemical Senses**, v.19, n.4, p.365-369, 1994.

VICTOR, M.; ROPPER, A.H.; ADAMS, R.D. Olfactory sense. In: VICTOR, M; ADAMS, R. **Adams & Vectors Principles of Neurology**. New York: McGraw-Hill, 2001. p.238-243.

WANG, J.; ESLINGER, P.J.; SMITH, M.B.; YANG, Q.X. Functional magnetic resonance imaging study of human olfaction and normal aging. **Journal of Gerontology**, v.60A, n.4, p.510-514, 2005.

WESCHLER D. Weschler adult intelligence scale-revised. New York: Psychological Corporation, 1981.

WEST, S.E.; DOTY, R.L. Influence of epilepsy and temporal lobe resection on olfactory function. **Epilepsia**, 36, 531-542, 1995.

WROBEL, B.B.; LEOPOLD, D.A. Clinical assessment of patients with smell and taste disorders. **Otolaryngologic Clinics of North America**, v.37, p.1127-1142, 2004.

ZATORRE, R.J.; JONES-GOTMAN, M. Human olfactory discrimination after unilateral frontal or temporal lobectomy. **Brain**, v.114, p.71-84, 1991.

Capítulo 3. DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE TESTE DE AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE DE DISCRIMINAÇÃO DE ODORES DE INDIVÍDUOS

RESUMO

Memória olfatória e capacidade em discriminar odores, são funções muitas vezes reduzidas em algumas desordens cerebrais, como a epilepsia, doença de Parkinson e Alzheimer. Assim, testes de discriminação de odores têm sido ferramentas valiosas em diagnósticos precoces dessas condições patológicas. Por esse motivo, no presente estudo foi desenvolvido, testado e validado um teste para avaliar a capacidade de discriminação de odores de indivíduos. Para o desenvolvimento do teste, 24 voláteis odoríferos puros (P.A.), associados a 6 diferentes categorias de odor (doce, verde, frutal, cítrico, floral e desagradável) foram selecionados e diluídos em propilenoglicol. Com essas amostras, 36 testes de comparação pareada foram construídos, onde em cada categoria de odor, uma amostra alvo foi selecionada para ser comparada com as demais da mesma categoria. Três grupos de indivíduos participaram deste estudo: grupo controle, grupo da terceira idade e grupo de indivíduos portadores de epilepsia do lobo temporal (ELT). Os dados obtidos no teste de discriminação de odores foram analisados utilizando-se a teoria "signal-detection", que gerou para cada indivíduo, os parâmetros: taxa de acertos (HR), taxa de falsos alarmes (FR), poder discriminativo ($d'L$) e vício de resposta (CL). Os grupos da terceira idade e dos portadores de epilepsia apresentaram menor poder discriminativo e taxa de acertos ($p \leq 0.05$) comparativamente aos indivíduos do grupo controle. Não houve diferença entre homens e mulheres do grupo controle ($p \geq 0,05$) quanto ao poder discriminativo. Os resultados obtidos nesse estudo confirmam que tanto a epilepsia de lobo temporal, como o aumento da idade do indivíduo, podem alterar os processos de codificação olfatória e/ou memória de curto termo do indivíduo, diminuindo sua capacidade em discriminar odores pertencentes a uma mesma categoria. O fato do teste de discriminação de odores

desenvolvido na presente pesquisa ter detectado essa deficiência em portadores de epilepsia e indivíduos da terceira idade, constrói validade para sua utilização em diagnósticos associados a essas populações.

Palavras-chave: Olfato, teste de discriminação de odores, disfunção olfatória, terceira idade, epilepsia.

3.1 INTRODUÇÃO

Perda ou diminuição do sentido do olfato não é uma ocorrência incomum na população em geral e contribui para a redução da qualidade de vida, saúde e segurança dos indivíduos (Cerf-Ducastel & Murphy, 2003; Kovacs, 2004; Frasnelli & Hummel, 2005; Croy et al., 2010). Estima-se que 1% da população em geral apresenta perda total do olfato (Wysocki & Gilbert, 1989; Bromley, 2004).

Diversos fatores influenciam o desempenho da função olfatória, dentre eles destacam-se o gênero e idade dos indivíduos (Doty et al., 1984; Doty et al., 1985; Wang et al., 2005; Rawson, 2006; Larsson et al., 2009). Mulheres em geral, apresentam melhor função olfatória que homens (Doty et al., 1984; Brand & Millot, 2001; Choudhury et al., 2003). Por sua vez, perda da função olfatória ocorre em 50% da população com idade entre 65 e 80 anos e em 75% dos indivíduos com idade superior a 80 anos (Doty et al., 1984; Ship & Weiffenbach, 1993).

A disfunção olfatória também pode ser decorrente de uma das seguintes condições: i) diminuição de condutividade ou transporte dos compostos voláteis aos receptores olfativos devido a obstrução de vias nasais, ii) perdas sensorineurais devido a danos no neuroepitélio olfatório e, iii) comprometimento da região neural olfatória central devido a danos no sistema

nervoso central (Deems et al., 1991; Victor et al., 2001; Doty & Deems, 2001; Kovacs, 2004; Doty, 2005).

Diversas patologias e desordens cerebrais como Alzheimer, doença de Parkinson, esclerose múltipla, esquizofrenia, síndrome de Kallmann, entre outras estão associadas à perda ou diminuição do olfato (West & Doty, 1995; Doty et al., 1997; Mesholam et al., 1998; Moberg et al., 1999; Doty & Deems, 2001; Kovacs, 2004). Dentre as desordens cerebrais de impacto sobre a capacidade olfatória encontra-se a epilepsia, que tem sido associada a deficiências na capacidade de discriminação, identificação e memória de curto e longo termo para odores (Eskenazi et al., 1986; Carrol et al., 1993; West & Doty, 1995; Savic et al., 1997; Kohler et al., 2001; Hudry et al., 2003).

A epilepsia é definida como um distúrbio cerebral causado por predisposição persistente do cérebro em gerar crises epilépticas. A epilepsia do lobo temporal (ELT) é a forma mais comum de epilepsia focal na população adulta, sendo responsável por 40% de todos os casos de epilepsia nesta população (Engel & Shields, 1997). Na ELT, 60% dos pacientes apresentam epilepsia do lobo temporal mesial (Engel & Shields, 1997), sendo que 50-70% desses pacientes refratários ao tratamento medicamentoso apresentam esclerose hipocampal (Babb et al., 1984; Mathern et al., 1996; Andrade-Valença et al., 2006) podendo haver também comprometimento de outras estruturas mesiais do lobo temporal e do córtex entorrinal, incluindo anormalidades da substância branca e neocortex do lobo temporal (Kasper et al., 1999).

Muitos estudos relacionando disfunção olfatória e epilepsia têm sido realizados em portadores de epilepsia do lobo temporal, uma vez que o sistema límbico, localizado no lobo temporal, abriga estruturas que processam sinais gerados por estímulos olfatórios que estão

alteradas. Dentre essas estruturas citam-se a amígdala, córtex piriforme, córtex entorrinal e hipocampo (West & Doty, 1995; Kohler et al, 2001; Grant, 2005).

Devido ao fato dos aferentes olfatórios projetarem-se ipsilateralmente da narina ao córtex do indivíduo, testes olfatórios têm sido utilizados para identificar e lateralizar regiões epileptogênicas de origem no lobo temporal (Savic et al., 1997; Doty, 2008). Assim, testes de avaliação da função olfatória de indivíduos têm sido propostos, cientificamente validados e utilizados em diagnósticos e pesquisas na área de neurociência.

Dentre os testes olfatórios mais utilizados para avaliar com segurança a função olfatória dos indivíduos, e principalmente relacionar disfunção olfatória e epilepsia, encontra-se o teste de discriminação de odores. Este teste requer que o indivíduo avalie se dois odores são iguais ou diferentes (Zatorre & Jones Gotman, 1991; Kobal et al., 2000). Diversos pares de amostras apresentando odores iguais ou diferentes são submetidos à avaliação do indivíduo, e sua capacidade de discriminação é calculada de acordo com a proporção de pares de amostras que são corretamente identificadas como possuindo odores iguais ou diferentes (Potter & Butters, 1980; Zatorre & Jones Gotman, 1991). Os resultados também podem ser avaliados utilizando a teoria “*signal detection*”, considerando-se as identificações corretas e os alarmes falsos (Hudry et al., 2003).

Diferentes testes têm sido utilizados para avaliar a capacidade de discriminação de odores dos indivíduos. Uma versão modificada do teste desenvolvido e patenteado pela Universidade da Pensilvânia, conhecido como “*University of Pennsylvania Smell Identification Test* (UPSIT)” (Doty et al., 1984) tem sido utilizada como teste de discriminação de odores. No UPSIT, os estímulos odoríferos estão contidos em microcápsulas fixadas em tiras de papel e os

indivíduos são solicitados a rasparem as tiras para que o odor seja liberado. Para o teste de discriminação de odores, utiliza-se um livreto contendo 16 itens, ou seja, 16 testes individuais. Cada item apresenta três odores microencapsulados, sendo que dois odores são iguais e um odor é diferente. Na avaliação, é solicitado que o indivíduo, após liberar os odores por raspagem, identifique o odor diferente (Doty et al., 1994).

Opcionalmente, Kobal et al., (1996), Hummel et al., (1997) e Kobal et al., (2000), desenvolveram o que eles denominaram “bastão de cheirar” (*sniffin’ sticks*). Trata-se de um bastão similar a uma caneta hidrocor que, ao invés de tinta, é quantitativamente preenchida com uma essência odorífera. Assim como realizado na versão modificada do UPSIT (Doty et al., 1994), para o teste de discriminação de odores, 16 itens são avaliados e, em cada item, três odores são apresentados ao indivíduo, sendo dois iguais e um diferente; o indivíduo é solicitado a identificar qual dos três bastões apresenta o odor diferente.

Outros pesquisadores têm utilizado testes de discriminação de odores em diferentes meios de apresentação, com pares de odores que são avaliados de acordo com a similaridade e diferença, com itens modificados e validados para a população em estudo (Parola & Libertini, 1999; Zatorre & Jones Gotman, 1991; Dade et al., 2002; Hudry et al., 2003).

Para que um teste de discriminação de odores seja eficiente, é de fundamental importância que seja composto por substâncias odoríferas puras (P.A.), que não apresentem contaminantes que possam interferir na avaliação (Doty et al., 1978). Adicionalmente, alguns estímulos odoríferos do teste devem estimular preferencialmente o sistema olfatório, enquanto outros devem estimular o sistema trigeminal (Doty et al., 1978). Finalmente, qualidade do aroma

dos voláteis selecionados deve estar homoganeamente distribuída em diferentes categorias odoríferas (Dade et al., 2002) como por exemplo: floral, frutal, verde, dentre outras.

No Brasil, um teste que possa ser utilizado com segurança e eficiência para a avaliação da capacidade de discriminação de odores dos indivíduos, ainda não foi adequadamente desenvolvido e validado. Esta é uma dificuldade adicional a ser transposta por nossos pesquisadores que tentam relacionar função olfatória com desordens cerebrais, notadamente a epilepsia. É necessário, portanto, o desenvolvimento e validação de mais esta ferramenta de avaliação e diagnóstico da função olfatória de indivíduos portadores de distúrbios cerebrais, notadamente a epilepsia, que acomete 1% da população mundial -cerca 60 milhões de pessoas- (Sander, 1996) e, no Brasil, aproximadamente três milhões de indivíduos (Min, 2005).

Assim, os objetivos da presente pesquisa foram:

- i) desenvolver, testar e validar uma metodologia para avaliação da capacidade de discriminação de odores, que apresente eficiência na avaliação da função olfatória de indivíduos da população brasileira;
- ii) avaliar a potencialidade da metodologia desenvolvida para uso em pré-diagnóstico clínico de pacientes portadores de epilepsia.

3.2 MATERIAIS E MÉTODOS

O presente estudo foi desenvolvido nos laboratórios de análise sensorial da Faculdade de Engenharia de Alimentos (FEA) e nas dependências da área de neurologia do Hospital das Clínicas (HC), ambos pertencentes à Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP).

Em atendimento à resolução nº 196/96 do Conselho Nacional de Saúde do Brasil, a pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética da UNICAMP, sob protocolo CAAE 0098.0.146.0000-06. Assim, todos os voluntários que participaram desta pesquisa foram devidamente informados quanto aos objetivos do estudo e assinaram um documento de consentimento livre e esclarecido (Anexo A).

3.2.1 Voluntários

Três grupos de indivíduos participaram deste estudo: grupo controle, grupo da terceira idade e grupo de indivíduos portadores de epilepsia do lobo temporal (ELT).

O grupo controle (grupo I) consistiu-se em 198 indivíduos brasileiros de 18 a 48 anos de idade, recrutados entre estudantes de graduação, pós-graduação e funcionários da UNICAMP. O grupo da terceira idade (grupo II) foi recrutado entre estudantes da Universidade da Terceira Idade de São João da Boa Vista, SP e foi composto por 14 indivíduos do sexo feminino com idade acima de 60 anos. O grupo dos portadores de epilepsia (grupo III) consistiu-se em 19 portadores de epilepsia do lobo temporal (ELT), com idades entre 15 e 50 anos, diagnosticadas por pesquisadores da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP com base em histórico e características clínicas, EEG e MRI. Todos os 19 portadores (ELT) haviam previamente sido submetidos à intervenção cirúrgica para tratamento de epilepsia do lobo temporal. No momento da aplicação do teste, os pacientes estavam sob tratamento de drogas antiepilépticas, encontrando-se clinicamente estáveis. Todos os pacientes apresentavam inteligência normal, com QI superior a 78 na escala Wechsler (Wechsler, 1981).

Em uma entrevista inicial, todos os voluntários responderam a um questionário sobre condições de saúde (Anexo B), e com base nas respostas fornecidas, foram excluídos os

indivíduos que apresentavam: rinite, adenóide, sinusite, asma; alergias associadas a substâncias odoríferas, gravidez, fase de amamentação, cirurgia no nariz, exposição diária a ambientes com odores; administração nasal de medicamentos; entre outras condições de impacto conhecido sobre o olfato humano.

Os testes sensoriais foram realizados em ambiente confortável, climatizado e com adequada renovação de ar. Os testes foram aplicados através de entrevista individual, conduzida pela própria pesquisadora.

3.2.2 Desenvolvimento do teste de discriminação de odores

3.2.2.1 Seleção dos voláteis odoríferos

Inicialmente 24 compostos odoríferos puros (P.A.) foram selecionados de forma a atender aos seguintes requisitos: i) alguns compostos deveriam estimular preferencialmente o sistema olfatório, como o álcool fenil etílico (Doty et al., 1978); ii) alguns compostos deveriam estimular fortemente o sistema trigeminal, como o n-butanol (Doty et al., 1978); iii) a qualidade do aroma dos voláteis selecionados deveria estar homogeneamente distribuída entre as seguintes categorias de odor: frutal, doce, grama verde, cítrico e floral; devendo-se também incluir uma categoria a parte, composta por aromas desagradáveis (Dade et al., 2002) e, v) as amostras deveriam apresentar intensidade moderada de aroma, não se mostrando nem muito forte de forma a distorcer a qualidade do aroma e/ou promover excessiva pungência, e nem muito fraca, de forma a dificultar a percepção dos indivíduos.

Assim, seguindo-se os procedimentos sugeridos por Dade et al., (2002) e dados da literatura científica sobre a qualidade de aroma de voláteis odoríferos (Amoore, 1969), dezenas

de compostos odoríferos puros, pertencentes ao laboratório de análise sensorial da Faculdade de Engenharia de Alimentos (FEA) da UNICAMP foram avaliados por dois pesquisadores habituados em avaliação sensorial olfativa e, para cada categoria de odor, foram definidos quatro voláteis odoríferos, totalizando-se uma bateria de teste contendo 24 diferentes odores. Em cada categoria de odor, um aroma alvo foi selecionado para ser comparado com os demais odores da mesma categoria, aumentando-se assim, a eficiência do teste em identificar indivíduos com função olfatório reduzida (Dade et al., 2002). Escolheu-se como odor alvo, o composto que apresentou maior similaridade de odor com os demais. A Tabela 3.1 identifica as categorias odoríferas, os compostos selecionados, seus odores característicos, bem como o odor alvo de cada categoria do teste olfatório desenvolvido. Com exceção dos odores 2,4 dimetilbenzaldeído e valenceno, todos os demais odores apresentavam pureza cromatográfica variando em 98 e 99%. Estes dois últimos apresentam respectivamente 90% e 70% de pureza.

3.2.2.2 Formulação dos estímulos odoríferos

Em testes olfatórios, os compostos odoríferos podem ser diluídos em água, óleo mineral, ftalato de dietila ou propilenoglicol (Amoore, 1976, Hudry et al., 2003, Martinez et al., 1993, Doty 2006, Kaneda et al., 2000 e Doty et al., 2006), Na presente pesquisa, escolheu-se o propilenoglicol como veículo de diluição e apresentação dos estímulos odoríferos, pois, além de ser inodoro e atóxico, este solvente é o agente de diluição mais indicado em estudos psicofísicos (Doty et al., 1986).

Assim, 24 amostras-testes foram desenvolvidas, diluindo-se cada composto listado na Tabela 3.1, pertencentes ao banco de compostos odoríferos da FEA-Unicamp, em propilenoglicol. Inicialmente uma solução-padrão foi desenvolvida para cada composto, a partir da qual, diferentes diluições foram realizadas, até obter-se, para cada composto, uma solução

apresentando intensidade de aroma próxima a 5 (moderada) em uma escala híbrida de 9 cm ancorada com os seguintes termos: 0=muito fraco, 4,5=moderado, 9=muito forte. Nesta etapa da pesquisa, a intensidade do aroma de cada solução foi avaliada por dois pesquisadores do presente estudo habituados em realizar avaliações de aromas e fragrâncias.

Para a apresentação dos estímulos odoríferos, optou-se por utilizar frascos de vidro de 100 mL, de cor âmbar, com diâmetro de abertura de 3,5 cm e providos com tampa tipo rosca de plástico (Figura 3.1). Esta é uma das formas mais adequadas de apresentação de amostras em testes de detecção e discriminação de odores, dado que o *headspace* formado no frasco garante a padronização da concentração e intensidade dos estímulos oferecidos durante todo o teste. Assim, 20 mL de cada uma das 24 soluções desenvolvidas foram alocados nos citados frascos.

Tabela 3.1: Compostos odoríferos selecionados para compor o teste de avaliação da capacidade de indivíduos em discriminar odores.

Categoria odorífera	Composto*	Qualidade do odor**
Doce	Vanilina ⁴	Baunilha*
	2,4 Dimetilbenzaldeído ³	Amêndoa*
	Cinamato de etila ⁷ <i>Trans</i> -crotonato de etila ³	Canela** Caramelo*
Verde	Hexanal ³	Grama**
	<i>Cis</i> -3-Hexen-1-ol ³	Verde**
	Valenceno ² <i>Trans</i> -2-hexenal ⁷	Verde* Verde*
Frutal	Isovalerato de etila ⁷	Maça Verde*
	γ -Nonalactona ⁷	Coco**
	Acetato de isoamila ⁷ Butirato de etila ⁷	Banana** Abacaxi*
Cítrico	1-(S)-3-Careno ³	Limão**
	Aldeído caprílico/Octanal ⁴	Cítrico*
	Acetato de terpenila ¹ Óxido de limoneno ⁶	Cítrico* Limão*
Floral	(S)-(-)-β-Citronelol ³	Rosa*
	2-Feniletanol ⁶	Rosa*
	2-Hidroxiacetofenona ³ Mirceno ³	Floral* Bálsamo**
Desagradável	Ácido butírico ³	Queijo**
	n-Butanol ⁵	Solvente*
	Ácido isovalérico ³ Sulfeto de metila ⁶	Suor* Cebola, Repolho, Podre*

Em negrito estão identificados os odores-alvo de cada categoria odorífera.

¹ Alcoquímica Ltda (Piracicaba-SP, CEP: 13400-385), ² Acros Organics (Belo Horizonte-MG, CEP:31255-150),

³ Aldrich (São Paulo-SP, CEP:04795-100), ⁴ Fluka (São Paulo-SP, CEP:04795-100), ⁵ Sigma (São Paulo-SP, CEP:04795-100), ⁶ Sigma-Aldrich (São Paulo-SP, CEP:04795-100), ⁷ Flavor Tec (Pindorama – SP, CEP: 15830-000).

**Classificação de odor segundo dados da literatura científica: * (Burdock, 2002); * (Acree & Arn, 2004).



Figura 3.1: Frasco utilizado para apresentação dos estímulos odoríferos aos indivíduos.

Uma vez que as amostras-testes deveriam apresentar intensidade moderada e diferentes níveis de pungência, um teste sensorial foi conduzido para assegurar que essas condições encontravam-se presentes nas amostras. Participaram desse teste 52 voluntários do grupo controle (26 homens e 26 mulheres), com idade média de $24,27 \pm 4,38$ anos, sendo a média de idade das mulheres igual a $24,38 \pm 5,25$ anos e a dos homens de $24,15 \pm 3,40$ anos.

Cada amostra-teste foi avaliada pelos 52 voluntários quanto a: i) intensidade do odor e, ii) grau de pungência (irritabilidade). Para tanto foram utilizadas escalas híbridas de 9 cm, ancoradas com os termos 0= muito fraco, 4,5=moderado, 9= muito forte (intensidade) e 0=não pungente, 4,5=moderado, 9=muito pungente (pungência). Cada indivíduo avaliou as 24 amostras em três sessões distintas, seqüenciais, contendo 8 amostras/sessão. A ordem de apresentação das amostras foi aleatorizada entre os indivíduos.

Em cada avaliação, os frascos foram abertos pelos próprios indivíduos, mantidos próximos ao nariz para a avaliação sensorial (Figura 3.2) e posteriormente tampados para que um novo equilíbrio do aroma no *headspace* do recipiente fosse alcançado. Cada indivíduo teve o tempo que achou necessário para completar a avaliação de cada amostra, mas o intervalo entre

uma amostra e a seguinte foi fixo em 30s (Lawless et al., 1991; Jehl et al., 1994; Hudry et al., 2003). Após a avaliação de cada sessão (8 amostras), os indivíduos tiveram 5 minutos de intervalo antes de iniciar a próxima sessão.



Figura 3.2: Voluntária realizando o teste de discriminação de odores

Os resultados foram analisados por ANOVA (Fontes de Variação: indivíduos e amostras) e testes de média Dunnet ($p=5\%$), comparando-se a intensidade do odor da amostra de Cinamato de Etila com as demais. Este volátil foi escolhido como referência por ter apresentado intensidade moderada ($5,0 \pm 2,37$) de odor. ANOVA (Fontes de Variação: indivíduos e amostras) e testes de comparação de média Tukey ($p=5\%$) foram realizados para verificar possíveis diferenças entre as amostras com relação à pungência. Finalmente, o efeito do sexo, sobre a percepção de intensidade e pungência das amostras foi também avaliado através de ANOVA.

3.2.3 Desempenho e validação do teste de discriminação de odores

Como forma de avaliar o desempenho e validar o teste de discriminação de odores desenvolvido nesta pesquisa, o mesmo foi aplicado em três diferentes grupos de indivíduos, apresentando prováveis diferenças em suas funções olfatórias. Foram eles: grupo controle, com função olfatória normal (grupo I), grupo da terceira idade (grupo II) e grupo de portadores de epilepsia (grupo III), os dois últimos com função olfatória supostamente reduzida (Schiffman & Pasternak, 1979; Zatorre & Jones-Gotman, 1991; Martinez et al., 1993; Kobal et al., 2000; Dade et al., 2002).

Na seqüência, avaliou-se a capacidade do teste de discriminação de odores desenvolvido na presente pesquisa em: i) segmentar os diferentes grupos, ii) produzir resultados comparáveis aos gerados por outros testes olfatórios de discriminação de odores, como os desenvolvidos por Dade et al., (2002) e Hudry et al., (2003) e, iii) identificar o efeito “sexo” sobre a capacidade olfatória de indivíduos normais.

3.2.3.1 Teste olfatório

O teste de discriminação de odores desenvolvido na presente pesquisa consistiu-se em uma bateria de 36 testes de comparação pareada, onde, em cada categoria de odor (Tabela 3.1), a amostra alvo foi comparada com todas as demais amostras da mesma categoria (amostras diferentes), e as amostras da mesma categoria também foram comparadas consigo próprias (amostras iguais). Todas as amostras foram apresentadas aos indivíduos de forma codificada com números aleatórios de três dígitos. Dezoito (18) pares foram formados por compostos odoríferos idênticos, e os demais 18 por compostos odoríferos diferentes. Os testes foram separados em 4 sessões (9 testes por sessão), com a ordem de apresentação dos testes e amostras aleatorizada entre os julgadores, não ocorrendo a apresentação sequencial de testes

de uma mesma categoria de odor (Tabela 3.1). Os indivíduos avaliaram cada par de amostras respondendo se elas eram iguais ou diferentes entre si. Uma resposta foi sempre solicitada, mesmo que o indivíduo não soubesse identificar com certeza se dentro do par de amostras, os estímulos eram iguais ou diferentes.

O tempo para completar a avaliação de cada par de amostras foi deixado livre para cada indivíduo, sendo que era permitido ao indivíduo cheirar as amostras quantas vezes fossem necessárias; porém, um intervalo de 30 segundos entre as apresentações de dois testes consecutivos (Lawless et al., 1991; Jehl et al., 1994; Hudry et al., 2003) e de 2 minutos entre cada sessão de teste foi rigidamente monitorado pelo pesquisador.

Um total de 79 indivíduos realizou o teste de forma bi-rinal, sendo 46 do grupo I (19 homens e 27 mulheres) com idade média de $23,6 \pm 4,5$ anos e 14 do grupo II com idade média de $70,44 \pm 5,0$ anos. Por sua vez, 69 indivíduos realizaram o teste de forma mono-rinal, sendo 50 do grupo I (25 homens e 25 mulheres) com idade média de $23,70 \pm 5,40$ anos e 19 do grupo III com idade média de $40 \pm 10,80$ anos. Foi realizada a aplicação de teste mono-rinal em portadores de epilepsia ($n=19$) e em alguns indivíduos do grupo controle ($n=50$) para que fosse possível avaliar as observações de Zatorre & Jones-Gotman (1990) e Zatorre & Jones-Gotman (1991) de que a capacidade de discriminação de odores da narina direita de indivíduos do grupo controle é superior à da narina esquerda e também para verificar se portadores de epilepsia apresentam diferenças na capacidade de discriminação de odores entre a narina direita e esquerda.

Na aplicação do teste de discriminação de odores de forma mono-rinal, uma narina era tampada com fita Microfoam 3M e o indivíduo inalava o odor com a narina livre. Para cada

indivíduo, metade dos estímulos (18) foi apresentada à narina direita enquanto a esquerda manteve-se bloqueada, sendo 9 pares de estímulos iguais e 9 pares de estímulos diferentes. A outra metade dos estímulos (18) foi apresentada à narina esquerda, mantendo-se a narina direita bloqueada. A ordem de apresentação dos odores foi aleatorizada entre os indivíduos e as narinas eram trocadas a cada 6 pares de amostras apresentadas.

3.2.3.2 Análise dos resultados

Os resultados do teste de discriminação de odores foram analisados utilizando-se a teoria *signal-detection* (Banks, 1970; Lockart & Murdock, 1970) conforme cálculos descritos por Corwin, (1989). Desta forma, para cada indivíduo, quatro parâmetros foram gerados: 1) taxa de acertos (**HR**), 2) taxa de alarmes falsos (**FR**), 3) poder discriminativo (**d'L**) e, 4) vício de resposta (**C_L**). Os cálculos destes parâmetros encontram-se apresentados abaixo:

$$\mathbf{HR} = (\text{Hits} + 0,5)/(\mathbf{N}_1 + 1)$$

$$\mathbf{FR} = (\text{alarme falso} + 0,5)/(\mathbf{N}_2 + 1)$$

$$\mathbf{d'L} = \text{Ln}\{[\text{HR}(1-\text{FR})]/[(1-\text{HR})\text{FR}]\}$$

$$\mathbf{C_L} = 0,5[\text{Ln}\{[(1-\text{FR})(1-\text{HR})]/[(\text{HR})(\text{FR})]\}]$$

Entende-se por “Hit” a correta detecção do estímulo (odor) quando ele é de fato apresentado ao indivíduo; e entende-se por alarme falso quando um estímulo não é apresentado ao indivíduo e este responde que detecta o estímulo (Goldstein,1989). Assim, no presente estudo, considerou-se “Hit” quando dois odores idênticos foram apresentados e declarados pelo indivíduo como sendo iguais, e como alarme falso quando dois odores diferentes foram apresentados e declarados pelo indivíduo como sendo iguais. O poder discriminativo é a capacidade do indivíduo em discriminar as amostras e o vício de resposta reflete a estratégia do participante em responder

o que está disposto, ou seja, fornecer respostas deliberadamente falsas (Abdi, 2009; Da Villa, 2004).

No cálculo descrito acima, N1 e N2 representam o número de testes iguais e diferentes, respectivamente e Ln significa logaritmo natural. As diferenças de desempenho entre os grupos, sexo e narina foram avaliadas através do teste t-student.

3.2.4 Acuidade Olfatória

Adicionalmente, a acuidade olfatória de 50 indivíduos do grupo controle (grupo I) com idade média igual a $25,08 \pm 4,52$ anos e dos portadores de epilepsia (grupo II) foi avaliada de forma mono-rinal. Assim, o limiar de detecção de cada indivíduo (threshold) para álcool fenil etílico (PEA) foi determinado, utilizando-se o procedimento “*single staircase*” descrito por Doty et al., (1995). O teste também foi aplicado de forma bi-rinal em 25 indivíduos do grupo controle com idade média de $22,44 \pm 2,87$ anos e nos indivíduos da terceira idade.

Para a determinação do limiar de detecção dos indivíduos, álcool fenil etílico P.A. foi diluído em propilenoglicol, a concentrações variando em escala logarítmica entre 10^{-7} a 10^{-1} (v/v). Uma série de sete soluções foi preparada contendo as seguintes concentrações de PEA: 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} , 10^{-2} e 10^{-1} (v/v). As soluções foram colocadas em frascos de vidro transparentes de 100 mL, fechados com tampa plástica de abertura próxima a 2,5 cm (Figura 3.1). Todas as amostras foram codificadas com número de três dígitos.

O teste iniciou-se com a apresentação de dois frascos ao indivíduo: um contendo PEA na menor concentração, e outro contendo propilenoglicol puro. O indivíduo era informado que um dos frascos continha uma substância odorífera e o outro não, sendo instruído a cheirar os

dois frascos de forma mono-rinal e identificar qual frasco continha a substância odorífera. Para cada nível de concentração, o indivíduo realizava cinco repetições desse procedimento. Se uma ou mais respostas incorretas eram dadas pelo indivíduo nas cinco repetições, a concentração imediatamente superior na série “*staircase*” era similarmente testada. A concentração da substância odorífera era aumentada em escala logarítmica até ocorrer a detecção correta em cinco repetições consecutivas da concentração apresentada.

Quando o indivíduo fornecia respostas corretas nas cinco repetições de um dado nível de concentração, a “*staircase*” era invertida; movendo-se para cima e para baixo em acréscimos ou decréscimos logarítmicos de 1,0, dependendo do desempenho do indivíduo nos dois testes de concentrações subjacentes. A média geométrica dos primeiros quatro pontos da “*staircase*” onde a inversão iniciou-se, foi utilizada como a medida referente ao limiar de detecção do indivíduo. A ordem de apresentação das amostras com e sem estímulo foi balanceada em cada “degrau” da “*staircase*”. As diferenças de acuidade olfatória entre os grupos controle e portadores de epilepsia, assim como entre os grupos controle e terceira idade foram avaliadas através do teste não-paramétrico de Wilcoxon-Mann-Whitney.

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.3.1 Intensidade e pungência dos estímulos odoríferos

A Tabela 3.2 apresenta, para cada um dos 24 estímulos odoríferos que compõem o teste de discriminação de odores, o nome do composto, a diluição testada e as médias de intensidade e pungência de cada estímulo, segundo a percepção dos 52 voluntários que participaram do teste.

Segundo Smith et al., (1993), Doty et al., (1994) e Savic et al., (1997), em testes de discriminação de odores, todos os estímulos odoríferos devem apresentar-se na mesma intensidade, a qual deve ser moderada, ou seja, situar-se próxima a 5 em uma escala de 9 cm. Dos 24 estímulos inicialmente formulados para o teste de discriminação de odores, 16 atenderam ao requisito quanto à intensidade moderada, ou seja, não diferiram significativamente a $p \leq 0,05$ do composto Cinamato de etila que apresentou intensidade igual a $5,0 \pm 2,37$, considerada por Smith et al., (1993), Doty et al., (1994) e Savic et al., (1997) a intensidade ideal para estímulos que compõe testes de discriminação de odores. Essas amostras foram: Aldeído caprílico/Octanal, 2-Hidroxiacetofenona, Isovalerato de etila, n-Butanol, (S)-(-)- β -Citronelol, γ -Nonalactona, Mirceno, Ácido butírico, Cinamato de etila, Ácido isovalérico, 2,4 Dimetilbenzaldeído, 2-Feniletanol, *Trans*-crotonoato de etila, Vanilina, Valenceno e *Cis*-3-Hexen-1-ol (Tabela 3.2)

Por sua vez, os compostos Butirato de etila, Óxido de limoneno, *Trans* 2-hexenal, Hexanal, 1-(S)-3-Careno, Sulfeto de metila, Acetato de isoamila e Acetato de terpenila diferiram significativamente, a $p \leq 0,05$, da intensidade moderada do Cinamato de etila. Assim, uma nova concentração foi elaborada para estas oito amostras e o teste refeito. Como é possível visualizar na Tabela 3.2, as novas diluições dos citados compostos produziram estímulos odoríferos de intensidade moderada, que não diferiram significativamente ($p \leq 0,05$) do Cinamato de etila.

Quanto à pungência, a Tabela 3.2 mostra que os 24 estímulos odoríferos, incluíam odores de maior, menor e moderada pungência. Os odores que apresentavam as maiores pungências estimulavam preferencialmente o sistema trigeminal e aqueles que apresentavam menores pungências estimulavam preferencialmente o sistema olfatório (Doty et al., 1978; Doty et al., 1984). Os estímulos mostrando maiores pungências foram: Óxido de limoneno, Butirato de

etila, 1-(S)-3-Careno, 2-Hidroxiacetofenona, γ -Nonalactona, Hexanal e Acetato de terpenila. Já a amostra Vanilina foi a que apresentou a menor pungência, sendo seguida pelas amostras *Cis*-3-Hexen-1-ol e Cinamato de etila. As demais amostras apresentaram pungência em grau moderado ou menor, sendo elas: Aldeído caprílico/Octanal, 2,4 Dimetilbenzaldeído, *Trans*-crotonoato de etila, (S)-(-)- β -Citronelol, Mirceno, *Trans*-2-hexenal, Valenceno, Ácido isovalérico, Acetato de isoamila, 2-Feniletanol, Sulfeto de metila, Isovalerato de etila e n-Butanol.

Tabela 3.2: Média dos valores de intensidade e pungência de cada amostra e respectivos desvios padrão.

Amostras	Diluição Testada	Intensidade¹	Pungência¹
Aldeído caprílico/Octanal	20 μ L/mL	6,0 \pm 1,95 ^{ns}	4,5 \pm 2,34 ^{abcde}
Hexanal	7 μ L/mL	6,0 \pm 1,86 ^{ns}	5,0 \pm 2,32 ^{abcd}
Óxido de limoneno	7 μ L/mL	6,0 \pm 1,68 ^{ns}	5,9 \pm 1,94 ^a
Butirato de etila	3 μ L/mL	5,95 \pm 0,92 ^{ns}	5,9 \pm 1,94 ^a
2-Hidroxiacetofenona	0,2 μ L/mL	5,9 \pm 2,12 ^{ns}	5,3 \pm 2,58 ^{ab}
Isovalerato de etila	1 μ L/mL	5,9 \pm 1,98 ^{ns}	3,4 \pm 2,70 ^{def}
<i>Trans</i> -2-hexenal	1,4 μ L/mL	5,8 \pm 1,44 ^{ns}	3,8 \pm 2,20 ^{bcdef}
n-Butanol	20 μ L/mL	5,5 \pm 2,21 ^{ns}	3,3 \pm 2,14 ^{ef}
(S)-(-)- β -Citronelol	10 μ L/mL	5,5 \pm 1,96 ^{ns}	4,0 \pm 2,57 ^{bcdef}
γ -Nonalactona	10 μ L/mL	5,5 \pm 1,89 ^{ns}	5,1 \pm 2,36 ^{abc}
1-(S)-3-Careno	15 μ L/mL	5,5 \pm 1,78 ^{ns}	5,3 \pm 2,29 ^{ab}
Acetato de terpenila	15 μ L/mL	5,2 \pm 2,17 ^{ns}	4,7 \pm 2,31 ^{abcde}
Mirceno	0,5 μ L/mL	5,2 \pm 2,12 ^{ns}	3,9 \pm 2,32 ^{bcdef}
Ácido butírico	10 μ L/mL	5,1 \pm 2,27 ^{ns}	4,0 \pm 2,48 ^{bcdef}
Acetato de isoamila	2,4 μ L/mL	5,1 \pm 1,56 ^{ns}	3,5 \pm 2,20 ^{cdef}
Cinamato de etila	20 μ L/mL	5,0 \pm 2,37 ^{ns}	3,2 \pm 2,26 ^{efg}
Ácido isovalérico	5 μ L/mL	4,9 \pm 2,84 ^{ns}	3,7 \pm 2,23 ^{bdcef}
2,4 Dimetilbenzaldeído	2 μ L/mL	4,9 \pm 2,32 ^{ns}	4,3 \pm 2,90 ^{abcdef}
2-Feniletanol	40 μ L/mL	4,8 \pm 2,27 ^{ns}	3,5 \pm 2,43 ^{cdef}
<i>Trans</i> -crotonoato de etila	0,2 μ L/mL	4,8 \pm 2,24 ^{ns}	4,0 \pm 2,40 ^{bcdef}
Vanilina	20 μ L/mL	4,7 \pm 2,31 ^{ns}	1,7 \pm 2,00 ^g
Valenceno	20 μ L/mL	4,7 \pm 2,22 ^{ns}	3,8 \pm 2,28 ^{bcdef}
<i>Cis</i> -3-Hexen-1-ol	2 μ L/mL	4,3 \pm 2,17 ^{ns}	2,8 \pm 2,08 ^{fg}
Sulfeto de metila	0,18 μ L/mL	4,3 \pm 1,75 ^{ns}	3,4 \pm 2,63 ^{def}
Média		5,28 \pm 2,10	4,08 \pm 1,0

¹ Em uma mesma coluna, médias acompanhadas pela abreviatura "ns" não diferem da amostra Cinamato de Etila a $p \leq 0,05$.

² Em uma mesma coluna, médias com letras em comum, não diferem entre si a $p \leq 0,05$.

Os resultados fornecidos pela ANOVA (F.V. amostra, provador e sexo) mostraram que sexo foi um efeito significativo ($p \leq 5\%$) para os atributos intensidade e pungência. A Tabela 3.3 mostra que, as mulheres, na média, relataram os odores como sendo mais intensos e pungentes do que fizeram os homens ($p \leq 5\%$). Esse feito foi também relatado por Doty et al., (1984) no desenvolvimento e validação do teste de identificação de odores UPSIT.

Tabela 3.3: Valores médios de intensidade e pungência dos 24 estímulos odoríferos do teste de discriminação de odores, segmentados por sexo ($n_1 = 26$ homens, $n_2 = 26$ mulheres).

	Intensidade ¹	Pungência ²
Homens	5,3 ± 2,23 ^b	3,7 ± 2,54 ^b
Mulheres	5,9 ± 2,15 ^a	4,5 ± 2,55 ^a

Em uma mesma coluna, médias com letras em comum não diferem entre si a $p \leq 0,05$.

¹ 0= muito fraco, 4,5= moderado, 9= muito forte.

² 0= não pungente, 4,5= moderado, 9= muito pungente.

3.3.2 Desempenho e validação do teste de discriminação de odores

3.3.2.1 População Controle vs. Terceira Idade

Conforme pode ser observado na Tabela 3.4, o teste de discriminação de odores desenvolvido na presente pesquisa promoveu a segmentação entre o grupo da terceira idade e o grupo controle ($p \leq 0,05$). Como esperado, o desempenho do grupo da terceira idade foi inferior ao grupo controle, mostrando menor taxa de acertos (HR) ($p \leq 0,05$), menor poder discriminativo (d'_L) ($p \leq 0,05$) e diferente vício de resposta (C_L) ($p \leq 0,05$) comparativamente ao grupo controle.

Tabela 3.4: Média dos parâmetros taxa de acertos (HR), taxa de falsos alarmes (FR), poder discriminativo (d'_L), vício de resposta (C_L) e respectivos desvios padrão para a população controle ($n_{\text{homens}}=19$; $n_{\text{mulheres}}=27$) e o grupo da terceira idade ($n_{\text{mulheres}}=14$).

	HR	FR	d'_L	C_L
Controle	0,8432 ^a ± 0,1009	0,2037 ^a ± 0,0833	3,3720 ^a ± 0,9772	-0,2250 ^a ± 0,5637
3ª Idade	0,6692 ^b ± 0,1561	0,2444 ^a ± 0,1029	2,0294 ^b ± 0,8559	0,2069 ^b ± 0,5816

Em uma mesma coluna, médias com letras em comum, não diferem entre si a $p \leq 0,05$.

Os resultados observados no presente estudo foram também reportados por Hummel et al., (1997) e Kaneda et al., (2000) que, de forma similar, observaram uma diminuição da capacidade de discriminação de odores com o aumento da idade dos indivíduos. Esses resultados constroem validação para o teste de discriminação de odores desenvolvido na presente pesquisa, para a avaliação da função olfatória de indivíduos brasileiros.

Por sua vez, o limiar de detecção médio (v/v) da população controle (n=25) para o álcool fenil etílico (PEA) foi de $8,02 \times 10^{-6}$, não diferindo significativamente ($p \leq 0,05$) daquele encontrado para os indivíduos da terceira idade, que foi de $25,778 \times 10^{-6}$. Os grandes desvios padrão associados aos valores médios mencionados (Tabela 3.5) representam a variação usualmente associada aos limiares de detecção, que é bastante reconhecida na literatura científica, e reflete diferenças de acuidade entre os participantes (Stevens et al., 1988; Doty & Laing, 2003). No presente estudo, essa variação parece ser maior entre indivíduos da terceira idade, o que é coerente com a possibilidade de haver nesse grupo, já alguns indivíduos com razoável perda de sensibilidade a odores. Entretanto, na media, os dois grupos não diferiram entre si ($p \leq 0,05$) com relação à acuidade para detectar o álcool fenil etílico (PEA).

Tabela 3.5: Limiares de detecção médios e respectivos desvios padrão da população controle ($n_{\text{homens}}=10$; $n_{\text{mulheres}}=15$) e do grupo da terceira idade ($n_{\text{mulheres}}=14$).

Controle	$8,02E-06^a \pm 19,60E-06$
3ª Idade	$25,778E-06^a \pm 54,00E-06$

Medias com letras em comum, não diferem entre si a $p \leq 0,05$.

De um modo geral, os resultados obtidos no presente estudo assemelham-se ao reportado por Hummel et al., (1998) que também não observou alterações no valor do limiar de detecção ao álcool fenil etílico em função do aumento da idade do indivíduo.

No presente estudo, esses resultados nos permitem concluir que a diminuição da capacidade de discriminação de odores observada nos indivíduos da terceira idade (Tabela 3.4) não é majoritariamente decorrente da diminuição da acuidade olfatória desses indivíduos. Isso levanta a hipótese de que a redução da capacidade de discriminar odores em indivíduos da terceira idade poderia estar mais associada à degeneração de outras estruturas neurológicas que afetam a habilidade dos indivíduos em armazenar e relembrar os odores, à semelhança do que ocorre em portadores de epilepsia (Hudry et al., 2003).

3.3.2.2 População Controle: Homens vs. Mulheres

A Tabela 3.6 apresenta a taxa de acertos (HR), taxa de falsos alarmes (FR), poder discriminativo (d'_L) e vício de resposta (C_L) referentes a homens ($n=19$) e mulheres (27) da população controle que realizou o teste de discriminação de odores de forma bi-rinal.

Tabela 3.6: Taxa de acertos (HR), taxa de falsos alarmes (FR), poder discriminativo (d'_L), vício de resposta (C_L) e respectivos desvios padrão da população controle ($n_{\text{homens}}=19$; $n_{\text{mulheres}}=27$).

	HR	FR	d'_L	C_L
Homens	0,8518 ^a ± 0,0929	0,2479 ^a ± 0,0646	3,1027 ^a ± 0,8639	-0,4106 ^a ± 0,4784
Mulheres	0,8372 ^a ± 0,1075	0,1725 ^b ± 0,0817	3,5615 ^a ± 1,0226	-0,0945 ^a ± 0,5905

Em uma mesma coluna, médias com letras em comum, não diferem entre si a $p \leq 0,05$.

Conforme pode ser visualizado na Tabela 3.6, homens e mulheres não diferiram entre si ($p \leq 0,05$) com relação à taxa de acertos (HR), poder discriminativo (d'_L) e vício de resposta (C_L). Entretanto, os homens apresentaram taxa de falsos alarmes (FR) significativamente superior ($p \leq 0,05$) às mulheres, indicando que os homens reportaram diferenças entre os estímulos apresentados, de uma forma mais liberal que as mulheres, reportando perceber diferenças, onde de fato, os estímulos eram iguais. Esses resultados também foram observados por Hudry et al., (2003), no qual os homens também apresentaram maiores valores de taxa de

falsos alarmes (FR) que as mulheres ($p \leq 0,05$). No entanto, nos estudos de Hudry et al., (2003), as mulheres apresentaram maior poder discriminativo que os homens; enquanto na presente pesquisa, essa diferença não se mostrou significativa a $p \leq 0,05$, embora os valores $d'L$ das mulheres tenha sido superior ao dos homens.

Resultados muito similares podem ser observados nas Tabelas 3.7 e 3.8 quando o mesmo teste foi aplicado à população controle ($n=50$) de forma mono-rinal, ou seja, as narinas direita e esquerda analisadas independentemente.

Tabela 3.7: Valores médios da taxa de acertos (HR), taxa de falsos alarmes (FR), poder discriminativo ($d'L$), vício de resposta (C_L) e respectivos desvios padrão da narina direita da população controle ($n_{homens}=25$; $n_{mulheres}=25$).

	HR	FR	$d'L$	CL
Homem	$0,8220^a \pm 0,1339$	$0,2820^a \pm 0,1435$	$2,8989^a \pm 1,2404$	$-0,3631^a \pm 0,7014$
Mulher	$0,8140^a \pm 0,1411$	$0,2340^a \pm 0,1179$	$3,1070^a \pm 1,0904$	$-0,2001^a \pm 0,7375$

Em uma mesma coluna, médias com letras em comum, não diferem entre si a $p \leq 0,05$.

Tabela 3.8: Valores médios da taxa de acertos (HR), taxa de falsos alarmes (FR), poder discriminativo ($d'L$), vício de resposta (C_L) e respectivos desvios padrão da narina esquerda da população controle ($n_{homens}=25$; $n_{mulheres}=25$).

	HR	FR	$d'L$	CL
Homem	$0,8340^a \pm 1,2138$	$0,3453^a \pm 0,1577$	$2,5677^a \pm 0,9398$	$-0,5918^a \pm 0,6915$
Mulher	$0,8100^a \pm 0,1291$	$0,2180^b \pm 0,1180$	$3,1597^a \pm 1,1395$	$-0,1365^b \pm 0,6960$

Em uma mesma coluna, médias com letras em comum, não diferem entre si a $p \leq 0,05$.

A Tabela 3.8 mostra uma vez mais que o parâmetro vício de resposta, o qual avalia o critério de decisão que o indivíduo adotou quando estava incerto se os odores eram iguais ou diferentes, foi diferente entre homens e mulheres ($p \leq 0,05$). De forma similar ao que aconteceu quando o grupo controle avaliou os 24 estímulos odoríferos de forma bi-rinal (Tabela 3.6), a Tabela 3.8 mostra que ao avaliarem os estímulos com a narina esquerda, as mulheres

utilizaram um critério de decisão neutra (próximo a zero) enquanto os homens apresentaram um claro vício de resposta, tendendo a reportar diferenças entre os odores apresentados, quando os mesmos eram iguais. A mesma tendência pode ser observada quando o grupo controle avaliou os odores com a narina direita, porém neste caso, a diferença entre homens e mulheres não foi significativa a $p \leq 0,05$.

3.3.2.3 População Controle: Narina Direita vs. Narina Esquerda

A Tabela 3.9 mostra que não houve diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre o desempenho dos indivíduos do grupo controle ($n = 50$ indivíduos), quando os mesmos utilizaram de forma independente, as narinas esquerda e direita para avaliar os odores. Não houve diferença significativa ($p \leq 0,05$) para nenhum dos parâmetros analisados, quais sejam: taxa de acertos (HR), taxa de falsos alarmes (FR), poder discriminativo (d'_{L}) e vício de resposta (C_L).

Embora estudos realizados por Zatorre & Jones-Gotman (1990) e Zatorre & Jones-Gotman (1991) reportem que a capacidade de discriminação de odores através da narina direita, em indivíduos normais, é superior à da narina esquerda, os resultados obtidos no presente estudo são similares aos observados por Savic et al., (1997) e Rupp et al., (2005) que não observaram diferença significativa ($p \leq 0,05$) de desempenho entre indivíduos normais, em função da narina, direita ou esquerda, utilizada para avaliar os odores.

Tabela 3.9: Valores médios da taxa de acertos (HR), taxa de falsos alarmes (FR), poder discriminativo (d'_{L}), vício de resposta (C_L) e respectivos desvios padrão das narinas esquerda e direita da população controle ($n_{\text{homens}}=25$; $n_{\text{mulheres}}=25$).

	HR	FR	d'_{L}	C_L
Direita	0,8180 ^a ± 0,1362	0,2580 ^a ± 0,1322	3,0029 ^a ± 1,1606	-0,2816 ^a ± 0,7171
Esquerda	0,8220 ^a ± 0,1521	0,2815 ^a ± 0,1512	2,8637 ^a ± 1,0761	-0,3641 ^a ± 0,7241

Em uma mesma coluna, médias com letras em comum, não diferem entre si a $p \leq 0,05$.

3.3.2.4 População Controle vs. Portadores de Epilepsia

Finalmente, a Figura 3.3 apresenta para as narinas direita (Figura 3A) e esquerda (Figura 3B) a taxa de acertos (HR), taxa de falsos alarmes (FR), poder discriminativo (d'_L) e vício de resposta (C_L) referentes à população controle (n=50) e aos portadores de epilepsia (n=19) que participaram do presente estudo. A Figura 3C mostra os mesmos parâmetros, reportados por Hudry et al. (2003).

Conforme pode ser observado nas Figuras 3A e 3B, os portadores de epilepsia que participaram da presente pesquisa, apresentaram taxa de acertos (HR) e poder discriminativo (d'_L) significativamente inferiores ($p \leq 0,05$) à população normal. Esses resultados são semelhantes aos obtidos por Hudry et al., (2003) (Figura 3C), que sugeriram que devido ao fato da habilidade de discriminação olfatória incluir a habilidade do indivíduo em armazenar e lembrar os odores, a epilepsia de lobo temporal pode alterar os processos de codificação olfatória e/ou memória de curto termo do indivíduo. Essa ocorrência dificulta ao portador de epilepsia, lembrar a qualidade do odor do último estímulo apresentado e decidir se a mesma era igual ou diferente do novo estímulo. Ainda segundo Hudry et al., (2003), isso reduz o poder discriminativo do portador de epilepsia nesse tipo de teste, ainda que sua sensibilidade para perceber odores (thresholds absolutos) seja comparável à de indivíduos normais. O fato do teste desenvolvido na presente pesquisa ter sido capaz de detectar essa deficiência em portadores de epilepsia constrói validade para sua utilização em diagnósticos associados a essa população.

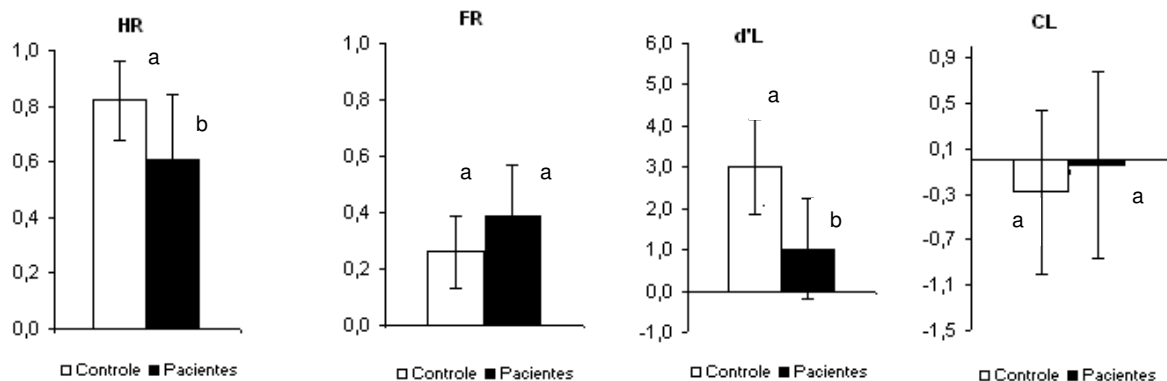
Por outro lado, não se observou diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre o grupo controle e os portadores de epilepsia com relação à taxa de alarmes falsos (FR). Já para o vício de resposta (C_L), este foi significativamente maior entre os portadores de epilepsia ($p \leq 0,05$)

quando o teste foi realizado com a narina esquerda. Verifica-se, entretanto (Figura 3.3), que os portadores apresentaram valores C_L muito próximos a zero, ou seja, eles adotaram um critério mais neutro de resposta do que aquele verificado dentro do grupo controle. Essa ocorrência também foi observada quando os indivíduos utilizaram a narina direita, mas neste caso a diferença não foi significativa a $p \leq 0,05$. No estudo conduzido por Hudry et al., (2003) os pacientes portadores de epilepsia apresentaram valores de vício de resposta superiores ao grupo controle, quando os valores médios obtidos das narinas esquerda e direita foram comparados.

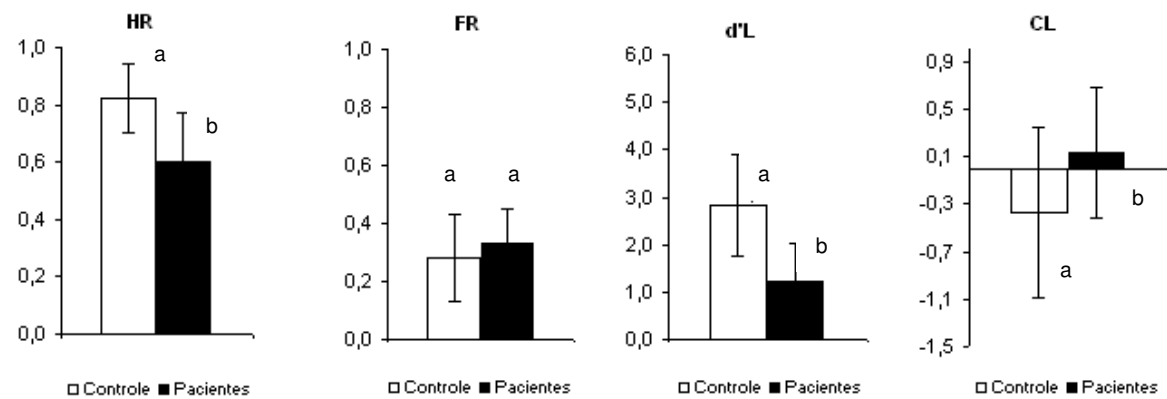
Por sua vez, a Tabela 3.10, mostra que o limiar de detecção médio (v/v) da população controle (n=50) foi de $3,72 \times 10^{-6}$ para a narina esquerda e de $3,85 \times 10^{-6}$ para a narina direita. Valores muito similares foram obtidos junto aos portadores de epilepsia, quais sejam: $5,13 \times 10^{-6}$ para a narina esquerda e $5,84 \times 10^{-6}$ para a narina direita.

Testes estatísticos revelaram que os valores do limiar de detecção não diferiram significativamente ($p < 0,05$) entre os grupos (controle e portadores de epilepsia) e entre as narinas, excluindo a possibilidade de perda olfatória primária dos portadores de epilepsia. Esses resultados são similares aos reportados por Kohler et al., (2001), que reportaram para o grupo controle (n=25), limiares de detecção para o PEA igual a $5,24 \times 10^{-6}$ para a narina direita e $3,16 \times 10^{-6}$ para a narina esquerda e dão força à proposição de que a habilidade de discriminação olfatória inclui a habilidade de armazenar e relembrar os odores e, por esse motivo, a epilepsia de lobo temporal pode alterar os processos de codificação olfatória e/ou memória de curto termo do indivíduo.

(A)



(B)



(C)

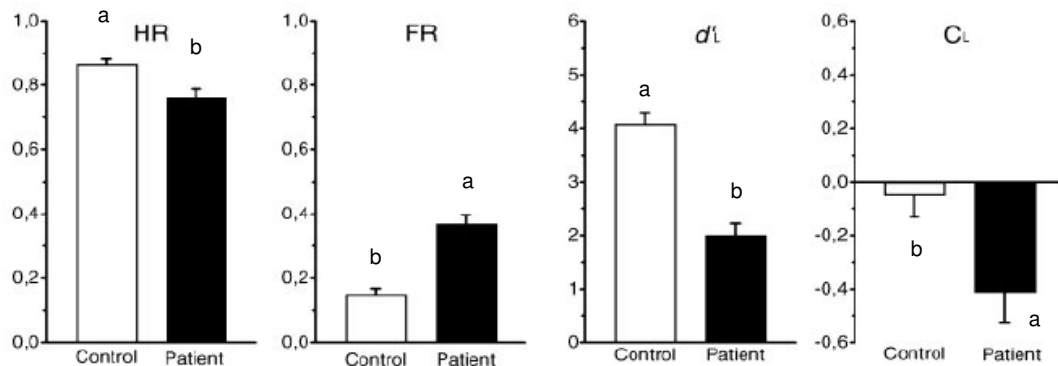


Figura 3.3: Taxas de acertos (HR), falsos alarmes (FR), poder discriminativo (d'L) e vício de resposta (CL) para grupo controle, narina direita (A) e esquerda (B), e pacientes portadores de epilepsia obtidos na presente pesquisa e nos estudos de Hudry et al., (2003) (C). (Em cada histograma, barras com letras em comum, indicam médias que não diferem entre si a $p \leq 0,05$).

Tabela 3.10: Valores médios do limiar de detecção e respectivos desvios padrão para a narina direita e esquerda da população controle (n=50) e portadores de epilepsia (n=19).

	Narina Esquerda	Narina Direita
Controle	3,72E-06 ^a ± 8,87E-06	3,85E-06 ^a ± 5,9E-06
Epilepsia	5,13E-06 ^a ± 7,75E-06	5,84E-06 ^a ± 9,74E-06

Em uma mesma coluna, médias com letras em comum, não diferem entre si a $p \leq 0,05$.

3.4 CONCLUSÃO

O fato do teste de discriminação de odores desenvolvido na presente pesquisa ter permitido a segmentação entre grupos controle, da terceira idade e de portadores de epilepsia, constrói validade para o mesmo. Isso recomenda que o teste seja encaminhado para validações subseqüentes em um número maior de indivíduos, e em diferentes situações de uso, como aquelas encontradas em diferentes clínicas médicas do país. Isso permitirá que se construa uma validação definitiva para o teste.

Por outro lado, os resultados do presente corroboram a proposição de outros autores de que a diminuição da capacidade de discriminação de odores observada nos indivíduos da terceira idade e nos portadores de epilepsia não decorre necessariamente da diminuição da acuidade desses indivíduos para a percepção de odores, mas sim, à uma degeneração de outras estruturas neurológicas que afetam a habilidade dos indivíduos em armazenar e relembrar os odores.

3.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS

ABDI, H. Signal detection theory (SDT). In MC GAW, B.; PETERSON, P.L.; BAKER, E. **Encyclopedia of Education**, Elsevier, New York, p. 1-10, 2009.

ACREE, T. E.; ARN, H. **Gas chromatography-olfactometry (GCO) of natural products**. New York State Agricultural Experiment Station. Cornell (EUA): Cornell University. 2004. Disponível em: <<http://www.flavornet.org/>>. Acesso em: 12 set. 2006.

AMOORE, J.E. A Plan to Identify Most of the Primary Odor's In PFAFFMANN, C. **Olfaction and Taste III**, Rockefeller University Press, New York, p.158-171, 1969.

ANDRADE-VALENÇA, L.P.A.; VALENÇA, M.M.; VELASCO, T.R.; LEITE, J.P. Epilepsia do lobo temporal mesial associada à esclerose hipocampal. **Journal of Epilepsy and Clinical Neurophysiology**, v. 12, n.1, p.31-36, 2006.

BABB, T.L.; LIEB, J.P.; BROWN, W.J.; PRETORIUS, J.; CRANDALL, P.H. Distribution of pyramidal cell density and hyperexcitability in the epileptic human hippocampal formation. **Epilepsia**, v.25, n.6, p.721-728, 1984.

BANKS, W.P. Signal detection theory and human memory. **Psychological Bulletin**, v.74, p.81-99, 1970.

BRAND, G.; MILLOT, J. Sex differences in human olfaction: between evidence and enigma. **The Quarterly Journal of Experimental Psychology**, v.54B, n.3, p.259-270, 2001.

BROMLEY, S.M. Smell & taste disorders. In: DAMBRO, M.R. **Griffith's 5-Minute Clinical Consult**. Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, 2004, p.1019-1026.

BURDOCK, G.A. **Fenaroli's handbook of flavor ingredients**. Boca Raton: CRC Press, 1831 p., 2002.

CARROL, B.; RICHARDSON, J.Y.; THOMPSON, P. Olfactory information processing and temporal lobe epilepsy. **Brain-and-cognition**, v.22, n.2, p.230-243, 1993.

CERF-DUCASTEL, B., MURPHY, C. fMRI brain activation in response to odors is reduced in primary olfactory areas of elderly subjects. **Brain Research**, v.986, p.39-53, 2003.

CHOUDHURY E.S.; MOBERG, P.; DOTY, R.L.; Influences of age and sex on microencapsulated odor memory test. **Chemical Senses**, v. 28, p.799-805, 2003.

CORWIN, J. Olfactory identification in hemodialysis: acute and chronic effects on discrimination and response bias. **Neuropsychologia**, v.27, p.513-522, 1989.

CROY, I.; BUSCHHUTER, D.; SEO, H.; NEGÓIAS, S.; HUMMEL, T. Individual significance of olfaction: development of a questionnaire. **Eur Arch Otorhinolaryngol**, v.267, p.67-71, 2010.

DADE, L.A.; ZATORRE, R.J.; JONES-GOTMAN, M. Olfactory learning: convergent findings from lesion and brain imaging studies in humans. **Brain**, v. 125, p. 86-101, 2002.

DA VILLA, O.L.S. Modelo de resposta aleatorizada para variáveis quantitativas: modelo de Greenberg, **Rev. Mat. Estat.**, v.22, n.3, p.47-56, 2004.

DEEMS, D.A.; DOTY, R.L.; SETTLE, R.G.; MOORE-GILLON, V.; SHAMAN, P.; MESTER, A.F.; KIMMELMAN, C.P.; BRIGHTMAN, V.J.; SNOW JR, J.B. Smell and taste disorders, a study of 750 patients from the University of Pennsylvania Smell and Taste center. **Archives of Otolaryngology and Head Neck Surgery**, v.117, p.519-528, 1991.

DOTY, R.L.; BRUGGER, W.E.; JURIS, P.C.; ORNDORFF, M.A.; SNYDER, P.J.; LOWRY, L.D. Intranasal trigeminal stimulation from odorous volatiles: psychometric responses from anosmic and normal humans. **Physiology & Behavior**, v.20, p.175-185, 1978.

DOTY, R.L.; SHAMAN, P.; DANN, M. Development of the University of Pennsylvania Smell Test: Standardized microencapsulated test for olfactory function. **Physiological and Behavior**, v.32, n.3, p.482-502, 1984.

DOTY, R.L.; NEWHOUSE, M.G.; AZZALINA, J.D. Internal consistence and short-term test-retest reliability of the University of Pennsylvania Smell Identification Test. **Chemical Senses**, v.10, p.297-300, 1985.

DOTY, R.L.; GREGOR, T.P.; SETTLE, R.G. Influence of intertrial interval and sniff-bottle volume on phenyl ethyl alcohol odor detection thresholds. **Chemical Senses**, v. 11, n. 2, p.259-264, 1986.

DOTY, R.L.; SMITH, R.; MCKEOWN, D.A.; RAJ, J. Tests of human olfactory function – principal components-analysis suggests that most measure a common source of variance. **Perception & Psychophysics**, v.56, n.6, p.701-707, 1994.

DOTY, R.L.; MCKEOWN, D.A.; LEE, W.W.; SHAMAN, P. A study of the test-retest reliability of ten olfactory tests. **Chemical Senses**, v.20, p.646-656, 1995.

DOTY, R.L.; LI, C.; MANNON, L.J.; YOUSEM, D.M. Olfactory dysfunction in multiple sclerosis. **New England Journal of Medicine**, v.336, p.1918-1919, 1997.

DOTY, R.L.; DEEMS D.A. Olfactory function and dysfunction. In: BAILEY, B.J.; PILLSBURY, H.C.; NEULANDES, S.D. **Head and Neck Surgery-Otolaryngology**. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, p.247-260, 2001.

DOTY, R.L.; LAING, D.G. Psychophysical measurement of human olfactory function, including odorant mixture assessment. In: DOTY, R.L. **Handbook of Olfaction and Gustation**. New York: Marcel Dekker, p.203-228, 2003.

DOTY, R.L. Clinical studies of olfaction. **Chemical Senses**, v.30, p.207-209, 2005.

DOTY, R.L. Olfactory dysfunction and its measurement in the clinic and workplace. **Int Arch Occup Environ Health**, v.79, p.268-282, 2006.

DOTY, R.L. Temporal lobe epilepsy and temporal lobe resection: influences on olfactory function. In: International Symposium in Olfaction and Taste. Abstracts... San Francisco, 2008.

ESKENAZI, B.; CAIN, W.; NOVELLY, R.A.; MATTSON, R. Odor perception in temporal lobe epilepsy patients with and without temporal lobectomy. **Neuropsychology**, v.24, p.553-562, 1986.

ENGEL J.J.; SHIELDS, W.D. Surgically remediable syndromes. In: ENGEL, J.J.; PEDDLEY, T.A. **Epilepsy: A comprehensive textbook**. Philadelphia: Lippincott-Raven, p.1687-1696, 1997.

FRASNELLI, J. HUMMEL, T. Olfactory dysfunction and daily life. **Eur Arch otorhinolaryngol**, v.262, p.231-235, 2005.

GOLDSTEIN, E.B. **Sensation and Perception**, 3rd ed. Belmont, CA: Wadsworth Publishing Company, 1989.

- GRANT, A.C. Interictal perceptual function in epilepsy. **Epilepsy & Behavior**, v.6, p.511-519, 2005.
- HUDRY, J.; PERRIN, F.; RYVLIN, P.; MANGUIERE, F.; ROYET, J.P. Olfactory short-term memory and related amygdala recordings in patients with temporal lobe epilepsy. **Brain**, v.126, n.8, p.1851-1863, 2003.
- HUMMEL, T.; SEKINGER, B.; WOLF, S. R."Sniffin' Sticks": Olfactory performance assessed by the combined testing of odor identification, odor discrimination and olfactory threshold. **Chemical Senses**, v.22, p.39-52, 1997.
- HUMMEL, T.; BARZ, S.; PAULI, E.; KOBAL, G. Chemosensory event-related potentials change with age. **Electroencephalography and Clinical Neurophysiology**, v.108, p.208-217, 1998.
- JEHL, C.; ROYET, J.P.; HOLLEY, A. A very short-term recognition memory for odors. **Perception & Psychophysics**, v.56, n. 6, p. 658-668, 1994.
- KANEDA, H.; MAESHIMA, K.; GOTO, N.; KOBAYAKAWA, T.; AYABE-KANAMURA, S.; SAITO, S. Decline in taste and odor discrimination abilities with age, and relationship between gustation and olfaction. **Chemical Senses**, v.25, p.331-337, 2000.
- KASPER, B.S.; STEFAN, H.; BUCHFELDER, M.; PAULUS, W. Temporal lobe microdysgenesis in epilepsy versus control brains. **J. Neuropathol Exp Neurol**, v.58, p.22-28, 1999.
- KOBAL, G.; KLIMEK, L.; WOLFENSBERGER, M.; GUDZIOL, H.; TEMMEL, A.; OWEN, C.M.; SEEBER, H.; PAULI, E.; HUMMEL, T. 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 Otorhinolaryngology**, v.257, p.205-211, 2000.
- KOBAL, G.; HUMMEL, T.; SEKINGER, B.; BARZ, S.; ROSCHER, S.; WOLF, S.R. "Sniffing Sticks": Screening of olfactory performance. **Rhinology**, 34 ,222-226, 1996.
- KOHLER, C.G.; MOBERG, P.J.; GUR, R.E.; O'CONNOR, M.J.; SPERLING, M.R.; DOTY, R.L. Olfactory dysfunction in schizophrenia and temporal lobe epilepsy. **Neuropsychiatry, Neuropsychology and Behavior Neurology**, v.14, n.2, p.83-88, 2001.
- KOVACS, T. Mechanisms of olfactory dysfunction in aging and neurodegenerative disorders. **Ageing Research Reviews**, v.3, p.215-232, 2004.
- LARSSON, M.; FARDE, L.; HUMMEL, T.; WITT, M.; ERIXON LINDROTH, N.; BACKMAN, L. Age-related loss of olfactory sensitivity: association to dopamine transporter binding in putamen. **Neuroscience**, v.161, p.422-426, 2009.
- LAWLESS, H.T.; GLATTER, S.; HOHN, C. Context-dependent changes in the perception of odor quality. **Chemical Senses**, v.16, n.4, p.349-360, 1991.
- LOCKHART R.S; MURDOCK, B.B. Memory and the theory of signal detection. **Psychological Bulletin**, v.74, p.100-109, 1970.

MARTINEZ, B.A.; CAIN, W.S.; WIJK, R.A.; SPENCER, D.D.; NOVELLY, R.A.; SASS, K.J. Olfactory functioning before and after temporal lobe resection for intractable seizures. *Neuropsychology*, v.7, n.3, p.351-363, 1993.

MATHERN, G.W.; BABB, T.L.; LEITE, J.P.; PRETORIUS, K.; YEOMAN, K.M.; KUHLMAN, P.A. The pathogenic and progressive features of chronic human hippocampal epilepsy. ***Epilepsy Research***, v.26, n.1, p.151-161, 1996.

MESHOLAM, R.I.; MOBERG, P.J.; MAHR, R.N.; DOTY, R.L. Olfaction in neurodegenerative disease. A meta-analysis of olfactory functioning in Alzheimer's and Parkinson's diseases. ***Archives of Neurology***, v.55, p.84-90, 1998.

MIN, L.L. Entrevista concedida a Drauzio Varella. Campinas: Unicamp/FCM, [2005]. Folheto.

MOBERG, P.J.; AGRIN, R.; GUR, R.E.; GUR, R.C.; TURETSKY, B.I.; DOTY, R.L. Olfactory dysfunction in schizophrenia: a qualitative and quantitative review. ***Neuropsychopharmacology***, v.21, p.325-340, 1999.

NORDIN, S.; BRAMERSON, A.; LIDEN, E.; BENDE, M. The Scandinavian odor-identification test: development, reliability, validity and normative data. ***Acta Oto-Laryngologica***, v.118, p.226-234, 1998.

PAROLA, S.; LIBERINI, P. Assessing olfaction in the Italian population: methodology and clinical application. ***Italian Journal of Neurological Sciences***, v. 20, p.287-296, 1999.

POTTER, H.; BUTTERS, N.M.; An assessment of olfactory deficits in patients with damage to prefrontal cortex. ***Neuropsychologia***, v.18, p.621-628, 1980.

RAWSON, N.E. Olfactory loss in aging. ***Sci. Aging knowledge Environ***, v.2006, n.5, p.6, 2006.

RUPP, C. I.; FLEISCHHACKER, W. W.; KEMMLER, G. Olfactory functions and volumetric measures of orbitofrontal and limbic regions in schizophrenia. ***Schizophrenia Research***, v.74, p. 149-161, 2005

SANDER, J.W.; SHORVON, S.D. Epidemiology of the epilepsies. ***Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*** v. 61, p.433-443, 1996.

SAVIC, I.; BOOKHEIMER, S.Y.; FRIED, I.; ENGEL, J. Olfactory bedside test. A simple approach to identify temporo-orbitofrontal dysfunction. ***Arch Neurol***, v.54, p.162-168, 1997.

SCHIFFMAN, S.; PASTERNAK, M. Decreased discrimination of food odors in the elderly. ***Journal of Gerontology***, v.34, n.1, p.73-79, 1979.

STEVENS, J.C.; CAIN, W.S.; BURKE, R.J. Variability of olfactory thresholds. ***Chemical Senses***, v.13, n.4, p. 643-653, 1988 1988.

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, 1993.

SMITH, R.; DOTY, R.L.; BURLINGAME, G.K.; MCKEOWN, D.A. Smell and taste function in the visually impaired. ***Perception & Psychophysics***, v. 54, p.649-655, 1993.

VICTOR, M.; ROPPER, A.H.; ADAMS, R.D. Olfactory sense. In: VICTOR, M; ADAMS, R. **Adams & Victor's Principles of Neurology**. New York: McGraw-Hill, 2001. p.238-243.

WANG, J.; ESLINGER, P.J.; SMITH, M.B.; YANG, Q.X. Functional magnetic resonance imaging study of human olfaction and normal aging. **Journal of Gerontology**, v.60A, n.4, p.510-514, 2005.

WESCHLER D. Weschler adult intelligence scale-revised. New York: Psychological Corporation, 1981.

WEST, S.E.; DOTY, R.L. Influence of epilepsy and temporal lobe resection on olfactory function. **Epilepsia**, v.36, n.6, p.531-542, 1995.

WYSOCKI, C.J.; GILBERT, A.N. The National Geographic Smell Survey: Effects of age are heterogenous. In: Murphy, C.; Cain, W.S.; Hegsted, D.M.. Nutrition and the chemical senses in aging: Recent advances and current research needs. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v.561, p.12-28, 1989.

ZATORRE, R.J.; JONES-GOTMAN, M. Right nostril advantage for discrimination of odors. **Perception and Psychophysics**, v.47, p.526-531, 1990.

ZATORRE, R.J.; JONES-GOTMAN, M. Human olfactory discrimination after unilateral frontal or temporal lobectomy. **Brain**, v.114, p.71-84, 1991.

Capítulo 4. ODOR IDENTIFICATION AND EMOTION RECOGNITION IN TEMPORAL LOBE EPILEPSY

ABSTRACT

The processing of olfaction and emotion are governed by common neural structures of the limbic system that are often damaged in the temporal lobe epilepsy (TLE). Since the primary projections of the olfactory system are ipsilateral, the olfactory assessment can probe lateralized deficits in the cerebral hemisphere, and are becoming a useful tool in the diagnostic of pre and post-surgical TLE patients. Thus, olfactory studies using validated and reliable methodologies are of interest of the scientific community researching TLE. Another limitation observed in TLE patients is their impairment regarding recognition of basic facial and prosody emotions, functions largely involved in the human social interactions. Even though these limitations bring important consequences in the quality of life of these patients, up to now there are few standardized neuropsychological tests worldwide used to assess emotion perception abilities in TLE patients. Thus, the goals of the present study were: i) to evaluate the odor identification capability and emotion recognition of TLE patients, using validated tests as the University of Pennsylvania Smell Identification Test (UPSIT) and the new computerized test of human emotion processing, entitled Comprehensive Affect Testing System (CATS) and, ii) to investigate the correlation between the olfactory and the emotion functions, since both are governed by similar neural structures. The tests were applied in a control group (n=15), a preoperative (n=12) and a postoperative (n=17) groups of TLE patients. An olfactory threshold test and an odor identification test were administered monorhinally in all groups. A two-alternative, forced-choice, ascending method was applied to determine detection threshold for amyl acetate and the odor identification capability of the subjects was tested using the UPSIT, a battery of 40 odorants familiar to the North Americans, which are encapsulate in “scratch and sniff” labels and

assembled in booklets. To evaluate facial and prosody emotion recognition, three subtests from CATS were used in the current study: affect naming, name emotional prosody and match emotional prosody to emotional face. The results showed that olfactory identification and emotion recognition are impaired in temporal lobe epilepsy patients ($p \leq 0.05$). In the odor identification evaluation, the pre and postoperative patients groups showed a greater impairment on the nostril ipsilateral to the surgery ($p \leq 0.05$). Normal threshold results were found, indicating that TLE does not affect the patients' odor sensitivity. For facial emotion recognition, the TLE patients showed deficits in negative expression, specifically fear ($F=5.00$, $p=0.0011$) and disgust ($F=3.10$, $p=0.050$). In the prosody tests, the patients presented impairment for fear ($F=18.28$, $p=0.000002$) and happiness emotion ($F=3.91$, $p=0.027$). In general, a strong correlation was found between performances across the facial and prosody emotion recognition for the postoperative group ($r=0.688$, $p=0.002$). However, although the patients presented impairment in odor identification and emotion recognition functions, no correlation was found between the data associated with both functions ($p \geq 0.05$).

Key Words: olfaction, odor identification test, emotion, facial emotion recognition, prosody emotion recognition, temporal lobe epilepsy

4.1 INTRODUCTION

Epilepsy is a disorder of the brain characterized by an enduring predisposition to generate seizures. It brings neurobiological, cognitive, psychological and social consequences to the patient (Fischer et al. 2005). Temporal lobe epilepsy (TLE) is the most common type of epilepsy, since the temporal lobe is the most epileptogenic of the cerebral lobes and the most difficult to treat pharmacologically (Engel & Shields, 1997; Cavazos & Cross, 2006; Machado et al., 2010).

Limbic system structures, such as the amygdala, hippocampus and entorhinal cortices are often involved in TLE (Engel, 1996; Kasper et al., 1999). Lesions in the limbic structures can impair functional connections, and might, therefore, directly impact social, perceptual and cognitive skills (Schilbach et al., 2007). Thus, TLE has been associated with impairment in the abilities mediated by a network of interconnected brain regions, including the structures of the limbic system. These abilities include olfaction and emotion, two important functions for the survival and quality of life of a human being and both are governed by similar neural substrates involving limbic system structures (West & Doty, 1995; Pitkanen et al., 2000; Kohler et al, 2001; Adolphs, 2002).

Studies have associated TLE with impairment of the olfactory function, especially with that of the patient's capability to recognize, identify and discriminate odors (Eskenazi et al., 1986; Carrol et al., 1993; West & Doty, 1995; Savic et al., 1997; Kohler et al., 2001; Hudry et al., 2003). Unlike other sensory systems, the olfactory system is unique in that, primary projections are largely ipsilateral, and therefore may provide a unique opportunity to probe for lateralized deficits in the hemispheric processing of sensory information (Royet & Plailly, 2004; Doty 2008). It has been observed that patients with TLE experience greater olfactory identification deficits in the nostril ipsilateral to the lesion (Eskenazi et al., 1986; Savic et al., 1997). Thus, olfactory assessment has been a useful tool in comprehensive pre and post-surgical evaluations of temporal lobe epilepsy.

There are a large number of studies about olfactory function in epilepsy patients, but several are contradictory. West & Doty (1995) reviewed the literature on epilepsy and olfactory function and commented that although the majority of the reports showed impaired performance

in epilepsy patients, most of them differed with respect to subject selection, the odorants employed in the tests and the methodologies used, leading to inconsistent findings amongst the studies. Parola & Liberini (1999) agree that among the obstacles in olfactory testing is the difficulty of providing adequate stimuli to the population to be evaluated, to design and standardize adequate sensory tests and to control cultural bias. Thus, for a better understanding of the olfactory function in temporal lobe epilepsy patients, a greater number of studies using validated and reliable methodologies, and odorants that minimize individual and cross-cultural effects, should be conducted.

Emotion is highly involved in human social interactions, facial expression and emotional prosody being the channels of communication most frequently used in human contact (Bonora et al., 2011). From facial expressions, the human being can recognize basic emotions with positive and negative values, such as: happiness, anger, sadness, fear, disgust and surprise (Ekman, 1992; Froming et al., 2006). On the other hand, emotional prosody, which is the expression of feelings using prosodic elements of speech, can be evaluated through the emotional state of the speaker's voice (Sauter et al. 2010).

Unfortunately, the recognition of basic emotion has been reported as impaired in temporal lobe epilepsy. Studies investigating facial emotion recognition in TLE patients, demonstrated that after anterior temporal lobectomy, the subjects showed impaired facial emotion recognition (Anderson et al., 2000; Adolphs et al., 2001). Meletti et al. (2003) demonstrated that chronic drug resistant epilepsy involving the medial temporal region is associated with deficits in emotion recognition even before surgery. Hlobil et al. (2008) studied the impairment of facial emotional recognition in mesial temporal lobe epilepsy associated with hippocampal sclerosis (MTLE-HS), and observed that fear recognition was impaired in early-

onset right MTL-HS patients as compared to other MTLE patients and control subjects. Meletti et al. (2009) investigated facial emotion recognition in patients with chronic temporal lobe epilepsy and concluded that emotion recognition deficits are common in individuals with mesial temporal lobe epilepsy and widespread across negative emotions.

So far, only a few studies have evaluated emotional prosody in TLE patients. Adolphs et al., (2001) analyzed patients after temporal lobectomy and Fowler et al., (2006) studied MTLE patients with asymmetric amygdala damage. In both studies, the epilepsy patients did not present impairment in emotional prosody recognition. However, Bonora et al., (2011), investigating facial expression and emotional prosody in MTLE patients, found deficits in the recognition of both facial and prosody emotions, with a strong correlation between performances across the two tasks.

There are few standardized neuropsychological measurements in common use to assess emotion perception abilities (Borod et al., 2000; Schaffer et al., 2009). In this context, the Comprehensive Affect Testing System (CATS) is a promising instrument that can be used by neuropsychologists to help guide treatment recommendations (Schaffer et al., 2009). It is an assessment battery designed to evaluate human emotion processing across three channels: facial affect, prosody and semantic content (Froming et al., 2006).

Rocca et al., (2009) and Martins et al., (2011) applied CATS to the evaluation of facial emotion recognition in schizophrenic patients, and their findings were consistent with prior studies that used other tools to evaluate emotional face recognition. However, to date, no studies were found in the scientific literature using CATS to evaluate emotion recognition in temporal lobe epilepsy.

Thus, the objective of the present study was to investigate the olfactory identification function, facial emotion recognition and prosody emotion recognition in preoperative and postoperative temporal lobe epilepsy patients, exploring the association between olfactory processing and emotion recognition, since both functions are governed by common neural structures.

4.2 METHOD

4.2.1 Subjects

Thirty patients were recruited from the Epilepsy Center at the University of California, San Francisco. Eighteen of these patients had undergone unilateral temporal lobe resection for the treatment of epilepsy (postoperative group), and 12 patients had intractable temporal lobe epilepsy and were considered to be candidates for epilepsy surgery (preoperative group). All patients had a diagnosis of unilateral TLE, classified as having a left or right-sided resection or focus, diagnosed by electroencephalography (EEG), magnetic resonance imaging (MRI) and clinical criteria. In the postoperative group, 9 patients had right temporal lobe resections and 9 had left temporal lobe resections. In the preoperative group, 6 patients had an epileptic focus on the right side and 6 on the left.

The patients, including the postoperative group, were treated with antiepileptic drugs (AEDS) and were clinically stable at the time of the olfactory and emotion testing. The patients were tested for their neuropsychological responses, showing normal intelligence, with Full-Scale Wechsler IQ ratings above 80. For some of the patients, detailed neuropsychological testing was not applied, but they were evaluated by a neurologist and were not classified as delayed. Most of the postoperative patients (88.88 %) were seizure free after surgery (16 were Engel class I

and 2 were Engel class IV) (Engel et al. 1993), with follow-up periods ranging between 3 months and 15 years (average=3.98 years \pm 4.39). A normal sense of smell was reported by each patient, and subjects with recent respiratory infection or any other condition that could affect olfactory functioning did not undergo testing. One postoperative patient with right temporal lobe resection was diagnosed as anosmic and was excluded from the experiment. Also, an inclusion/exclusion criterion was that all the participants had to be American and with adequate vision and hearing capabilities. Thus, the data from 17 postoperative patients who did not show significant differences for any individual characteristic important to the investigation, will be presented.

Additionally, 15 healthy control subjects (control group), with no history of chemosensory or cerebral disorders, took part in this study. An attempt was made to match the control group to the pre- and postoperative groups as closely as possible for gender, age and education. Means and standard deviations for each of the three groups were calculated for the variables of age and years of education, and one-way analyses of variance (ANOVA) were applied. The three groups did not differ according to age [$F(2,41)=2.95$, $p=0.07$], but they differed slightly for the education variable [$F(2,41)=9.43$, $p=0.0004$]. On average, the control group had approximately 3.5 additional years of education than the epilepsy patients (pre- and postoperative groups). Demographic information on all the subject groups is shown in Table 4.1.

The study was approved by the Committee on Human Research of UCSF and was carried out in accordance with the Declaration of Helsinki 1975. After transmitting a detail description of the study to the subjects, a written informed consent was obtained from each one. The subjects were free to discontinue the testing sessions at any time.

Table 4.1: Demographic data of the control, preoperative and postoperative groups.

Group	N	Age (range)	Gender (F/M)	Education (range)
Control	15	34.53±6.25 (26-45)	10/5	17.87±2.53 (12-20)
Preoperative	12 (6R/6L)	38.42±5.50 (26-46)	6/6	14.17±2.44 (12-20)
Postoperative	17 (8R/9L)	41.23±9.92 (23-58)	11/6	14.76±2.38 (12-20)

R=right , L=left , F=female, M=male

4.2.2 Procedure

4.2.2.1 Evaluation of olfactory function

An olfactory threshold test and an odor identification test were administered to all groups (control, preoperative and postoperative groups). In the present study, the tests were administered monorhinally, i.e., for each participant, the right and left nostrils were tested separately. In this evaluation, one nostril was blocked using a piece of Microfoam™ surgical tape (3M Company) while the subjects inhaled with the free nostril. The order of testing was counterbalanced across the nostrils. To prevent adaptation, an inter-trial interval of 30s was used (Lawless et al. 1991; Jehl et al. 1994; Hudry et al. 2003).

4.2.2.1.1 Odor threshold test

A two-alternative, forced-choice, ascending method was applied to determine the detection threshold for amyl acetate (Cain, 1989; Murphy et al. 1994; Nordin et al. 1999). The amyl acetate was prepared in mineral oil, in 10 successive dilution steps, each one-third the concentration of the preceding stimulus. The highest concentration in the amyl acetate threshold series was 1% in mineral oil (1.0×10^{-2} v/v), designated as dilution step 0. Since the lowest concentration resulted from the dilution of amyl acetate by successive factors of three, dilution step 9, the lowest concentration had a concentration of 5.0×10^{-7} v/v. The stimuli were

presented via squeezable cylindrical polyethylene bottles with flip top spout caps (size = 8oz, length = 165mm, width = 51mm) (Figure 4.1). In each trial, the subject sniffed consecutively from two bottles, one containing 60mL of mineral oil and the other 60mL of a solution of amyl acetate. The subject was then asked to choose the bottle that had the strongest odor. Testing began with the weakest concentration. When the subject chose incorrectly, the concentration was increased in the next trial. When the subject was correct, the same concentration was presented again in a series of five sequential correct choices. This concentration was considered as the estimate of threshold detection.



Figure 4.1: Squeezable plastic bottles used to detect odor threshold.

4.2.2.1.2 Odor identification test

The odor identification capability of the subjects was tested using the University of Pennsylvania Smell Identification Test (UPSIT) (Doty et al., 1984). This is a standardized battery of 40 odorants familiar to North Americans, which are encapsulated in “scratch and sniff” labels and assembled in booklets (Figure 4.2). The odors were: peanut, soap, paint thinner, motor oil, smoke, lemon, menthol, onion, licorice, wintergreen, orange, lilac, grape, gasoline, bubble gum, chocolate, mint, root beer, cherry, strawberry, fruit punch, rose, turpentine, pine, pizza,

watermelon, grass, natural gas, cinnamon, pineapple, coconut, dill pickle, cloves, banana, peach, lime, leather, gingerbread, cheddar cheese and cedar.

The test comprises four booklets that contain 10 odorants apiece, one odorant per page. The odors are released when the labels are scratched and there is a multiple-choice question with four alternative responses above each odorant strip. The subjects were instructed to use a pencil to scratch the label containing each microencapsulated odor, and then to choose one of the responses to indicate what the odor most smelled like. If the subjects were unsure, they were asked to guess. The experimenter was always present to answer any questions or clarify how to perform the task. The test was carried out in blocks of five, so the nostril was changed after every five odors. In all, 20 stimuli were presented to the left nostril and 20 to the right nostril. The test score consisted of the sum of the correctly identified odors by each nostril, and was expressed as a percentage.

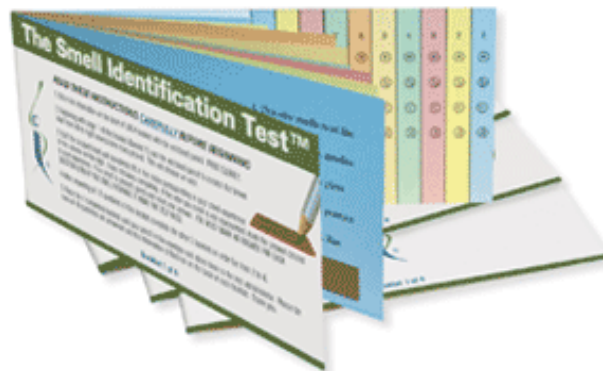


Figure 4.2: University of Pennsylvania Smell Identification Test (UPSIT).

4.2.2.2 Facial and prosody emotion assessment

To evaluate the subjects' abilities to perceive emotion, more specifically, facial and prosody emotions, it was used the Comprehensive Affect Testing System (CATS) (Froming et al.

2006), a validated and reliable computerized test of human emotion processing. To evaluate the individual ability to recognize facial emotions, CATS uses facial poses created by Ekman and Friesen (1976), while a male actor speaks in the prosodic subtests. The sets of facial affect expressions and emotional prosody are counterbalanced for serial positions and numbers of repetitions of each face/speak and affective state. Facial stimuli are of a uniform size, regardless of the number of stimuli presented on the screen.

To evaluate facial and prosody emotion recognition, three subtests from CATS were used in the current study: affect naming, name emotional prosody and match emotional prosody to emotional face.

In the affect naming test, pictures of facial expressions of seven emotions-happiness, sadness, anger, fear, surprise, disgust and neutral - were presented to the subjects. The task required the subject to match a facial expression with the appropriate verbal label. Sixteen stimuli were presented in randomized order and the subjects were asked to identify the expressed emotion from seven possible choices shown on the computer screen (2 stimuli for each emotion and 4 for neutral expressions).

In the name emotional prosody test, one sentence with a neutral meaning was read at a time by the actor, with a specific tone of voice. The task required the subject to indicate among five alternatives presented on the computer screen (happiness, sadness, anger, fear or neutral) which emotion the voice expressed. Twenty two stimuli were presented in randomized order (6 stimuli for sad, 6 for angry, 5 for fear and 5 for happy).

In the test involving matching emotional prosody to emotional face, five portraits were displayed with different emotions (happiness, sadness, anger, fear or neutral). Then a sentence

was read by the actor. The task was to identify which of the portraits exhibited the same affect as that expressed by the voice. Twenty two stimuli were presented in randomized order (6 stimuli for sad, 6 for angry, 5 for fear and 5 for happy).

4.2.2.3 Data analysis

In this study, the analysis of variance (ANOVA) was used to assess the olfactory performance of the control, preoperative and postoperative groups for each nostril (right and left) and Student's t test to evaluate the relation between the nostril and the side of the epileptogenic focus/lobectomy in preoperative and postoperative groups. To verify the performance amongst the three groups for emotional tests, the means of the percentage of correct responses obtained in each subtest from CATS were analyzed using ANOVA. For olfactory and emotional tests, the Tukey test was used for post hoc comparisons. The significance level for all calculations was $p \leq 0.05$. Pearson's correlations were calculated to assess relationships amongst the performance scores in the odor identification test (UPSIT), facial and prosody emotions.

4.3 RESULTS AND DISCUSSION

4.3.1 Olfactory function

The odor identification performance of each nostril of the preoperative, postoperative and control groups is shown in Figure 4.3. The performance was expressed as the percentage of correct answers, calculated independently for the left and right nostrils.

When the three groups were compared with respect to the left and right nostrils scores for UPSIT, they differed in the capacity to identify odors for each nostril (Left nostril: $F[2,41]=12.73$, $p=0.00005$; Right nostril: $F[2,41]=11.32$, $p=0.00012$). For both patient groups, the performance was significantly inferior to the control group ($p \leq 0.05$). For the left nostril, the

percentage of correct identification by the control group was $90.67 \pm 6.51\%$, but for the pre- and postoperative groups it was $78.33 \pm 9.85\%$ and $71.76 \pm 13.69\%$, respectively. For the right nostril, the control group scored $89.33 \pm 6.78\%$, the preoperative group $78.83 \pm 8.88\%$ and the postoperative group $71.18 \pm 14.31\%$. For both nostrils, there was no significant difference between the performance of the pre and postoperative groups ($p \geq 0.05$).

Carrol et al. (1993), Kohler et al. (2001) and Morrison et al. (2002) evaluated the ability of temporal lobe epilepsy patients to identify odors, and observed that the patients showed inferior performance as compared to healthy subjects. In Brazil, Korogui et al., (2006) and Natalicio et al., (2006) tested a new battery entitled "Odor Tablets" to assess the odor identification abilities of a control group, preoperative and postoperative temporal lobe epilepsy groups, and also found that both patient groups showed inferior performance as compared to the control group for both the right and left nostrils, and that there was no significant difference between the pre- and postoperative groups ($p \geq 0.05$).

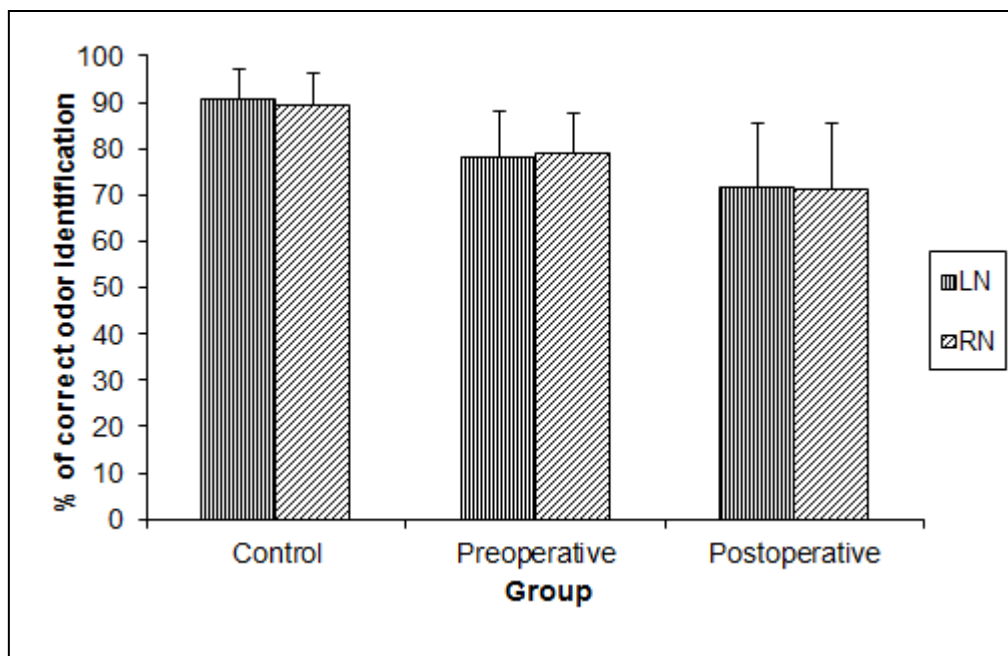


Figure 4.3: Percentage of correct odor identification (UPSIT) for each nostril of the control, preoperative and postoperative groups. LN= left nostril, RN = right nostril

Figure 4.4 shows that for the preoperative and postoperative patients, the percentage of correct odor identification for each nostril was related to the side of the epileptogenic focus. The term ipsilateral was used to specify that the odor was presented to the nostril located on the same side of the focus/lobectomy; whereas the term contralateral referred to presentation of the odor to the nostril opposite to the focus/lobectomy.

Comparing the ipsilateral and contralateral performance for both patient groups, the pre and postoperative groups suffered greater olfactory identification deficits in the nostril ipsilateral to the lesion ($p \leq 0.05$). For the preoperative group, the percentage of correct answers for ipsilateral performance was $75.83 \pm 9.49\%$, and for contralateral performance, $80.83 \pm 8.48\%$. For the postoperative group, ipsilateral and contralateral performance was $64.71 \pm 12.31\%$ and $78.24 \pm 11.98\%$, respectively. Eskenazi et al., (1986) and Savic et al., (1997) also observed that patients with TLE presented greater olfactory identification loss in the nostril ipsilateral to the lesion.

Figure 4.5 presents the detection threshold for amyl acetate obtained in the preoperative, postoperative and control groups, segmented by nostril. The threshold dilution steps ranged from 0 to 9, with higher dilution values indicating a more sensitive olfactory threshold. For each nostril, there was no significant difference between the three groups (Left nostril: $F[2,41]=1.00$, $p=0.3761$; Right nostril: $F[2,41]=0.32$, $p=0.7238$).

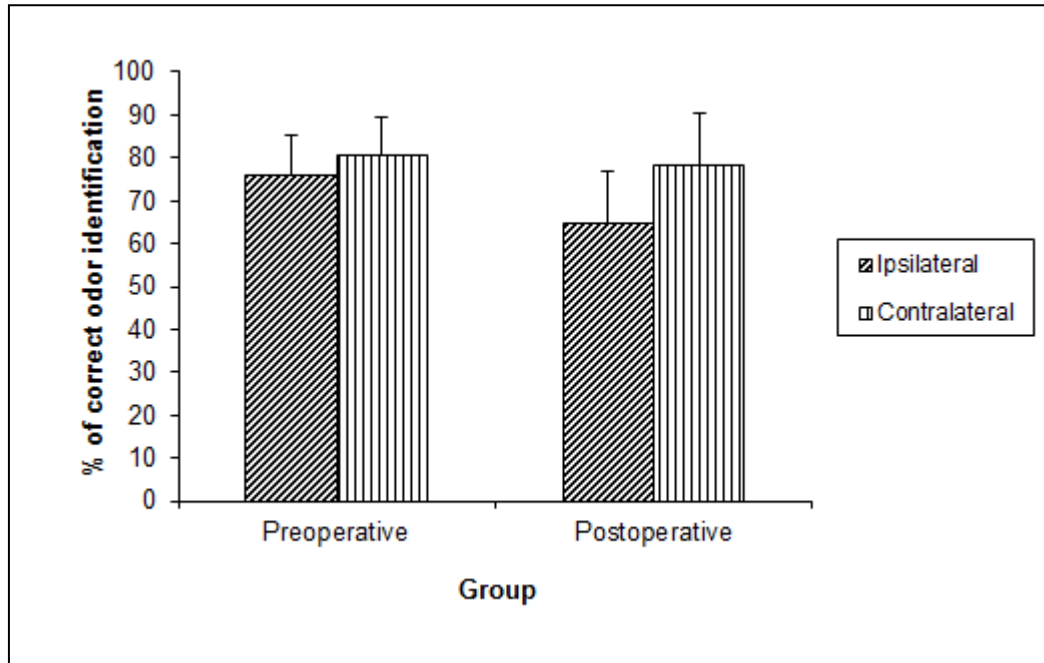


Figure 4.4: Effect of the ipsilateral and contralateral odor presentation on the percentage of odor identification by the preoperative and postoperative groups.

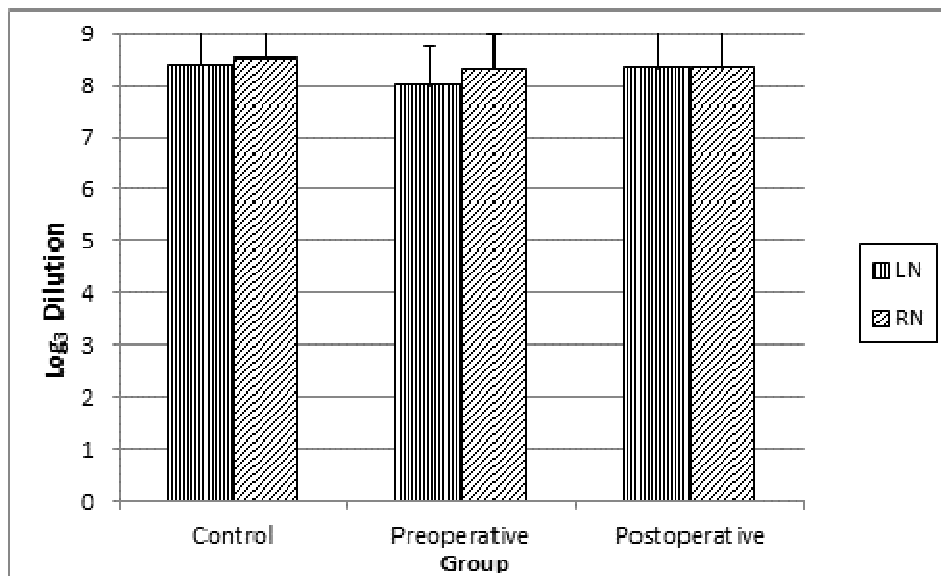


Figure 4.5: Threshold detection for amyl acetate for each nostril of the control, preoperative and postoperative groups, expressed as log₃ dilution from 1.0 x 10⁻² v/v (step 0). LN=left nostril, RN=right nostril.

The ipsilateral and contralateral threshold values shown by the preoperative and postoperative groups (Figure 4.6) did not indicate the existence of significant differences between the groups, the nostrils and the side of surgery/epileptogenic focus ($p \geq 0.05$). All the threshold results indicated that TLE did not affect the patients' odor sensitivity. Similar results were found by the present authors in a previous study carried out in Brazil (Korogui et al., 2006; Natalicio et al., 2006; Santos et al., 2007; Natalicio et al., 2007), and presented in chapters II and III of the current thesis, as well as by Kohler et al., (2001).

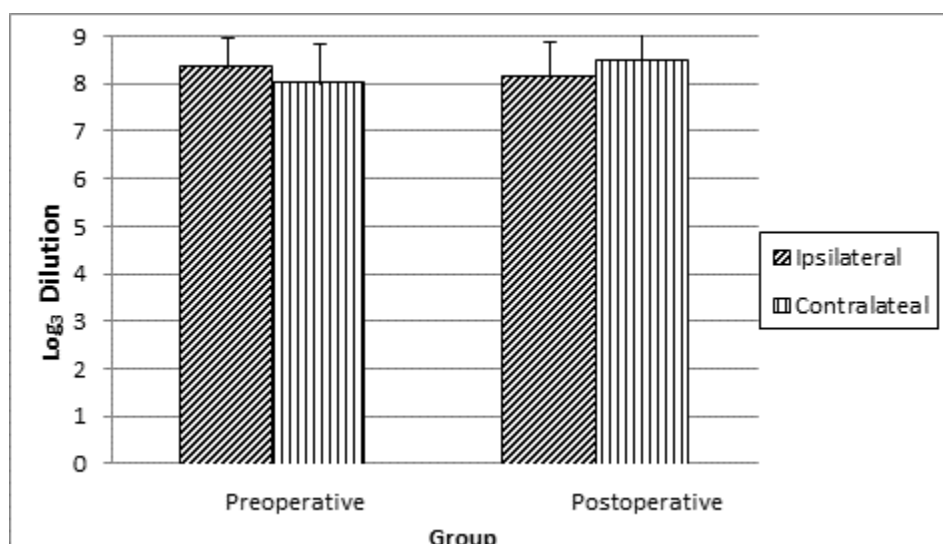


Figure 4.6: Detection threshold performance: Ipsilateral x contralateral interactions expressed as \log_3 dilution from 1.0×10^{-2} v/v (step 0) amyl acetate in mineral oil.

4.3.2 Emotion

Table 4.2 shows the general performance in the facial and prosody recognition tasks for the control and, the preoperative and postoperative groups.

Table 4.2: Means (% correct) and standard deviations obtained for the control and, the preoperative and postoperative groups in each subtest of CATS.

	Control group (n = 15)	Preoperative group (n = 12)	Postoperative group (n=17)
Affect naming	88.75 ^a ± 9.21	75.52 ^b ± 7.75	73.16 ^b ± 14.45
Name emotional prosody	87.90 ^a ± 8.70	66.66 ^b ± 16.60	62.03 ^b ± 22.10
Match emotional prosody to emotional face	81.51 ^a ± 13.36	61.00 ^b ± 12.63	54.30 ^b ± 17.20

Means in the same line, with the same letters indicate no significant difference between them at $p \leq 0.05$.

When the performance of the control, the preoperative and the postoperative groups in the CATS emotional recognition tasks were compared, it was observed that both patient groups differed from the control, with lower scores for affect naming ($F[2,41]=8.50$, $p=0.0008$), naming emotional prosody ($F[2,41]=10.01$, $p=0.0002$), and matching emotional prosody to emotional face ($F[2,41]=14.22$, $p=0.00002$). Thus, in the present study, the pre and postoperative patients were impaired with respect to the control subjects for facial and prosody emotion recognitions.

The findings of the present study for facial emotion recognition tasks corroborate the results observed by Anderson et al. (2000), Adolphs et al. (2001), Meletti et al. (2003), Reynders et al. (2005), Meletti et al. (2009) and Bonora et al. (2011). In all these studies, deficits in the recognition of the facial expressions of emotions were found in temporal lobe epilepsy patients.

Adolphs et al. (2001) evaluated the prosody emotion recognition in patients after temporal lobectomy, and Fowler et al. (2006) in patients with medial temporal lobe epilepsy with asymmetric amygdala damage, and no evidence of impairment in emotional prosody was observed in either study. In the study carried out by Fowler et al. (2006), only some individual participants with asymmetric amygdala damage showed deficit in prosody emotion recognition. However, the results found in the present study were similar to those obtained by Bonora et al.

(2011), in which temporal lobe epilepsy patients showed deficits in the recognition of prosody emotion.

The scores that both patient groups obtained in the task of naming emotional prosody and matching emotional prosody to emotional faces were lower than the scores they obtained in the affect naming test (Table 4.2). Bonora et al., (2011) also observed this performance in temporal lobe epilepsy patients, and suggested that the subjects found the facial emotion recognition task easier than the prosody recognition task.

Table 4.3 shows the performance of the three groups in recognizing each basic emotion associated with the visual and vocal stimuli.

Table 4.3: Means (% correct) and standard deviations obtained by the control (n=15), preoperative (n=12) and postoperative (n=17) groups for each basic CATS emotion subtest.

	Happy	Sad	Angry	Fear	Surprise	Disgust
<i>Affect naming</i>						
Control	100.00 ^a ±0.00	83.33 ^a ±30.86	90.00 ^a ±20.70	66.67 ^a ±30.86	90.00 ^a ±20.70	70.00 ^a ±31.62
Preoperative	100.00 ^a ±0.00	58.33 ^a ±35.89	66.67 ^a ±32.57	50.00 ^a ±21.32	83.33 ^a ±32.57	50.00 ^b ±30.15
Postoperative	100.00 ^a ±0.00	58.82 ^a ±40.45	70.59 ^a ±35.61	35.29 ^b ±29.39	91.18 ^a ±19.65	41.18 ^b ±36.38
<i>Emotional prosody</i>						
Control	82.67 ^a ±23.74	86.67 ^a ±12.91	98.89 ^a ±4.30	82.67 ^a ±23.74		
Preoperative	41.67 ^b ±38.57	72.22 ^a ±19.25	88.89 ^a ±20.52	61.67 ^b ±26.23		
Postoperative	36.27 ^b ±30.75	73.53 ^a ±26.39	82.35 ^a ±33.06	35.29 ^c ±20.31		
<i>Match emotional prosody to emotional face</i>						
Control	68.00 ^a ±43.29	81.11 ^a ±15.26	95.56 ^a ±9.89	80.00 ^a ±15.12		
Preoperative	40.00 ^b ±31.91	68.06 ^a ±27.94	80.56 ^a ±24.45	50.00 ^b ±21.74		
Postoperative	34.12 ^b ±30.63	62.75 ^a ±27.34	75.49 ^a ±29.53	36.47 ^b ±23.70		

Means in the same line, with the same letters, show no significant difference between them at $p \leq 0.05$.

For the emotional face recognition task, the preoperative and postoperative groups were impaired with respect to the control group in the recognition of fear ($F[2,41]=5.00$, $p=0.0011$) and disgust ($F[2,41]=3.10$, $p=0.050$). For the emotional prosody recognition and matching emotional prosody to emotional facial tasks, the preoperative and postoperative groups were impaired in relation to the control group with respect to the recognition of fear ($F[2,41]=18.28$, $p=0.000002$) and happiness ($F[2,41]=3.91$, $p=0.027$). For the affect naming test, there were no significant differences amongst the groups with respect to the emotions of happiness, sadness, anger and surprise ($p \geq 0.05$). For the emotional prosody and matching emotional prosody to emotional facial tests, no differences were found for the sad and angry emotions ($p \geq 0.05$).

The results of the present study are in accordance with the findings of Reynders et al., (2005) who observed that impaired recognition of facial emotion, particularly the perception of fear, is widespread among patients with epilepsy. The present findings are also in agreement with previous studies that reported the occurrence of impaired recognition for negative facial expressions both before (Meletti et al., 2003; Meletti et al., 2009; Bonora et al., 2011) and after lobectomy (Anderson et al., 2000; Adolphs et al., 2001). The impairment of negative facial emotions can be explained based on the fact that the amygdala, which is involved in the processing of fearful stimuli, plays an important role in facial emotion recognition (Adolphs, 2002).

Bonora et al., (2011) analyzed the prosody emotion recognition of medial temporal lobe epilepsy patients, and reported that the patients showed deficits as compared to subjects in the control group with respect to the recognition of fear, sadness, anger and disgust, but not in the recognition of happy voices. In the present study, the pre- and postoperative patients also

showed deficits in the recognition of fear in voices, but also presented impairment in the recognition of happy voices (Table 4.3).

4.3.3 Correlations between the emotion recognition and odor identification ability

When the percentages of correct facial and prosody emotion recognition were correlated with odor identification, for the control and TLE patient groups, no significant correlation was found between olfactory performance by either nostril and emotion recognition tasks ($p \geq 0.05$). Similarly, there was no correlation between facial and prosody emotion recognition for the control ($r=0.101$, $p=0.719$) and preoperative groups ($r=0.448$, $p=0.143$). However, a strong correlation between face and prosody emotion recognition was found in the postoperative group ($r=0.688$, $p=0.002$), specifically for the sad ($r=0.525$, $p=0.03$) and angry ($r=0.550$, $p=0.02$) emotions.

No studies were found in the literature correlating olfactory performance in temporal lobe epilepsy patients and emotion recognition in the face and prosody. Kohler et al., (2007) evaluated the association between facial emotion recognition and odor identification in schizophrenic patients and found a correlation with facial recognition and the right nostril UPSIT performance. They also observed that the relationship between the right nostril UPSIT performance and facial recognition emotion appeared to be primarily mediated by the recognition of sad faces.

4.4. CONCLUSION

The present study showed that patients with temporal lobe epilepsy, before and after surgery, are impaired in their olfactory identification function and emotion recognition, specifically for facial and prosody recognition, when compared with a group of healthy subjects.

Deficits in the olfactory function of TLE patients were found in both nostrils, and comparing the ipsilateral and contralateral performances, the pre and postoperative groups suffered greater olfactory identification deficits in the nostril ipsilateral to the lesion. Moreover, the normal threshold results indicated that TLE did not affect the patients' odor sensitivity. Thus, olfactory assessment has been a useful tool to provide information for lateralized deficits in temporal lobe epilepsy.

For facial emotion recognition, the TLE patients showed deficits in the negative expressions, but whereas the preoperative patients were only impaired for the emotion of disgust, the postoperative subjects were impaired for both fear and disgust. The evaluation of the prosody emotion recognition of the patients revealed that both patient groups presented deficits for the emotions of happiness and fear. In general, a strong correlation was found between facial and prosody emotion recognition. Sadness and anger were the emotions that showed correlation with the facial and prosody expressions.

No correlation was found between the olfactory and emotion recognition data, in spite of the fact that both olfactory processing and emotion recognition are governed by common neural structures, and that both functions are usually impaired in patients with temporal lobe epilepsy. One reason could be that the small sample size did not provide sufficient power to detect the correlation. Thus, further studies with a larger number of participants, comparing olfactory and emotion recognition would help to elucidate the association between both functions.

4.5 REFERENCES

ADOLPHS, R.; TRANEL, D.; DAMASIO, H. Emotion recognition from faces and prosody following temporal lobectomy. **Neuropsychology**, v.15, p.396-404, 2001.

ADOLPHS, R. Neural systems for recognizing emotion. **Current Opinion in Neurobiology**, v.12, p.169-177, 2002.

ANDERSON, A.K.; SPENCER, D.D.; FULLBRIGHT, R.K.; PHELPS, E.A. Contribution of the anteromedial temporal lobes to the evaluation of facial emotion. **Neuropsychology**, v.14, p.526-536, 2000.

BONORA, A.; BENUZZI, F.; MONTI, G.; MIRANDOLA, L.; PUGNAGHI, M.; NICHELLI, P.; MELETTI, S. **Epilepsy & Behavior**, v.20, p.648-654, 2011.

BOROD, J.C.; TABERT, M.H.; SANTOSCHI, C.; STRAUSS, E.H. Neuropsychological assessment of emotional processing in brain-damaged patients. In: BOROD, J.C (Ed). **The neuropsychology of emotion**, p.80-103, New York: Oxford University Press, 2000.

CAIN, W.S. Testing olfaction in a clinical setting. **Ear, Nose and Throat Journal**, v.68, p.316-328, 1989.

CARROL, B.; RICHARDSON, J.Y.; THOMPSON, P. Olfactory information processing and temporal lobe epilepsy. **Brain-and-cognition**, v.22, p.230-243, 1993.

CAVAZOS, J.F.; CROSS, D.J. The role of synaptic reorganization in mesial temporal lobe epilepsy. **Epilepsy & Behavior**, v.8, p.483-493, 2006.

DOTY, R.L.; SHAMAN, P.; DANN, M. Development of the University of Pennsylvania Smell Test: Standardized microencapsulated test for olfactory function. **Physiological and Behavior**, v.32, p.482-502, 1984.

DOTY, R.L. Temporal lobe epilepsy and temporal lobe resection: influences on olfactory function. In: International Symposium in Olfaction and Taste. **Abstracts...** San Francisco, 2008.

EKMAN, P., & FRIESEN, W. V. Pictures of facial affect. Palo Alto, CA: **Consulting Psychologist's Press**, 1976.

EKMAN, P. An argument for basic emotions. **Cognition & Emotion**, v.6, p.169-200, 1992.

ENGEL, J.J., VAN NESS, P.C., RASMUSSEN, T.B., OJEMAN, L.M. Outcome with respect to epileptic seizures. In: ENGEL, J.J. (ed.). **Surgical treatment of epilepsies**, 2nd ed., p. 609-621, New York: Raven Press, 1993.

ENGEL, J.J. Introduction to temporal lobe epilepsy, **Epilepsy Research**, v.26, p.141-150, 1996.

ENGEL, J.J.; SHIELDS, W.D. Surgically remediable syndromes. In: ENGEL, J.J.; PEDDLEY, T.A. (ed.). **Epilepsy: A comprehensive textbook**, p.1687-1696, Philadelphia: Lippincott-Raven; 1997.

ESKENAZI, B.; CAIN, W.; NOVELLY, R.A.; MATTSON, R. Odor perception in temporal lobe epilepsy patients with and without temporal lobectomy. **Neuropsychology**, v.24, p.553-562, 1986.

FISHER, R.S.; BOAS, W.E.; BLUME, W.; ELGER, C.; GENTON, P.; LEE, P.; ENGEL JR, J. Epileptic Seizures and Epilepsy: Definitions Proposed by the International League Against Epilepsy (ILAE) and the International Bureau for Epilepsy (IBE). **Epilepsia**, v.46, p.470-472, 2005.

FOWLER, H.L.; BAKER, G.A.; TIPPLES, J.; HARE, D.J.; KELLER, S.; CHADWICK, D.W.; YOUNG, A.W. Recognition of emotion with temporal lobe epilepsy and asymmetrical amygdala damage, **Epilepsy & Behavior**, v.9, p.164-172, 2006.

FROMING, K.B; LEVY, M.; SCHAFFER, S.G; EKMAN, P. The Comprehensive Affective Testing System. **Psychology Software Inc**, 2006.

HLOBIL, U.; RATHORE, C.; ALEXANDER, A.; SARMA, S.; RADHAKRISHNAN, K. Impaired facial emotion recognition in patients with mesial temporal lobe epilepsy associated with hippocampal sclerosis (MTLE-HS): Side and age at onset matters. **Epilepsy Research**, v.80, p.150-157, 2008.

HUDRY, J.; PERRIN, F.; RYVLIN, P.; MANGUIERE, F.; ROYET, J.P. Olfactory short-term memory and related amygdala recordings in patients with temporal lobe epilepsy. **Brain**, v.126, p.1851-1863, 2003.

JEHL, C.; ROYET, J.P.; HOLLEY, A. A very short-term recognition memory for odors. **Perception & Psychophysics**, v.56, p. 658-668, 1994.

KASPER, B.S.; STEFAN, H.; BUCHFELDER, M. Temporal lobe microdysgenesis in epilepsy versus control brains, **Journal of Neurophatology and Experimental Neurology**, v. 58, p. 22-28, 1999.

KOHLER, C.G.; MOBERG, P.J.; GUR, R.E.; O'CONNOR, M.J.; SPERLING, M.R.; DOTY, R.L. Olfactory dysfunction in schizophrenia and temporal lobe epilepsy. **Neuropsychiatry, Neuropsychology and Behavior Neurology**, v.14, p.83-88, 2001.

KOHLER, C.G.; BARRET, F.S.; GUR, R.C.; TURETSKY, B.I.; MOBERG, P.J. Association between facial emotion recognition and odor identification in schizophrenia. **Journal of Neuropsychiatry and Clinical Neuroscience**, v. 19, p.2007.

KOROGUI, C. Y. ; NATALICIO, M. A. ; SILVA, M. A. A. P. . Desenvolvimento e Validação de Teste de Identificação de Odores para Uso em Neurociência. In: XIV Congresso Interno de Iniciação Científica da UNICAMP, 14., 2006, Campinas. **Annuals...**Campinas: UNICAMP, 2006, p.271-271.

LAWLESS, H.T.; GLATTER, S.; HOHN, C. Context-dependent changes in the perception of odor quality. **Chemical Senses**, v.16, p.349-360, 1991.

MACHADO, L.V.; FRANK, J.E.; TOMAZ, C. Emotional declarative memory assessment of patients with mesial temporal lobe epilepsy and patients submitted to mesial temporal lobectomy. **Arq. Neuropsiquiatr.**, v.68, p.737-743, 2010.

MARTINS, M.; MOURA, B.L.; MARTINS, I.P.; FIGUEIRA, M.L.; PRKACHIN, K.M. Sensitivity to expressions of pain in schizophrenia patients. **Psychiatry Research**, v.189, p.180-184, 2011.

MELETTI, S.; BENUZZI, F.; RUBBOLI, G.; CANTALUPO, G.; STANZANI MASERATI, M.; .; NICHELLI, P.; TASSINARI, C.A. Impaired facial emotion recognition in early-onset right mesial temporal lobe epilepsy. **Neurology**, v.60, p.426-431, 2003.

MELETTI, S.; BENUZZI, F.; CANTALUPO, G.; RUBBOLI, G.; TASSINARI, C.A.; NICHELLI, P. Facial emotion recognition impairment in chronic temporal lobe epilepsy. **Epilepsia**, v.50, p.1547-1559, 2009.

MORRISON, C.E.; BARR, W.; ZAROFF, C.; DEVINSKY, O. Olfactory assessment in epilepsy patients. **Epilepsia**, v.43, p.185, 2002.

MURPHY, C., NORDIN, S., WIJK, R.A., CAIN, W.S., POLICH, J. Olfactory evoked potentials: assessment of young and elderly and comparison to psychophysical threshold. **Chemical Senses**, v. 19, p.47-56, 1994.

NATALICIO, M. A.; KOROGUI, C. Y. ; ALESSIO, A. ; CENDES, F. ; SILVA, M. A. A. P. Desenvolvimento de Teste de Identificação de Odores para Diagnóstico da Função Olfatória de Indivíduos em Pesquisas na Área de Neurociência In: XX Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 20., 2006, Curitiba. **Annuals...Curitiba:SBCTA**, 2006, p.616-616.

NATALICIO, M. A., SANTOS, M. V., RUGA, G. M. N. A., CENDES, F., SILVA, M. A. A. P. Desenvolvimento de teste de discriminação de odores para diagnóstico da função olfatória de indivíduos em pesquisas na área de neurociência In: 7^o SLACA-Simpósio Latino Americano de Ciências de Alimentos, 7., 2007, Campinas. **Annuals...Campinas: UNICAMP**, p. 1-1.

NORDIN, S., QUINONEZ, C., MORGAN, C.D., GEISLER, M.W., POLICH, J., MURPHY, C. Olfactory event-related potentials in young and elderly adults: evaluation of tracking task versus eyes open/closed recording. **Chemical Senses**, v.24, p.459-464, 1999.

PAROLA, S.; LIBERINI, P. Assessing olfaction in the Italian population: methodology and clinical application. **Italian Journal of Neurological Sciences**, v. 20, p.287-296, 1999.

PITKANEN, A.; PIKKARAINEN, M.; NURMINEN N.; YLINEN, A. Reciprocal connections between the amygdala and the hippocampal formation, perirhinal cortex, and postrhinal cortex in rat: a review. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v.911, p. 369-391, 2000.

REYNDERS, H.J.; BROKS, P.; DICKSON, J.M.; LEE, C.E.; TURPIN, G. Investigation of social and emotion information processing in temporal lobe epilepsy with ictal fear. **Epilepsy & Behavior**, v.7, p.419-429, 2005.

ROCCA, P.; CASTAGNA, F.; MONGINI, T.; MONTEMAGNI, C.; RASETTI, R.; ROCCA, G.; BOGETTO, F. Exploring the role of face processing in facial emotion recognition in schizophrenia. **Acta Neuropsychiatrica**, v.21, p. 292-300, 2009.

ROYET, J.P.; PLAILLY J. Lateralization of olfactory processes. **Chemical Senses**, v.29, p.731-745, 2004.

SANTOS, M. V., NATALICIO, M. A., GENDES, F., SILVA, M. A. A. P. Desenvolvimento e validação de teste de avaliação da capacidade de discriminação de odores de indivíduos para uso em neurociência In: XV Congresso Interno de Iniciação Científica, 15., 2007, Campinas. **Annuals...**Campinas:UNICAMP, 2007, p.271-271.

SAVIC, I.; BOOKHEIMER, S.Y.; FRIED, I.; ENGEL, J.Jr. Olfactory bedside test. A simple approach to identify temporo-orbitofrontal dysfunction. **Archives of Neurology**, v.54, p.162-168, 1997.

SAUTER, D.A.; EISNER, F.; EKMAN, P., SCOTT, S.K. Cross-cultural recognition of basic emotions through non verbal emotional vocalizations. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, v.107, p. 2408-2412, 2010.

SCHAFFER, S.G.; WISNIEWSKI, A.; DAHDAH, M.; FROMING, K.B. The comprehensive affect testing system – abbreviated: effects of age on performance. **Archives of Clinical Neuropsychology**, v.24, p.89-104, 2009.

SCHILBACH L.; KOUBEISSI, M.Z.; DAVID, N.; VOGLEY, K.; RITZL, E.K. Being with virtual others: Studying social cognition in temporal lobe epilepsy. **Epilepsy & Behavior** , v.11, p. 316-323, 2007.

WEST, S.E.; DOTY, R.L. Influence of epilepsy and temporal lobe resection on olfactory function. **Epilepsia**, v.36, 531-542, 1995.

CONCLUSÃO GERAL

Os dois testes de avaliação da função olfatória desenvolvidos nesta pesquisa, o teste de identificação de odores “Pastilhas de Odor” e o teste de discriminação de odores, mostraram-se apropriados e eficientes para serem utilizados como testes olfatórios. No entanto, recomenda-se que o teste de discriminação de odores seja aplicado em um grupo maior de indivíduos para validações subsequentes.

O teste de identificação de odores apresentou-se de fácil aplicação e baixo custo, e com alto índice de porcentagem de acertos pelo grupo controle, uma vez que 90% dos indivíduos conseguiram identificar corretamente entre 90 e 100% dos 36 odores que compõem o teste “Pastilhas de Odor”. Para os odores que se apresentaram comuns ao UPSIT, os resultados foram muito similares quanto à porcentagem de acertos. O teste desenvolvido também apresentou alto coeficiente de correlação ($r=0,8725$, $p<0,001$) no teste-reteste realizado em um intervalo de duas semanas; as pastilhas apresentaram-se estáveis durante o armazenamento de 3 meses após a produção. Assim, de um modo geral, “Pastilhas de Odor” mostrou ser um teste confiável para ser utilizado na avaliação da função olfatória de indivíduos.

Superioridade do desempenho das mulheres do grupo controle foi verificada na identificação de odores; o mesmo não ocorreu com relação às taxas de acertos e poder discriminativo obtidos pela aplicação do teste de discriminação de odores, no entanto, os homens apresentaram taxa de falsos alarmes superior às mulheres.

Tanto em “Pastilhas de Odor” quanto no teste de discriminação de odores, indivíduos da terceira idade e portadores de epilepsia apresentaram desempenhos inferiores ao grupo controle. Em ambos os testes, os indivíduos apresentaram valores de acuidade olfatória

similares ao grupo controle; portanto, o desempenho inferior dos grupos mencionados quanto à capacidade de identificação e discriminação de odores não pode ser atribuído à redução da sensibilidade dos indivíduos aos odores, podendo ser atribuídos à alteração dos processos de codificação olfatória e/ou memória.

Embora os pacientes portadores de epilepsia que realizaram cirurgia tenham apresentado no teste “Pastilhas de Odor” porcentagens de acerto inferiores aos pacientes que não haviam realizado cirurgia, essa diferença não foi significativa a $p \leq 0.05$, nem para a narina esquerda nem para a narina direita.

Os resultados obtidos pela aplicação no Brasil do teste “Pastilhas de Odor” em indivíduos de um grupo controle, e em portadores de epilepsia do lobo temporal pré e pós-cirúrgicos, foram similares aos obtidos quando se aplicou o UPSIT nos referidos grupos controle e de pacientes portadores de epilepsia norte-americanos. Nos dois testes de avaliação da capacidade olfatória, os pacientes apresentaram desempenhos inferiores ao grupo controle. Através do UPSIT foi possível detectar que os portadores de epilepsia norte-americanos pré e pós-cirúrgicos apresentaram desempenho inferior na capacidade de identificação de odores na narina ipsilateral à lesão cerebral; no estudo realizado no Brasil utilizando-se o teste “Pastilhas de Odor” os pacientes portadores de epilepsia pós-cirúrgicos também apresentaram um menor desempenho na capacidade de identificação de odores na narina ipsilateral à lobectomia. Assim, confirma-se que a avaliação olfatória pode ser uma ferramenta útil para obter informações de deficiências lateralizadas em portadores de epilepsia do lobo temporal.

Portadores de epilepsia pré- e pós-cirúrgicos também apresentaram menor desempenho do que o grupo controle quanto ao reconhecimento de emoção facial e vocal,

funções processadas por estruturas neurais do sistema límbico comuns à função olfatória. As emoções faciais negativas, como a de medo e de repugnância, e as vocais de medo e felicidade foram as mais prejudicadas nesses indivíduos.

O fato dos testes de identificação e discriminação de odores desenvolvidos na presente pesquisa terem diferenciado o grupo controle dos grupos de indivíduos da terceira idade e de portadores de epilepsia, conhecidos por apresentarem disfunção olfatória, constrói validade para a utilização dos mesmos em diagnósticos clínicos para a avaliação da função olfatória de indivíduos brasileiros.

ANEXO A: TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está sendo convidado(a) a participar como voluntário em uma pesquisa. Após ser esclarecido(a) sobre as informações a seguir, no caso de aceitar fazer parte do estudo, assine ao final deste documento, que está em duas vias. Uma delas é sua e a outra é do pesquisador responsável. Em caso de recusa você não será penalizado(a) de forma alguma. Em caso de dúvida você pode procurar o Comitê de Ética em Pesquisa da UNICAMP pelo telefone (19) 3788-8936.

INFORMAÇÕES SOBRE A PESQUISA:

Título do Projeto: Desenvolvimento e validação de testes sensoriais para avaliação da função olfatória de indivíduos e uso em neurociência.

Pesquisadora Responsável: Maria Angélica Natalício

Telefone para contato: (19) 3788-4059/ (19) 3243-8944 R:1142

Pesquisadores participantes:

- Dra Maria Aparecida Azevedo Pereira da Silva

Telefone para contato: (19) 3788 4074

- Cristina Yuki Korogui

Telefone para contato: (19) 3788 4059

- Dr. Fernando Cendes

Telefone para contato: (19) 3788-7372

.Descrição da pesquisa:

Você será solicitado a realizar testes sensoriais de avaliação da função olfatória (identificação/discriminação de odores/acuidade olfatória). Esses testes não apresentam riscos de qualquer natureza ou desconforto.

Procedimento do teste que você participará: Para a realização dos testes de avaliação da função olfatória será necessário apenas cheirar os odores que estarão contidos em frascos e informar o nome dos odores percebidos.

Benefícios decorrentes da participação na pesquisa:

Sua participação como voluntário auxiliará um projeto de pesquisa que visa o desenvolvimento e validação de testes sensoriais para uso na diagnose de desordens cerebrais como a epilepsia

Período de participação:

O período de participação no projeto de pesquisa será de 6 meses. Nesse período você será solicitado a comparecer entre 1 e quatro vezes, a um laboratório na UNICAMP, onde em menos que 30 minutos, você realizará o teste de odor anteriormente descrito. Todos os resultados obtidos serão mantidos em sigilo pelos pesquisadores desse projeto.

O termo de consentimento poderá ser retirado a qualquer momento sem que isto leve à qualquer penalidade ou interrupção do seu acompanhamento/ assistência/tratamento.

Nome e Assinatura do pesquisador: _____

**CONSENTIMENTO ESCLARECIDO DE PARTICIPAÇÃO EM TESTES SENSORIAIS DE
AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO OLFATÓRIA**

Eu, _____, RG/ CPF/ n.ºde prontuário/ n.ºde matrícula _____, abaixo assinado, após ler os esclarecimentos acima, concordo em participar do estudo “Desenvolvimento e validação de testes sensoriais para avaliação da função olfatória de indivíduos em estudos de neuroimagem aplicados à epilepsia”, como sujeito. Fui devidamente informado e esclarecido pelo pesquisador _____ sobre a pesquisa, os procedimentos nela envolvidos, riscos e benefícios decorrentes de minha participação. Foi-me garantido que posso retirar meu consentimento a qualquer momento, deixando de participar da pesquisa, sem que isto leve à qualquer penalidade ou interrupção de meu acompanhamento/ assistência/tratamento.

Local e data:

Nome e Assinatura do sujeito ou responsável:

Presenciamos a solicitação de consentimento, esclarecimentos sobre a pesquisa e aceite do sujeito em participar.

Testemunhas (não ligadas à equipe de pesquisadores):

Nome: _____ Assinatura: _____

Nome: _____ Assinatura: _____

ANEXO B: QUESTIONÁRIO SOBRE CONDIÇÕES DE SAÚDE PARA RECRUTAMENTO DE VOLUNTÁRIOS

Recrutamento de Voluntários

Estamos recrutando voluntários para realização de teste sensorial de identificação/discriminação de odores. Este teste será desenvolvido para avaliar a função olfatória de indivíduos. Os resultados do teste serão utilizados para auxiliar no diagnóstico de desordens cerebrais como doença de Alzheimer, Parkinson, epilepsia entre outras.

Se você deseja participar como voluntário, por favor, responda o questionário abaixo:

Nome: _____ Idade: _____

Sexo: _____ Telefone p/ contato: _____

1. Apresenta perda ou diminuição do sentido do olfato?

sim não

2. De acordo com a relação abaixo, indique se você apresenta:

rinite asma
 sinusite bronquite
 adenóide gravidez/fase de amamentação

3. Você apresenta alergia a perfumes ou outras substâncias odoríferas?

sim não

Em caso afirmativo, a quais odores? _____

4. Você se expõe diariamente a ambientes com odores?

sim não

Em caso afirmativo, a quais ambientes? _____

5. Você já sofreu alguma cirurgia no nariz?

sim não

Em caso afirmativo, qual tipo de cirurgia? _____

6. Você já sofreu alguma cirurgia cerebral?

sim não

Em caso afirmativo, qual tipo de cirurgia? _____

7. Você já sofreu traumatismo craniano?

sim

não

Você utiliza algum medicamento?

sim

não

Em caso afirmativo, qual e com que frequência isso ocorre? _____

8. Você utiliza algum medicamento nasal?

sim

não

Em caso afirmativo, com que frequência isso ocorre? _____

9. Você é fumante?

sim

não

Em caso afirmativo, quantos cigarros você fuma por dia? _____

Declaro que li este consentimento esclarecido e aceito em participar como voluntário do teste sensorial de identificação de odores.
