



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM NEUROCIÊNCIAS E BIOLOGIA CELULAR

JOSÉ RAMON GAMA ALMEIDA

**AVALIAÇÃO DA SELETIVIDADE OLFATÓRIA CAUSADA PELA
INFECÇÃO POR SARS-COV-2**

BELEM – PA

2022

JOSÉ RAMON GAMA ALMEIDA

AVALIAÇÃO DA SELETIVIDADE OLFATÓRIA CAUSADA PELA
INFECÇÃO POR SARS-COV-2

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Neurociências e Biologia Celular da Universidade Federal do Pará, como requisito para obtenção de título de Mestre em Neurociências e Biologia Celular.

Orientadora: Prof^a. Dr^a Gilmara de Nazareth Tavares Bastos

Coorientador: Prof. Dr. Paulo Eduardo Santos Ávila

BELÉM – PA

2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com ISBD
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Pará
Gerada automaticamente pelo módulo Ficat, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

A447a Almeida, José Ramon Gama.
AVALIAÇÃO DA SELETIVIDADE OLAFATÓRIA
CAUSADA PELA INFECÇÃO POR SARS-COV-2 / José Ramon
Gama Almeida. — 2022.
48 f. : il. color.

Orientador(a): Prof. Dra. Gilmara de Nazareth Tavares Bastos
Coorientador(a): Prof. Dr. Paulo Eduardo Santos Ávila
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Pará,
Instituto de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em
Neurociências e Biologia celular, Belém, 2022.

1. Covid-19. 2. Anosmia. 3. Sistema Olfatório. 4.
Disfunção do Olfato. 5. Limiar Olfativo. I. Título.

CDD 573.6654

JOSÉ RAMON GAMA ALMEIDA

AVALIAÇÃO DA SELETIVIDADE OLFATIVA APÓS ALTERAÇÕES
CAUSADAS PELA INFECÇÃO POR SARS-COV-2

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Neurociências e Biologia Celular da Universidade Federal do Pará, como requisito para obtenção de título de Mestre em Neurociências e Biologia Celular, aprovado com conceito_____.

Belém (PA), 16 de setembro de 2021.

Banca Examinadora:

Prof^a. Dr^a. Gilmara de Nazareth Tavares Bastos

Prof^a. Dr^a. Juliana Silva Cassoli

Prof. Dr^a. Leila Sawada

AGRADECIMENTOS

Ao concluir este ciclo, gostaria de agradecer às seguintes pessoas e instituições:

Em primeiro lugar, gostaria de expressar meus agradecimentos à minha orientadora, Dr.^a Gilmara Bastos e o meu coorientador, Dr. Paulo Eduardo Santos Ávila; por todo apoio, dedicação, críticas, sugestões e ensinamentos (acadêmicos e de vivência) que contribuíram de forma significativa para que eu pudesse vencer mais esta etapa. A vocês Profs.^a, meu muitíssimo obrigado!

Também gostaria de agradecer à Universidade Federal do Pará, ao Instituto de Ciências Biológicas, em particular, ao Programa de Pós-Graduação em Neurociências e Biologia Celular por me proporcionarem a oportunidade de crescimento científico e como profissional.

A todos os integrantes do Laboratório de Neuroinflamação. Em especial, agradeço ao Prof.^o Paulo Eduardo Santos Ávila, pelos momentos de risadas, conversas, brincadeiras e também de críticas; ao Klinsmann Thiago (KT) Rayan Monteiro e Marcos Lebrege, pelas diversas conversas, risadas, cervejas e cafés, além das horas intermináveis de experimentos compartilhadas ao longo desses recentes anos de amizade. Um grande abraço em todos vocês!

Ao meu pai, por toda sua amizade, suporte e ajuda que me proporcionou ao longo desses anos. Minha gratidão a você, José do Socorro dos Santos Almeida.

À minha tia Gildete por toda a força prestado a mim e minha família ainda em vida e a todos os outros membros de minha família e queridos amigos, por seus apoios, companheirismo e amizade ímpar.

A Camila Emanuelle (preta ou mimila) e a velha Sueli (vovó da pavilhão) e meus irmãos (Jhonata, Rômulo e Ronald) e principalmente, à minha mãe Rosivone Gama, por todo amor, carinho, orações, preocupações e ensinamentos dedicados a mim. Muito obrigado pelo privilégio de lhe ter como mãe. Por todo o seu empenho e exemplo de vida como mulher batalhadora, comprometida em me fazer estudar e mudar a nossa realidade, essa dissertação de mestrado é dedicada à senhora meu pai e meus irmãos com todo o meu amor.

*A vida passa tão rápida quanto um icoaraci
expresso na almirante, então curta cada
momento*

AUTOR DESCONHECIDO

RESUMO

Introdução: A perda súbita do olfato é um dos sintomas mais prevalentes da COVID-19. O olfato vai desde detectar odores de alerta no ambiente até construir nossas experiências mais prazerosas. Esse sentido estimula uma complexa rede neural, incluindo o lobo temporal, a amígdala, a ínsula e grande parte do lobo límbico: a perda do olfato não deve ser considerada apenas um sintoma sensorial, mas também uma síndrome psicossensorial. **Objetivos:** Este estudo teve como objetivo avaliar a seletividade olfativa e a sensação trigeminal em alterações olfativas relatadas por pacientes diagnosticados com COVID-19. **Métodos:** Estudo de caso-controle randomizado envolvendo 88 indivíduos: COVID-19 sem disfunção olfativa previamente diagnosticada antes do período de pandemia; com COVID-19 com disfunção olfativa diagnosticada antes do período de pandemia; e sem COVID-19 e perda de sensibilidade olfativa durante o período de pandemia, com anosmia ou hiposmia persistente após infecção por SARS-CoV-2. Todos os indivíduos participantes do estudo (grupos controle/intervenção) diagnosticados com ou sem COVID-19 foram submetidos a ficha de coleta de dados de avaliação e teste sensorial psicofísico que incluiu teste olfativo, teste de memória olfativa, teste de limiar olfativo e teste de sensação trigeminal (CEP-UFGA: 40962420.2 .0000.0018). ANOVA segue o teste de Tukey. **Resultados:** Os resultados demonstraram que todos os pacientes com ou sem diagnóstico de COVID-19, perdem a capacidade de não identificar o odorante da essência de banana quando comparados ao grupo saudável sendo controle significativo vs. COVID-19 sem $p < 0,0002$ e controle significativo vs. COVID-19 com $p < 0,0010$ e não significativo COVID-19 sem vs. COVID-19 com $p > 0,05$. Para o teste de memória olfativa de curto prazo que todos os pacientes com ou sem diagnóstico de COVID-19, demonstraram um aumento na identificação errônea de odorantes apresentados quando comparados a controles saudáveis, assim como no limiar olfativo foram observadas diferenças na percepção entre os grupos. analisado. A ausência de pelo menos uma função quimiossensorial (sensação de resfriamento) do trigêmeo durante o período de teste foi relatada pela qual todos os pacientes com ou sem diagnóstico de COVID-19, quando comparados ao grupo controle saudável. **Conclusão:** Desta forma, a infecção por SARS-CoV-2 pode estar promovendo uma disfunção olfativa que afeta a percepção do odor de banana, bem como as características de longo prazo afetadas como memória olfativa, limiar olfativo e sensação trigeminal de perda olfativa que o COVID -19. 19 gera em pacientes pode fornecer pistas para intervenções terapêuticas destinadas a prevenir, aliviar ou curar a disfunção olfativa de longo prazo no COVID-19.

Palavras Chave: Covid19; Anosmia; Sistema olfativo; Disfunção do olfato; limiar olfativo.

ABSTRACT

Introduction: Sudden loss of smell is one of the most prevalent symptoms of COVID-19. The sense of smell ranges from detecting warning odors in the environment to building our most pleasurable experiences. This sense stimulates a complex neural network, including the temporal lobe, the amygdala, the insula and a large part of the limbic lobe: the loss of smell should not, only, be considered a sensory symptom, but also a psycho-sensory syndrome. **Objectives:** This study was aimed to evaluate the olfactory selectivity and trigeminal sensation in olfactory alterations reported by patients diagnosed with COVID-19. **Methods:** The Randomized case-control study involving 88 individuals: COVID-19 without olfactory dysfunction previously diagnosed prior to the pandemic period; with COVID-19 with olfactory dysfunction diagnosed before the pandemic period; and without COVID-19 and loss of olfactory sensitivity during the pandemic period, with persistent anosmia or hyposmia after SARS-CoV-2 infection. All individuals participating in the study (Control/intervention groups) diagnosed with or without COVID-19 underwent evaluation data collection form and psychophysical sensory test which included olfactory test, olfactory memory test, olfactory threshold test and trigeminal sensation test (CEP-UFGA: 40962420.2.0000.0018). ANOVA follow the Tukey test. **Results:** The results demonstrated which all patients with or without COVID-19 diagnosis, loss the ability to not identify the odorant of banana essence when compared to the healthy health group being significant control vs. COVID-19 without $p < 0.0002$ and significant control vs. COVID-19 with $p < 0.0010$ and not significant COVID-19 without vs. COVID-19 with $p > 0.05$. For the short-term olfactory memory test which all patients with or without COVID-19 diagnosis, demonstrated an increase in the misidentification of odorants presented when compared to healthy controls, as well as in the olfactory threshold differences in perception were observed between the groups. analyzed. The absence of at least one chemosensory function (cooling sensation) of the trigeminal during the test period was reported by which all patients with or without COVID-19 diagnosis, when compared to the healthy control group. **Conclusion:** In this way, SARS-CoV-2 infection may be promoting an olfactory dysfunction that affects the perception of banana odor, as well as the affected long-term characteristic such as olfactory memory, olfactory threshold and trigeminal sensation of olfactory loss that COVID-19. 19 generates in patients may provide clues to therapeutic interventions aimed at preventing, alleviating or curing long-term olfactory dysfunction in COVID-19.

Key words: Covid-19; Anosmia; Olfactory system; Smell dysfunction; olfactory threshold.

LISTA DE FIGURAS

| | | | |
|-----------|---|--|----|
| Figura 1 | – | Processo fisiopatológico de entrada do vírus SARS-COV-2 no sistema nervoso central via sistema olfativo. | 11 |
| Figura 2 | – | Mapa representativo do bulbo olfatório e a divisão por regiões das famílias de ROs. | 15 |
| Figura 3 | – | Representação gráfica do frasco utilizado como recipiente no teste de identificação | 21 |
| Figura 4 | – | Representação gráfica do frasco utilizado no teste de memória olfativa | 21 |
| Figura 5 | – | Linha crescente dos limiares de canela com solvente de propilenoglicol | 22 |
| Figura 6 | – | Avaliação da sensação trigeminal | 23 |
| Figura 7 | – | Identificação olfatória para análise geral 4 odorantes | 25 |
| Figura 8 | – | Teste de identificação (análise de cada odorante específico) | 26 |
| Figura 9 | – | Memória olfativa de curto prazo | 27 |
| Figura 10 | – | Teste de limiar olfatório | 28 |
| Figura 11 | – | Teste de sensação da função nasal trigeminal (resfriamento) | 29 |
| Figura 12 | – | Análise geral covid curto, pós agudo e crônico | 30 |
| Figura 13 | – | Teste de identificação análise por essência (covid curto) | 31 |
| Figura 14 | – | Teste de identificação análise por essência (covid pós-agudo) | 32 |
| Figura 15 | – | Teste de identificação análise por essência (covid crônico) | 33 |

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

| | |
|----------|---|
| CoVID-19 | Corona Vírus Disease |
| NSOs | Neurônios Sensoriais Olfatórios |
| RO | Receptor Olfativo |
| UPSIT | Teste de Identificação do Olfato da Universidade da Pensilvânia |
| OMS | Organização Mundial da Saúde |
| ECA2 | Enzima Conversora de Angiotensina 2 |
| PHEIC | Emergência de Saúde Pública de Preocupação Internacional |
| SDRA | Síndrome do Desconforto Respiratório Agudo |
| MEEM | Mini Exame do Estado Mental |
| DPM | Desvio Padrão da Média |
| DCO | Disfunção Olfatória Crônico |
| EPM | Erro Padrão da Média |

SUMÁRIO

| | | |
|----------|---|----|
| 1 | INTRODUÇÃO | 10 |
| 1.1 | FISIOPATOLOGIA | 10 |
| 1.2 | SINAIS E SINTOMAS | 11 |
| 1.3 | PREVALÊNCIA | 13 |
| 1.4 | OLFATO | 13 |
| 1.5 | DISFUNÇÃO OLFATÓRIA | 15 |
| 1.6 | TESTES OLFATÓRIOS | 16 |
| 2 | OBJETIVO GERAL | 18 |
| 2.1 | OBJETIVOS ESPECÍFICOS | 18 |
| 3 | MATERIAIS E MÉTODOS | 19 |
| 3.1 | ASPECTOS ÉTICOS | 19 |
| 3.2 | TIPO DE ESTUDO | 19 |
| 3.3 | LOCAL E PERÍODO DA PESQUISA | 19 |
| 3.4 | CRITÉRIOS DE INCLUSÃO | 19 |
| 3.5 | CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO | 20 |
| 3.6 | INSTRUMENTOS DA PESQUISA | 20 |
| 3.6.1 | Procedimentos de coleta | 20 |
| 3.6.2 | Teste de identificação olfativa | 20 |
| 3.6.3 | Teste de memória olfativa | 21 |
| 3.6.4 | Teste de limiar olfatório | 22 |
| 3.6.5 | Teste de sensação trigeminal | 23 |
| 3.7 | ANÁLISE ESTATÍSTICA | 23 |
| 4 | RESULTADOS | 25 |
| 4.1 | ANÁLISE GERAL DO TESTE DE IDENTIFICAÇÃO DE 4 ODORANTES DISTINTOS | 25 |
| 4.2 | TESTE DE IDENTIFICAÇÃO (ANÁLISE DE CADA ODORANTE ESPECÍFICO) | 26 |
| 4.3 | MEMÓRIA OLFATIVA DE CURTO PRAZO | 27 |
| 4.4 | TESTE DE LIMIAR OLFATÓRIO | 28 |
| 4.5 | TESTE DE SENSACÃO TRIGEMINAL (RESFRIAMENTO | 29 |
| 4.6 | JANELA COVID LONGO | 30 |

| | | |
|----------|---|-----------|
| 4.7 | TESTE DE IDENTIFICAÇÃO ANÁLISE POR ESSÊNCIA (COVID CURTO) | 31 |
| 4.8 | TESTE DE IDENTIFICAÇÃO ANÁLISE POR ESSÊNCIA (COVID PÓS-AGUDO) | 32 |
| 4.9 | TESTE DE IDENTIFICAÇÃO ANÁLISE POR ESSÊNCIA (COVID CRÔNICO) | 33 |
| 5 | DISCUSSÃO | 34 |
| 6 | CONCLUSÃO | 39 |
| | REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 40 |

1 INTRODUÇÃO

Em dezembro de 2019, foi encontrado um novo coronavírus (nCoV) denominado "SARS-CoV-2", anunciado pela Organização Mundial da Saúde (OMS) como responsável pelo surto de COVID-19. A incidência do SARS-CoV (síndrome respiratória aguda grave-coronavírus) em 2002 e 2003 e do MERS-CoV (síndrome respiratória do Oriente Médio-coronavírus) em 2012, mostrou alto potencial para a transmissão de CoVs emergentes, de animais para humanos e de indivíduo a indivíduo. Um total de sete coronavírus humanos (HCoVs) foram descobertos (MOHAMADIAN *et al.*, 2021).

Muitos vírus que afetam o trato aéreo superior (por exemplo, rinovírus, vírus parainfluenza Epstein-Barr e alguns coronavírus) podem levar à disfunção olfatória, principalmente por meio de uma reação inflamatória da mucosa nasal, lesão do nervo trigêmeo causando alterações tróficas da mucosa nasal, envolvendo a sensação do tato e temperatura. A fisiopatologia pela qual o SARS-CoV-2 afeta o sistema olfatório não é clara. A chave para a entrada de SARS-CoV-2 nas células hospedeiras é a enzima conversora da angiotensina 2 (ECA2) (LUERS *et al.*, 2020).

A anosmia surgiu como um dos sintomas neurológicos mais comuns e ainda heterogêneos, estudos iniciais correlacionaram maior propensão à perda olfativa aguda com um curso mais demorado da doença, a prevalência elevada de perda de olfato na maioria dos casos de COVID-19, geralmente, a perda do olfato é transitória, com a recuperação dos pacientes em 6 semanas. No entanto, para cerca de 10% dos pacientes, essa resolução é indescritível, resultando em disfunção olfativa persistente (ZAZHYTSKA *et al.*, 2022).

1.1 FISIOPATOLOGIA

Quando uma pessoa infectada expõe gotículas carregadas de vírus e outra pessoa a inala, o novo coronavírus, chamado SARS CoV-2, entra pelo olfato e na garganta, encontrando um local receptivo no revestimento nasal, onde as células são ricas em ECA2. Esta enzima é a porta para estabelecer a infecção. Esta proteína de membrana é amplamente expressa em quase todos os tecidos, como pulmão, coração, rim, cavidade nasal, cavidade oral, ducto biliar, fígado e intestino (DABANCH 2021; MEREDITH WADMAN e JOCELYN KAISER 2020).

A ligação com a ECA2 acontece por meio do Receptor Binding Domain (RBD) de sua proteína spike (S). Ademais a serina protease 2 transmembrana celular (TMPRSS2) é integrante para o priming da proteína S do vírus, também podendo depender a entrada do vírus das proteases de cisteína endossomal lisossomal cathepsina B e L, essa por sua vez, não sendo dada como atividade essencial para acesso do micro-organismo (**Figura 1**) (HOFFMANN *et al.*, 2020; LAN *et al.*, 2020).

A furina protease está envolvida no processo de infecção, uma vez que o SARS-CoV-2 contém um local de clivagem de furina incomum para coronavírus na proteína S, onde o receptor celular neuropilin-1 fortalece a infectividade do SARS-CoV-2, oferecendo uma porta de entrada para o Sistema Nervoso Central (SNC), outra forma de acesso do SARS-CoV-2 ao SNC é por meio da utilização do receptor alternativo putativo CD147 que é altamente expresso no cérebro (QIAO et al., 2020; ZAMORANO CUERVO; GRANDVAUX, 2020).

O vírus sequestra a maquinaria da célula, fazendo uma miríade de cópias de si mesmo e destruindo novas células a medida que o vírus se multiplica. **(Figura 1)** Uma pessoa infectada pode liberar grandes quantidades dele, especialmente durante a primeira semana os sintomas podem estar ausentes neste ponto ou a nova vítima do vírus pode desenvolver febre, tosse seca, dor de garganta, perda de olfato e paladar ou dores de cabeça e no corpo, se o sistema imunológico não derrotar o SARS-CoV-2 durante esta fase inicial, o vírus então marcha pela traqueia para atacar os pulmões, onde pode se tornar mortal (MEREDITH WADMAN e JOCELYN KAISER 2020).

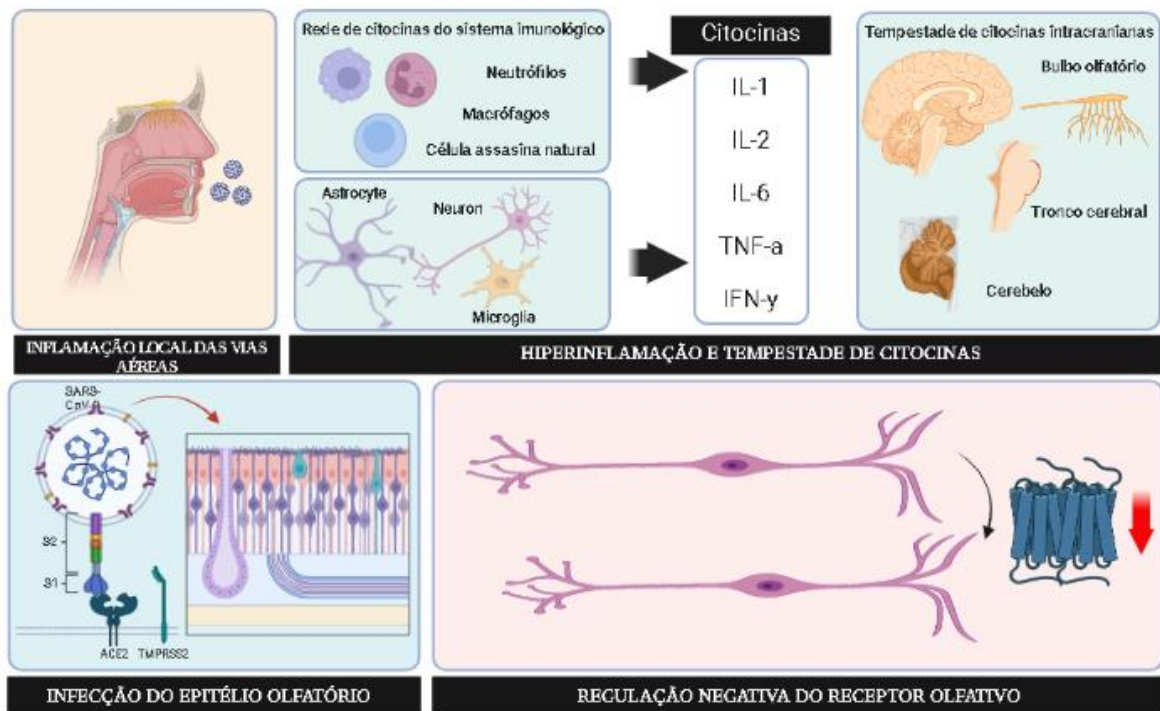


Figura 1: Processo fisiopatológico de entrada do vírus SARS-COV-2 no sistema nervoso central via sistema olfativo.

Fonte: Adaptado da plataforma *BioRender* (versão livre – <https://biorender.com>). Adaptado de de DOTY, 2022)

1.2 SINAIS E SINTOMAS

Os principais sintomas da infecção por SARS-CoV-2 são semelhantes aos da gripe, como febre, tosse, astenia, perda de olfato (anosmia) semelhantes a outros coronavírus,

entretanto embora lesão pulmonar grave tenha sido descrita em todas as idades, em alguns indivíduos de alto risco, como idosos ou pessoas afetadas por multimorbidades, o vírus tem maior probabilidade de causar pneumonia intersticial grave, síndrome do desconforto respiratório agudo (SDRA) e subsequente insuficiência de múltiplos órgãos, responsáveis por insuficiência respiratória aguda grave e altas taxas de mortalidade, normalmente, os indivíduos afetados apresentam uma extensão variável de dispneia e sinais radiológicos (PASCARELLA *et al.*, 2020).

Os sintomas da COVID-19 variam entre os indivíduos, desde infecção assintomática até insuficiência respiratória grave. Um estudo de coorte da população italiana em 2020 mostrou que cerca de 50-75% dos indivíduos com resultados positivos de RT-PCR na garganta permanecem assintomáticos, enquanto outros desenvolvem gripe leve e sintomas semelhantes, e uma pequena porcentagem adicional (cerca de 10% de todos os pacientes sintomáticos) apresentam dispneia, pneumonia intersticial grave, SDRA e disfunção de múltiplos órgãos, a grande maioria dos indivíduos com sintomas e padrões clínicos mais graves tinha uma ou mais condições médicas coexistentes, como hipertensão, diabetes e distúrbios cardiovasculares, com mortalidade elevada entre pacientes idosos e frágeis, portanto, difícil diferenciar COVID-19 de outras doenças respiratórias (PASCARELLA *et al.*, 2020).

Além dos diversos sintomas relatados na literatura, a disseminação dessa infecção, vem afetando pacientes com disfunções olfatórias, dentro da longa lista de sintomas clínicos da COVID-19, identificou-se a perda olfativa súbita (anosmia-hiposmia), como sintoma significativo que foi encontrado mesmo na ausência de outros sintomas, sendo os distúrbios olfativos associados há muito tempo a infecções virais de vias aéreas superior (PARMA *et al.*, 2020).

A evidência foi baseada nas observações da Coreia do Sul, China e Itália, onde uma porcentagem considerável de pacientes que eram assintomáticos em relação aos sintomas respiratórios, desenvolveram anosmia e hiposmia; e a hipogeusia também foi uma queixa comum (5, 6% de 214 pacientes hospitalizados com SARS-CoV-2). Além disso, um estudo recente publicado nos Arquivos Europeus de Oto-Rhino-Laryngology, mostrou que 85,6% e 88,0% dos pacientes com COVID-19 relataram olfação e disfunções gustativas, respectivamente (PALLANTI, 2020).

Geralmente, os coronavírus podem causar doenças respiratórias, gastrointestinais e do sistema nervoso central em humanos e animais, ameaçando a vida humana e causando perdas econômicas, inicialmente, a perda aguda do olfato (anosmia) e do paladar (ageusia) não foram considerados sintomas importantes para a doença coronavírus em 2019, entretanto com o passar

do tempo percebeu-se que os sinais que antes não eram tão relevantes persistiram nos pacientes (COVID-19) (GUPTA, RAGHUWANSHI, e CHANDA 2020).

Está claro que a infecção aguda leve a grave, não é o único resultado de COVID-19, e sintomas de longa duração também são possíveis. Em contraste com COVID-19 agudo grave, tal 'COVID longo' é aparentemente mais provável em mulheres do que em homens. Além disso, a doença hiperinflamatória pós-infecciosa foi descrita como um resultado adicional após a infecção por SARS-CoV-2 (BRODIN 2021; RAVEENDRAN, JAYADEVAN, e SASHIDHARAN 2021).

1.3 PREVALÊNCIA

Para determinar a prevalência desses sintomas e avaliar sua significância diagnóstica coletou-se prospectivamente dados de casos de anosmia e ageusia, anosmia ou ageusia aguda onde foi observada em 15,3% (488/3.191) dos pacientes no estágio inicial de COVID-19 e em 15,7% (367/2.342) dos pacientes com gravidade da doença assintomática a leve, sua prevalência foi significativamente mais comum entre mulheres e indivíduos mais jovens, a maioria dos pacientes com anosmia ou ageusia se recuperou em 3 semanas, o tempo médio de recuperação foi de 7 dias para ambos os sintomas. Anosmia e ageusia parecem fazer parte de importantes sintomas e pistas para o diagnóstico de COVID-19, particularmente no estágio inicial da doença. (CHAMS *et al.*, 2020).

A Disfunção Olfatória Crônica (DOC) devido ao SARS-CoV-2 surgiu em agosto de 2020, 6 meses após o início da pandemia, desde esse período houve um aumento cumulativo de indivíduos com DOC no mundo todo, dados norte-americanos divulgados pela, *Washington University School of Medicine in St Louis*, demonstraram que a partir de maio de 2021 a análise previu um aumento exponencial na inclinação do número cumulativo de indivíduos norte-americanos com DOC, desde esse período até o final do ano de 2021 estimativas sugerem que de 700.000, e possivelmente até 1,6 milhões de indivíduos norte americanos irão desenvolver DOC (KHAN; KALLOGJERI; PICCIRILLO, 2021).

1.4 OLFATO

O olfato é um sentido de percepção compreendido pelo primeiro par de nervo craniano, sendo considerado filogeneticamente nosso sentido mais primitivo, onde se caracteriza por uma sensibilidade apurada e alto poder discriminatório, um odorante ou mesmo uma mudança pequena que seja pode ser percebido pelo sistema como um todo (BUCK, 2005; FJÆLDSTAD, 2018).

Anatomicamente o olfato humano se inicia em estruturas que constituem os limites da cavidade nasal, sendo a abertura piriforme como a abertura para a cavidade nasal, onde nessa estrutura existe o septo nasal que é a região anatômica que divide na linha média as fossas nasais em direita e esquerda a cavidade nasal superior dando início as cavidades paranasais, sendo a lamina cribiforme da base anterior do crânio o teto de cada fossa nasal (HORNUNG, 2006; SMITH; BHATNAGAR, 2019; WITT, 2019)

Na lâmina cribiforme encontram-se os receptores olfativos que são integrantes das extremidades ciliadas dos neurônios sensoriais olfativos (revestem o epitélio olfativo), epitélio olfativo está localizado bilateralmente ao longo da cavidade nasal revestindo a lâmina cribiforme, dentre os subtipos de ROs cada odorante pode ativar vários subtipos diferentes (ARZI; SOBEL, 2011).

O epitélio olfatório contém 4 regiões diferentes que se estendem ao longo do eixo ântero-posterior da cavidade nasal, apesar dessas zonas não terem limites nítidos, a expressão de um determinado subtipo de RO é preferencial para cada determinada zona ou região, além das especificidades por áreas, os ROs podem ser classificados filogeneticamente como classe I ou classe II, formando um gradiente que demonstra a seletividade dos ROs (MAINLAND; SOBEL, 2006).

Os NSOs convergem para os glomérulos que estão localizados no bulbo olfatório, nos glomérulos os axônios dos NSOs fazem contatos sinápticos nos neurônios mitrais e em tufo e também nos neurônios periglomerulares, todos como integrantes do bulbo olfatório, a conectividade do epitélio ao bulbo mantém amplamente o mapeamento epitelial, de modo que diferentes porções do epitélio se projetam para diferentes aspectos do bulbo (MARESH et al., 2008).

Cada glomérulo forma uma representação amplificada de um determinado subtipo de RO e, dessa maneira, a ativação dos glomérulos formam um mapa de identidade de odor. Diferentes odorantes formam padrões únicos e sobrepostos de ativação do glomérulo. Mapas que são relacionados a várias características físico-químicas dos odorantes, como comprimento da cadeia de carbono e grupo funcional, glomérulos próximos podem ser quase tão diversos em sua seletividade de odor quanto os glomérulos distantes, isso é evidente a partir de odores naturais, como alimentos. Tais odoríferos que são tipicamente misturas contendo diversos componentes monomoleculares. Mapas bulbares não são meramente mapas de características, pois se não seria de se esperar a representação de todos os componentes em uma mistura (**Figura2**) (AUFFARTH; GUTIERREZ-GALVEZ; MARCO, 2011; CLELAND et al., 2007).

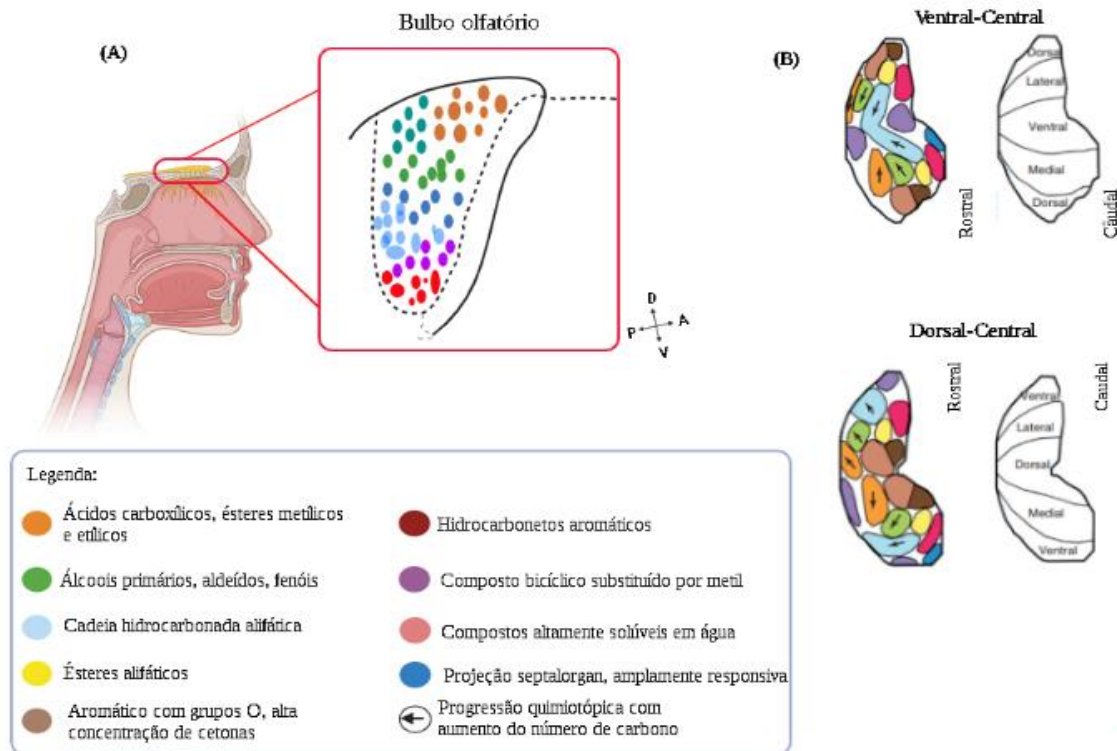


Figura 2: Mapa representativo do bulbo olfatório e a divisão por regiões das famílias de ROs.

As cores representam as famílias de ROs

Fonte: Adaptado da plataforma *BioRender* (versão livre – <https://biorender.com>). Adaptado de de ARZI; SOBEL, 2011)

1.5 DISFUNÇÃO OLFATÓRIA

O olfato é comumente definido por várias habilidades distintas, como detecção do limiar olfativo, identificação, discriminação e memória de odores. O funcionamento olfatório quantitativo pode ser categorizado como uma faixa de capacidade normal (normós mica) a diminuída (hiposmia) e ausente (anosmia) de detectar e rotular corretamente os odores (MARIN *et al.*, 2018)

Diversas patologias acometem o sistema olfatório, sendo este um marcador precoce das doenças de Alzheimer e de Parkinson, recentemente, esse tópico ganhou alguma atenção como um dos sintomas mais característicos da infecção por SARS-CoV-2, mas seu diagnóstico clínico ainda não é rotineiro, em parte devido à dificuldade em distinguir a hiposmia da anosmia (UBEDA-BAÑÓN *et al.*, 2020).

Hiposmia são déficits olfatórios limiares e discriminativos, que podem ser causados por diferentes doenças neurodegenerativas e envelhecimento. Os substratos neurais subjacentes à hiposmia são amplamente desconhecidos, tem sido proposto dano no epitélio olfatório, bulbo olfatório e/ou córtex olfatório ou mesmo envolvimento de sistemas neuromoduladores

centrífugos, como o sistema colinérgico. Além dessas doenças, outra patologia que também tem como sinal clínico disfunção olfatória é a COVID19 que surpreendeu toda a ciência pela disfunção olfatória observada em uma parcela dos pacientes infectados pelo vírus SARS-CoV-2 (DEVANAND et al., 2015; TROUGAKOS et al., 2021).

Investigações de perda de função olfativa associada a COVID-19 em pacientes que sofreram com a patologia, com sequelas olfativas após o período de replicação viral, já foi demonstrado por Melo *et al* 2021, que vários tipos de células do neuroepitélio olfatório são infectados durante o período agudo da fase, no momento em que a perda do olfato se manifesta, e que infecção viral prolongada e inflamação no neuroepitélio olfatório podem ser responsáveis por hiposmia e anosmia prolongada (DE MELO et al., 2021).

Outros estudos relataram sinais e sintomas persistentes em pacientes que foram infectados pelo SARSCOV2 o que denominaram estar na fase Longo COVID ou síndrome pós-COVID-19, os sintomas persistentes podem incluir deficiências cognitivas e mentais, dores no peito e nas articulações, palpitações, mialgia, disfunções do olfato e paladar, tosse, dor de cabeça e problemas gastrointestinais e cardíacos.

Entretanto, diferenciando-se dos estudos nessa área, a presente investigação busca identificar se os indivíduos que apresentaram anosmia, hiposmia ou qualquer alteração olfatória no período pós infecção por CoVID-19, se os mesmos demonstram uma seletividade para odorantes específicos, podendo revelar assim uma possível linha de tratamento para sua condição no momento.

Assim então, os dados levantados poderão auxiliar a compreensão dos possíveis déficits e tratamentos nesta modalidade sensorial que estes pacientes podem expressar e se de fato, estas deficiências podem ter alguma relação na redução de respostas neurosensoriais na COVID-19. Assim, novas abordagens poderão também ser pensadas para enfrentamento destes problemas. Dessa forma o presente estudo tem por objetivo avaliar a seletividade olfativa pós alterações olfatórias ocasionadas pela covid-19.

1.6 TESTES OLFATÓRIOS

Como forma de análise das disfunções olfatórias que podem ser encontradas em patologias diferentes, temos diversas formas de testes e métodos a serem utilizados, onde essas avaliações psicofísicas usadas em ambientes clínicos e de pesquisa devem incluir testes de limiar de odor ou um de identificação ou discriminação de odor, sendo o ideal, entretanto, o teste incluir dois ou três desses subcomponentes (HUMMEL et al., 2017).

Os testes psicofísicos são métodos de verificação que fornecem uma avaliação mais confiável da função olfativa do que os testes subjetivos, durante essa avaliação, um estímulo

olfativo é fornecido e o resultado depende da resposta do paciente. O teste psicofísico, portanto, requer um sujeito cooperativo que pode entender e seguir as instruções, bem como comunicar as escolhas ao clínico investigador. Por meio da modificação do tipo de teste psicofísico, diferentes aspectos do olfato podem ser avaliados. Em termos gerais, esses diferentes aspectos podem ser divididos em função olfatória limiar e supralimiar (SCADDING et al., 2011).

O limite de odor é a concentração de um odorante onde 50% dos estímulos são detectados e 50% permanecem indetectáveis para um sujeito. O limite de odor em si não requer identificação específica do estímulo do odorante, em vez de uma detecção de alguma substância, geralmente em comparação com um estímulo vazio e inodoro. Quando a comparação é feita entre odorante e estímulo em branco, algum grau de memória de trabalho de curto prazo é necessário (HEDNER et al., 2010).

O teste olfativo supralimiar envolve a apresentação de estímulos de odor de concentração suficiente de modo que eles devem ser detectáveis, ou seja, acima do nível limite em uma pessoa sem deficiência. Ao variar o odor apresentado, tais ferramentas permitem o teste de discriminação de odores e habilidades de identificação. A discriminação de odores descreve a habilidade não verbal de diferenciar entre diferentes odores. A identificação de odores envolve o reconhecimento de um estímulo e a comunicação de sua identidade correta, ou seja, a capacidade de nomear um odor, podendo ser por identificação sem alternativas por escolhas forçadas ou apresentando alternativas para que o indivíduo escolha (SOROKOWSKA; ALBRECHT; HUMMEL, 2015).

Óleos essenciais são selecionados para a fim de propor para serem usados para desenvolver um novo método de treinamento do olfato. Embora estudos científicos tenham mostrado que eles melhoram a recuperação, pode haver melhores combinações para facilitar a recuperação, finalmente, discutimos o possível uso destes em ambientes clínicos (KOYAMA et al., 2021).

OBJETIVO GERAL

Avaliar a seletividade olfativa e sensibilidade da função nasal trigeminal nas alterações olfatórias relatadas por pacientes diagnosticados com COVID-19.

2.1 OBJETIVO SECUNDÁRIO (ESPECÍFICOS)

- Avaliar o processo de seletividade na discriminação de odores dos pacientes diagnosticados com COVID-19;
- Avaliar a memória olfativa dos pacientes diagnosticados com COVID-19;
- Avaliar limiar olfatório de pacientes diagnosticados ou não com COVID-19.
- Avaliar a sensibilidade trigeminal nos estímulos com odorantes ao sistema olfatório.
- Traçar uma janela do teste de identificação olfativa do período em que o paciente se encontra com perda de olfato.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 ASPECTOS ÉTICOS

Essa pesquisa foi realizada segundo os preceitos da declaração de Helsinque e do código de Nuremberg, sendo respeitadas as Normas de Pesquisa Envolvendo seres Humanos do Conselho Nacional de Saúde (466/12 e 580/18). Pesquisa foi submetida e aprovada pelo comitê de ética em Pesquisa da Universidade Federal do Pará sob o CAAE de número 40962420.2.0000.0018. A coleta de dados foi iniciada após o aceite dos voluntários, por meio de assinatura do Termo de Consentimento Livre Esclarecido.

3.2 TIPO DE ESTUDO

Este estudo se configura na modalidade de pesquisa de campo descritivo-analítica, observacional, transversal, de caráter quantitativo, sendo realizado a seleção dos voluntários após a análise dos critérios de inclusão e exclusão do estudo.

3.3 LOCAL E PERÍODO DA PESQUISA

A pesquisa ocorreu no laboratório de Neuroinflamação localizado no ICB – Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Pará, localizado no Campus Básico - Rua Augusto Corrêa, 01. Guamá. CEP 66075-110.

3.4 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

Pacientes, adultos de ambos os sexos, residentes na região metropolitana de Belém, idade de 18 a 60 anos, diagnosticados pelo menos nos últimos 1, 3 ou 6 meses pós doença (COVID-19), que tiveram perda de olfato como sintoma da COVID-19 (auto relatado) e indivíduos saudáveis que não tiveram COVID-19 diagnosticados por teste sorológicos, Rt-PCR e que não tiveram perda de função olfatória no período da pandemia de COVID-19 ..

Afim de evitar vieses representados por perda de olfato anteriormente a infecção por SARS-CoV-2, usamos grupo controle sem disfunção olfativa previamente diagnosticada, grupo infectado por SARS-CoV-2 sem disfunção olfativa previamente diagnosticada (COVID-sem) e grupo infectado por SARS-CoV-2 com disfunção olfativa previamente diagnosticada (COVID-com). Ambos os grupos infectados foram inclusos no estudo após serem avaliados por um questionário simples com auto relato de percepção de cheiro [pergunta: você tem dificuldade de sentir odores após infecção por SARS-CoV-2? Resposta :não ou sim.

3.5 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

Crianças, menores de 18 anos de idade, pacientes sem capacidades cognitivas para responder ao questionário, indivíduos que se encontravam em tratamentos farmacológicos e paciente com algum problema neurológico incapacitante para participar dos testes.

3.6 INSTRUMENTOS DA PESQUISA

3.6.1 Procedimentos de coleta

Após selecionado para a pesquisa o voluntário leu e assinou o TCLE e iniciou a pesquisa respondendo a uma ficha de coletas de dados por meio da ficha adaptada para coletas de dados dos indivíduos testados, assim por seguinte deu-se início aos testes olfativos psicofísicos, onde o voluntário da pesquisa realizou os testes de forma sentada em sala adequada para realização da pesquisa sendo o mesmo vendado antes do início dos testes. Primeiro o teste de discriminação de odorantes foi realizado para testar há uma possível seletividade para algum dos 4 odorantes testados no estudo, seguido pelo teste de memória olfativa, limiar olfativo e sensação de resfriamento da função nasal trigeminal, todos os testes foram realizados de forma não invasiva com odorantes em estado líquido em forma de essência, como os testes para olfato preconiza em seus métodos de análise. Com essências dispostas em frascos que foram esterilizados em autoclave de capacidade total de 5ml, com uso de epi e calçamento de luvas novas para avaliação de cada voluntário da pesquisa, adequado pelo avaliador para não interferência nos resultados do teste.

3.6.3 Teste de identificação olfativa

Consiste na utilização de 4 odores classificados previamente pelos pesquisadores para reconhecimento do indivíduo testado, onde no primeiro momento serão administrados 4 odorantes distintos, 1 por vez, sendo colocados 3cm abaixo das narinas com 30 segundos para que o participante da pesquisa identifique que odor estar sendo administrado, sendo que o mesmo terá 4 alternativas distintas para dizer qual odor ele identificou ser. Entre um odorante e outro a ser administrado será respeitado um espaço de tempo de 1 minuto. Será respeitado o mesmo procedimento para todos os participantes inclusive com a mesma ordem de administração de odorantes testados. O procedimento de teste foi baseado no (Figura 3) (HUMMEL et al., 2017; SILVA, 2011).

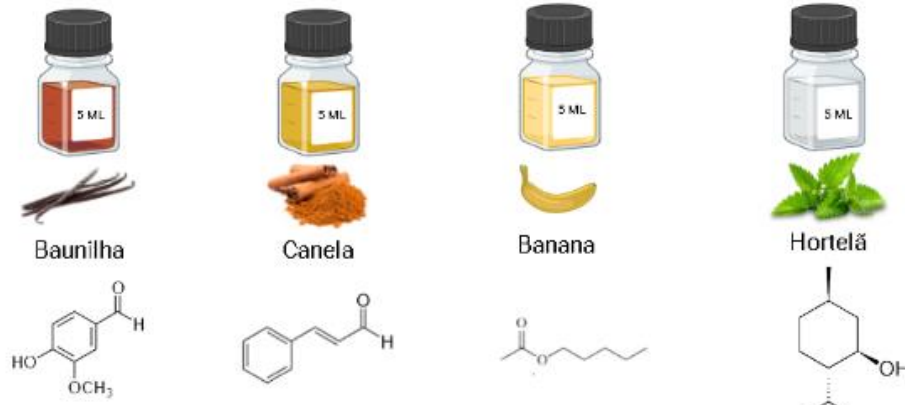


Figura 3. Representação gráfica do frasco utilizado como recipiente para as essências utilizadas na pesquisa, frascos com capacidade total de 5 ml cada. Frascos de vidro com tampas de rosca preta de plástico, sendo os mesmos passados por processo de esterilização antes da utilização para os testes.

Fonte: Produzido por meio da plataforma *BioRender* (versão livre – <https://biorender.com>). Elaborado pelo autor.

3.6.4 Teste de memória olfativa

No segundo momento o participante será estimulado por um segundo conjunto de estímulos compreendendo estímulos mistos do primeiro conjunto (2) com novos estímulos (2) intercalados, entretanto na segunda etapa do processo o indivíduo deve reconhecer se esse estímulo é um “velho” ou “novo” odorante (Figura 4).

Testes esses baseados no estudo de NAUDIN e ATANASOVA, 2014 onde utilizou-se odorantes conhecidos e não familiares do cotidiano do ser humano em pacientes com depressão e Alzheimer, para teste de codificação em um primeiro momento e na segunda etapa como teste de memória olfativa.

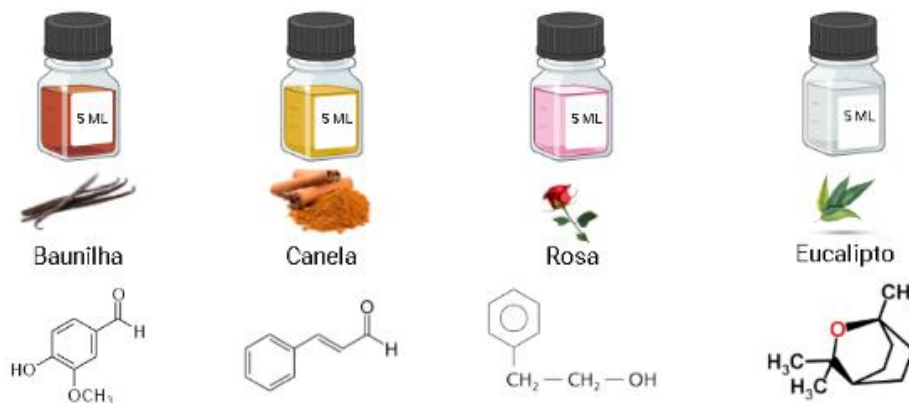


Figura 4. Representação gráfica do frasco utilizado como recipiente para as essências utilizadas na pesquisa, frascos com capacidade total de 5 ml cada. Frascos de vidro com tampas de rosca preta de plástico, sendo os mesmos passados por processo de esterilização antes da utilização para os testes.

Fonte: Produzido por meio da plataforma *BioRender* (versão livre – <https://biorender.com>). Elaborado pelo autor.

3.6.5 Teste de limiar olfatório

O limiar olfatório será avaliado usando 1 odorante (essência de canela em diluição com propilenoglicol) em um procedimento em escada, consistindo em 16 etapas de diluição com propilenoglicol (solvente inodoro e incolor) de uma escala de odorante puro apresentado no início até sua diluição por 16 vezes, onde na primeira diluição 36% (essência de canela) puro 64% solvente (propilenoglicol), 40% puro e 60% solvente e última diluição de 96% puro e 4% solvente (GELLRICH et al., 2019).

A realização do teste consiste em ser apresentado previamente ao voluntário da pesquisa, o odorante (canela) em sua forma pura e informado para o mesmo gravar o cheiro sentido, a identificação ou nomeação do odor não é necessária, logo após (1 minuto) o voluntário ambientar-se com o cheiro é iniciado em um método de 3 escolhas forçadas onde o primeiro frasco apresentado é a substância propilenoglicol no recipiente (inodoro), segundo frasco uma diluição de canela e propilenoglicol (34% canela+66%propilenoglicol) e o terceiro frasco a mesma substancia apresentada no primeiro, assim o participante tem por objetivo identificar em que momento sentiu o odorante administrado previamente como habituação. Sendo seguido de escala caso o paciente não consiga identificar.

Com objetivo de identificar limiar olfativo do paciente avaliado se sente algum odor ou não, para analisar a medida de uma concentração individual de um odorante em que metade dos estímulos olfativos são reconhecidos e a outra metade permanece não detectada.

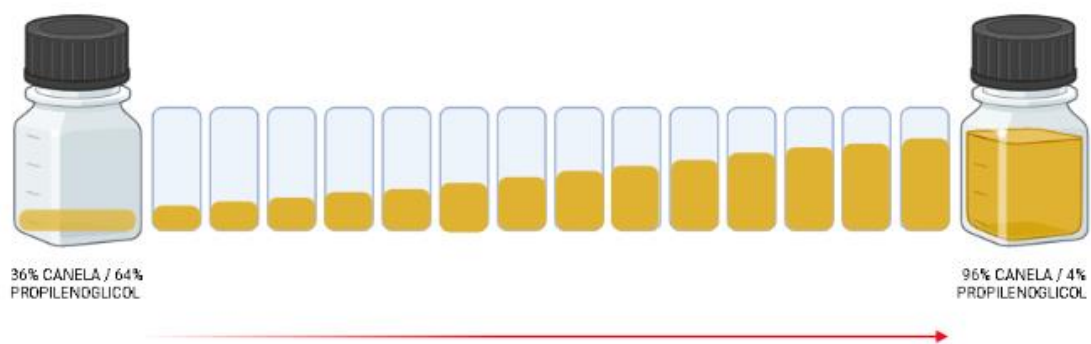


Figura 5. Representação gráfica da linha crescente dos limiares de canela com solvente de propilenoglicol, frascos com capacidade total de 5 ml cada. Frascos de vidro com tampas de rosca preta de plástico, sendo os mesmos passados por processo de esterilização antes da utilização para os testes. Soluções processadas no agitador de soluções para homogeneidade da substância.

Fonte: Produzido por meio da plataforma *BioRender* (versão livre – <https://biorender.com>). Elaborado pelo autor.

3.6.6 Teste de avaliação da sensação trigeminal

Teste de localização da sensação trigeminal, onde especificamente mede-se a capacidade de cada indivíduo de localizar um estímulo olfativo / trigêmeo misto, sendo realizado com o paciente de olhos vendados onde um frasco de polietileno (tubo de ensaio de plástico) volume total de 5ml preenchido com a substância (essência de lavanda) será apresentada a narina do paciente para que o mesmo identifique a narina que está sendo estimulada (sensação de resfriamento), na narina contralateral ao mesmo tempo será administrado um frasco idêntico cheio de uma substância inodora com que remete a nenhuma sensação trigeminal (HUMMEL et al., 2017; TREMBLAY; FRASNELLI, 2018).

Após cada estímulo os indivíduos/pacientes serão solicitados a identificar a sensação de resfriamento da narina onde o odorante foi apresentado (Figura 6).

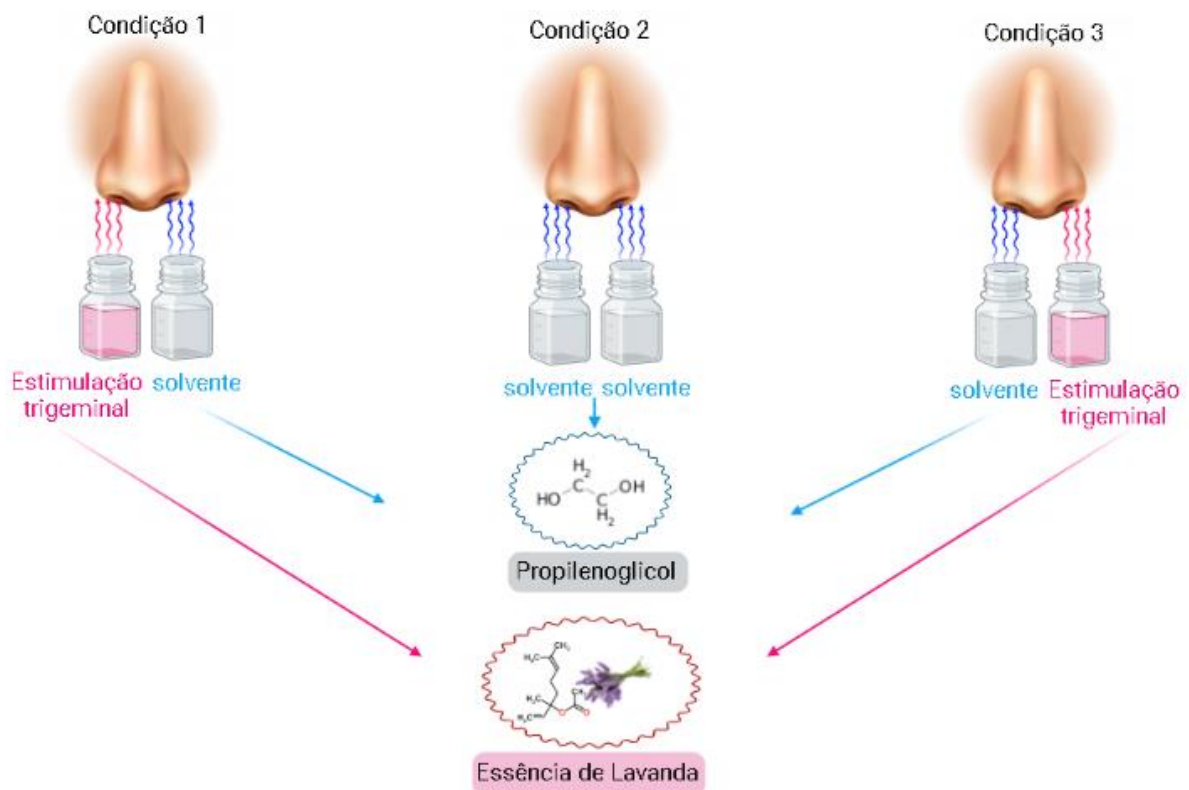


Figura 6. Representação gráfica das condições testadas por meio da avaliação da sensação trigeminal dos indivíduos participantes da pesquisa.

Fonte: Produzido por meio da plataforma *BioRender* (versão livre – <https://biorender.com>). Elaborado pelo autor.

3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística entre os dados obtidos foram comparados por meio do teste ANOVA com pós teste de tukey e teste T por meio do software Prisma e considerando o grau de significância de 95% ($p \leq 0,05$). Todos os dados serão expressos com média e desvio padrão

da média (DPM). Para os dados analisados realizou-se teste Shapiro-wilk para determinar a distribuição semelhante entre os dados

4 RESULTADOS

4.1 ANÁLISE GERAL DO TESTE DE IDENTIFICAÇÃO DE 4 ODORANTES DISTINTOS

Afim de evitar vieses representados por perda de olfato anteriormente a infecção por SARS-CoV-2, usamos grupo controle sem disfunção olfativa previamente diagnosticada, grupo infectado por SARS-CoV-2 sem disfunção olfativa previamente diagnosticada (Covid-sem) e grupo infectado por SARS-CoV-2 com disfunção olfativa previamente diagnosticada (Covid-com). Ambos os grupos infectados foram incluídos no estudo após serem avaliados por um questionário simples com auto relato de percepção de cheiro [pergunta: você tem dificuldade de sentir odores após infecção por SARS-CoV-2? resposta: sim ou não].

Para explorar as consequências da anosmia induzida por COVID-19 incluímos 44 indivíduos infectados com SARS-CoV2 na cidade de Belém (Pará, Brasil) entre outubro de 2020 a dezembro de 2021. Em paralelo, incluímos 44 indivíduos controle saudáveis não tiveram COVID-19 e sem disfunções olfatórias recorrentes. Nessa seleção dos pacientes COVID-19 é expresso predominantemente por indivíduos sem comorbidades, sem utilização de medicamentos. Foram ainda selecionados para o estudo tanto indivíduos do sexo masculino quanto feminino.

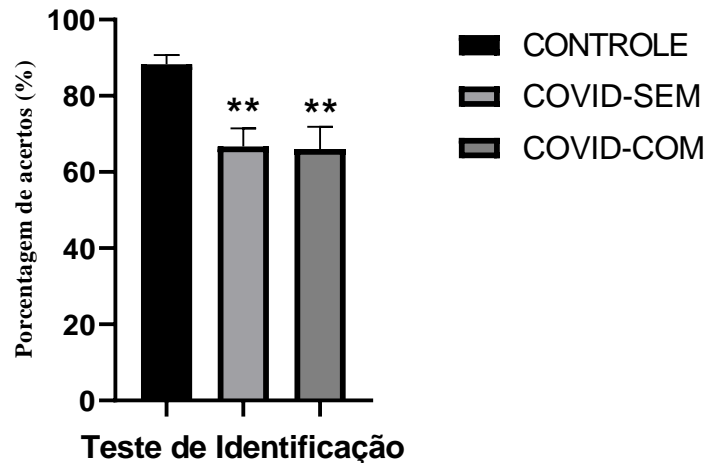


Figura 7. Gráfico de acertos do teste de identificação olfatória para análise geral 4 odorantes distintos. Os valores foram expressos como média \pm erro padrão da média (EPM). Os valores de p foram determinados por meio de anova de uma via seguida de pós teste de tukey; (*) indica $p \leq 0,05$, em comparação ao grupo controle

Identificamos a anosmia e hiposmia em pacientes que foram infectados por SARS-CoV2 no teste de identificação olfativa na análise geral de 4 odorantes distintos

4.2 TESTE DE IDENTIFICAÇÃO (ANÁLISE DE CADA ODORANTE ESPECÍFICO)

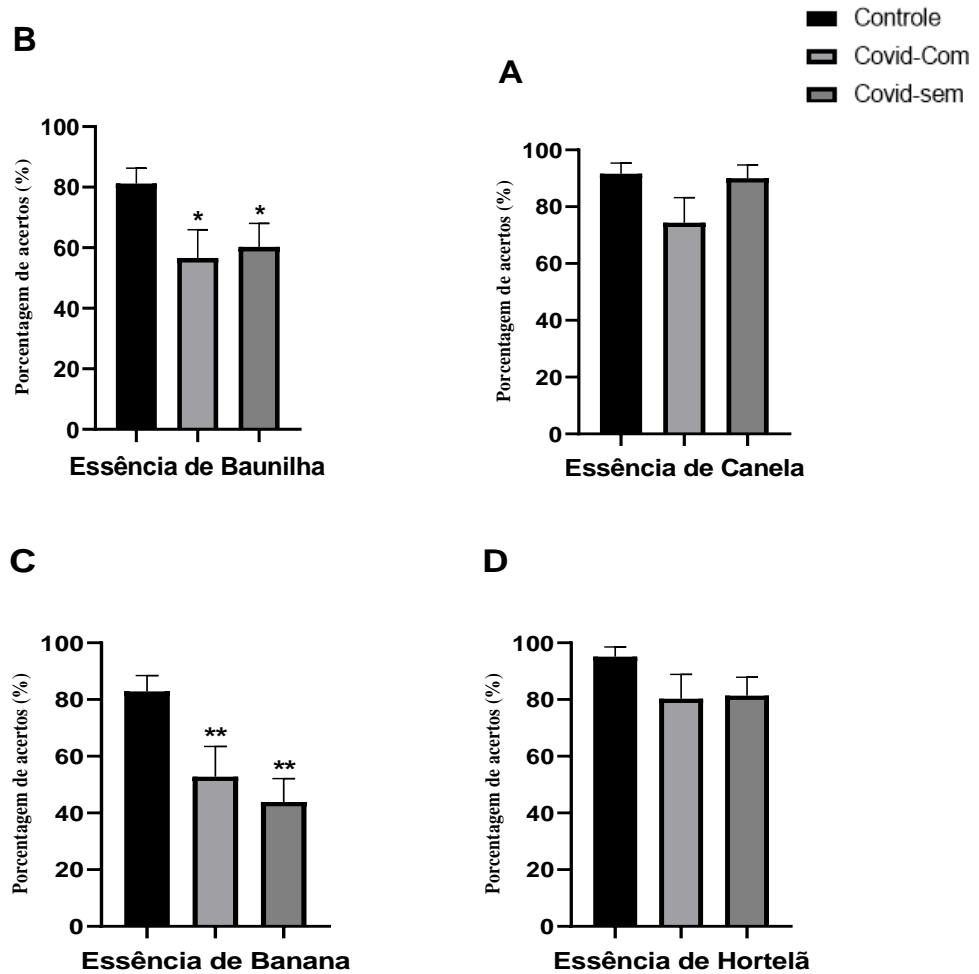


Figura 8. Perfil de acertos do teste de identificação olfatória de 4 odorantes distintos. A) Média em porcentagem de acertos essência de baunilha. B) Média em porcentagem de acertos essência de canela. C) Média em porcentagem de acertos essência de Banana. D) Média em porcentagem de acertos essência de Hortelã. Os valores foram expressos como média \pm erro padrão da média (EPM). Os valores de p foram determinados por meio de anova de uma via seguida de pós teste de tukey; (*) indica $p \leq 0,05$, em comparação ao grupo controle.

A média de acertos no teste de identificação olfativa analisando cada odorante em específico introduzido no teste é mostrado na Figura 8. COVID-com e COVID-sem. Significativo a análise da essência de baunilha e banana na comparação controle e grupos COVIDs e não significativo na comparação entre grupos os 2 grupos COVIDs para a essência de banana, $p < 0,02$. Entretanto, os outros 2 odorantes analisados de forma separadas não demonstraram resultados significativos quando comparados ao grupo controle saudável.

4.3 MEMÓRIA OLFATIVA DE CURTO PRAZO

Avaliamos o desempenho da memória olfativa dos indivíduos que foram infectados por SARSCOV2. Os pacientes com Covid-com e Covid-sem não foram capazes de identificar os odorantes incluídos na pesquisa em um pequeno espaço de tempo para avaliar memória olfativa de curta duração, onde se demonstra diferença estatística entre os grupos (Figura 9)

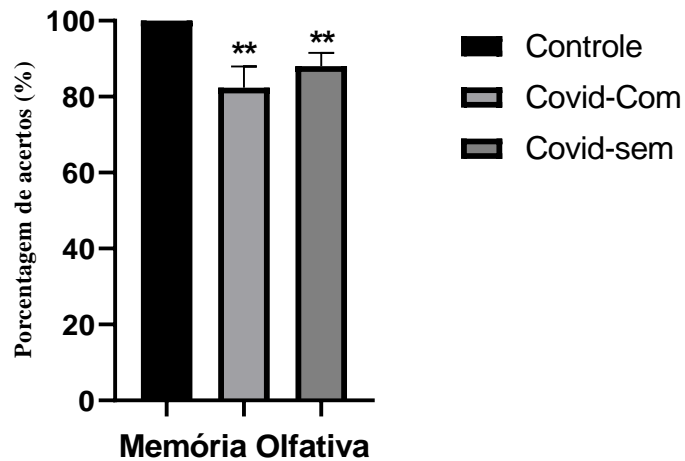


Figura 9. Gráfico de acertos do teste de memória olfativa de curto prazo com 4 odorantes, 2 novos e 2 odorantes já conhecidos. Significativo nas múltiplas comparações, controle vs. COVID-com $p < 0,0002$ e controle vs. COVID-sem $p < 0,007$. Não significativo na comparação entre grupo COVID-com vs. COVID-sem. Anova de uma via seguida de pós teste de tukey; $p \leq 0,05$; (**) indica $p < 0,01$, em comparação ao grupo controle.

4.4 TESTE DE LIMIAR OLFATÓRIO

O padrão de limiar olfatório dos indivíduos testados é mostrado na figura. 4. A maioria dos pacientes com COVID-19-com não conseguiram identificar o odorante apresentado no teste em concentrações baixas sendo alguns dos mesmos não identificando em nenhum dos limiares apresentados. Sendo diferentemente dos médias de pontuação em acerto dos grupos controle e COVID-sem. Nossos dados foram provenientes de 88 pacientes, dos quais 44 (controle) e 44 (COVID-com e COVID-sem) foram analisados no estudo (Figura 10)

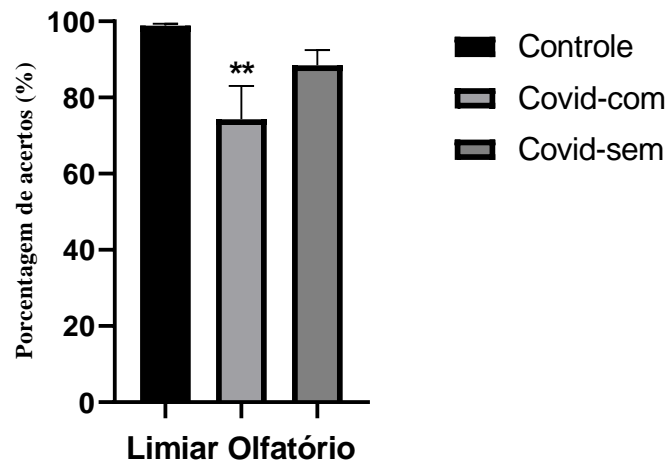


Figura 10. Gráfico de acertos do teste de limiar olfativo com 16 escalas de diluição da essência de canela. Os valores foram expressos como média \pm erro padrão da média (EPM). Os valores de p foram determinados por meio de anova de uma via seguida de pós teste de tukey; (**) indica $p < 0,01$, em comparação ao grupo controle

4.5 TESTE DE SENSAÇÃO DA FUNÇÃO NASAL TRIGEMINAL (RESFRIAMENTO)

Encontramos que os pacientes COVID-19-com e COVID-sem não identificaram a sensação de resfriamento quando comparados a controles saudáveis, esses resultados demonstram que além de pacientes já serem identificados com comprometimentos nasais e trigeminais, os mesmos encontram-se com características de perdas específicas como a sensação de resfriamento observada pelos nossos resultados (Figura 11).

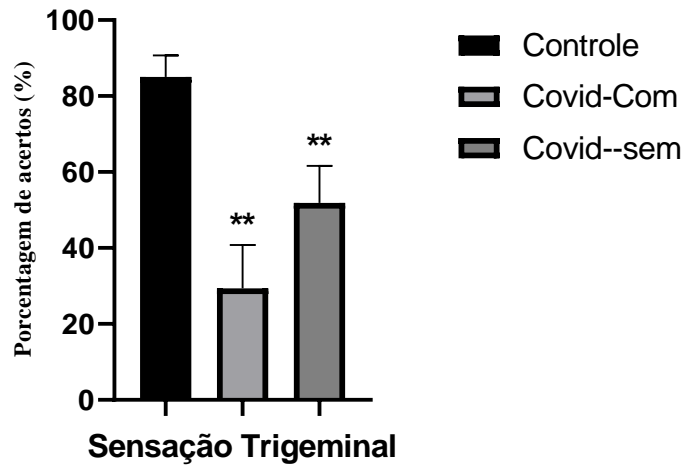


Figura 11. Gráfico de acertos do teste de sensação trigeminal olfativo com estimulação de sensação de resfriamento. Os valores foram expressos como média \pm erro padrão da média (EPM). Os valores de p foram determinados por meio de anova de uma via seguida de pós teste de tukey; (**) indica $p < 0,01$, em comparação ao grupo controle.

4.6 JANELA COVID LONGO

ANÁLISE GERAL COVID CURTO, PÓS AGUDO E CRÔNICO

Os pacientes foram analisados também no teste de identificação olfativa análise geral quanto ao período de tempo em que se encontravam desde a infecção pelo SARSCOV2 (perda olfatória) até o momento em que foram avaliados, assim foram classificados em linha temporal da patologia, para então serem analisados em CoVID-curto (1 a até 3 semanas), CoVID-pós agudo (3 a até 12 semanas) e CoVID-crônico (acima de 12 semanas). E os resultados demonstraram que em todos os 3 períodos da janela analisada foram significativos os erros quando comparados ao grupo controle sendo mais evidente a significância no período curto e crônico (Figura 12).

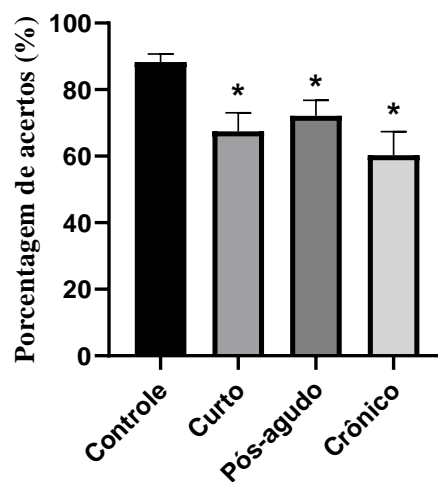


Figura 12. Gráfico de acertos do teste de identificação olfatória para análise geral 4 odorantes distintos na janela de COVID longo. Os valores foram expressos como média \pm erro padrão da média (EPM). Os valores de p foram determinados por meio do teste t; (*) indica $p \leq 0,05$, em comparação ao grupo controle.

4.7 TESTE DE IDENTIFICAÇÃO ANÁLISE POR ESSÊNCIA (COVID CURTO)

Na análise do período curto sendo comparado ao grupo controle, quando observado cada essência separada, foi evidenciado diferença significativa nas essências de baunilha e hortelã no período da janela de 1 a 3 semanas após os primeiros sintomas de perda olfatória.(Figura 13).

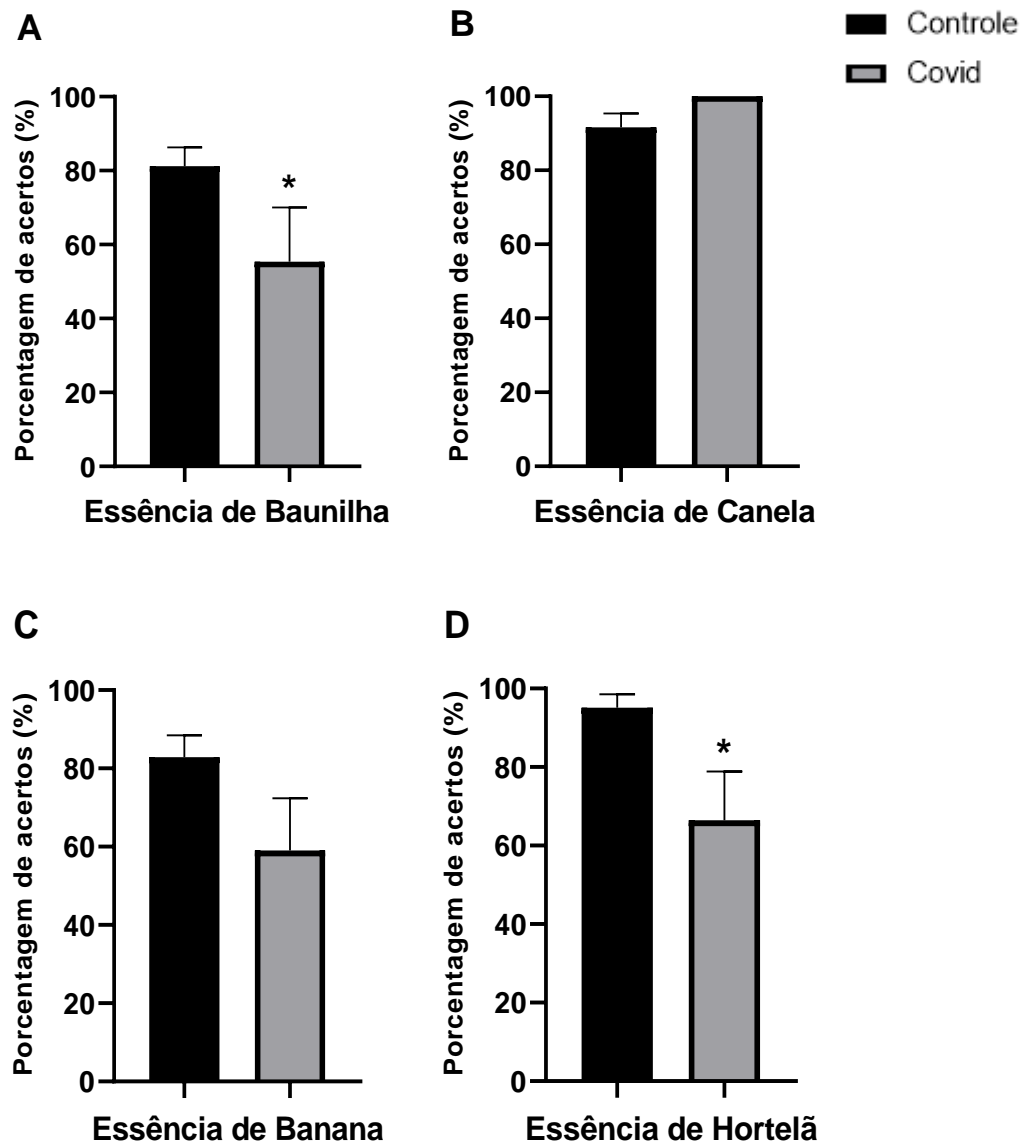


Figura 13. Gráficos de acertos do teste de identificação olfatória de 4 odorantes distintos, janela COVID-curto A) Média em porcentagem de acertos essência de baunilha. B) Média em porcentagem de acertos essência de canela. C) Média em porcentagem de acertos essência de Banana. D) Média em porcentagem de acertos essência de Hortelã. Os valores foram expressos como média \pm erro padrão da média (EPM). Os valores de p foram determinados por meio do teste t; (*) indica $p \leq 0,05$, em comparação ao grupo controle.

4.8 TESTE DE IDENTIFICAÇÃO ANÁLISE POR ESSÊNCIA (COVID PÓS-AGUDO)

Na análise do período pós agudo sendo comparado ao grupo controle, quando observado cada essência separada, foi evidenciado diferença significativa apenas na essência de banana período esse da janela de 3 a 12 semanas após os primeiros sintomas de perda olfatória. (Figura 14).

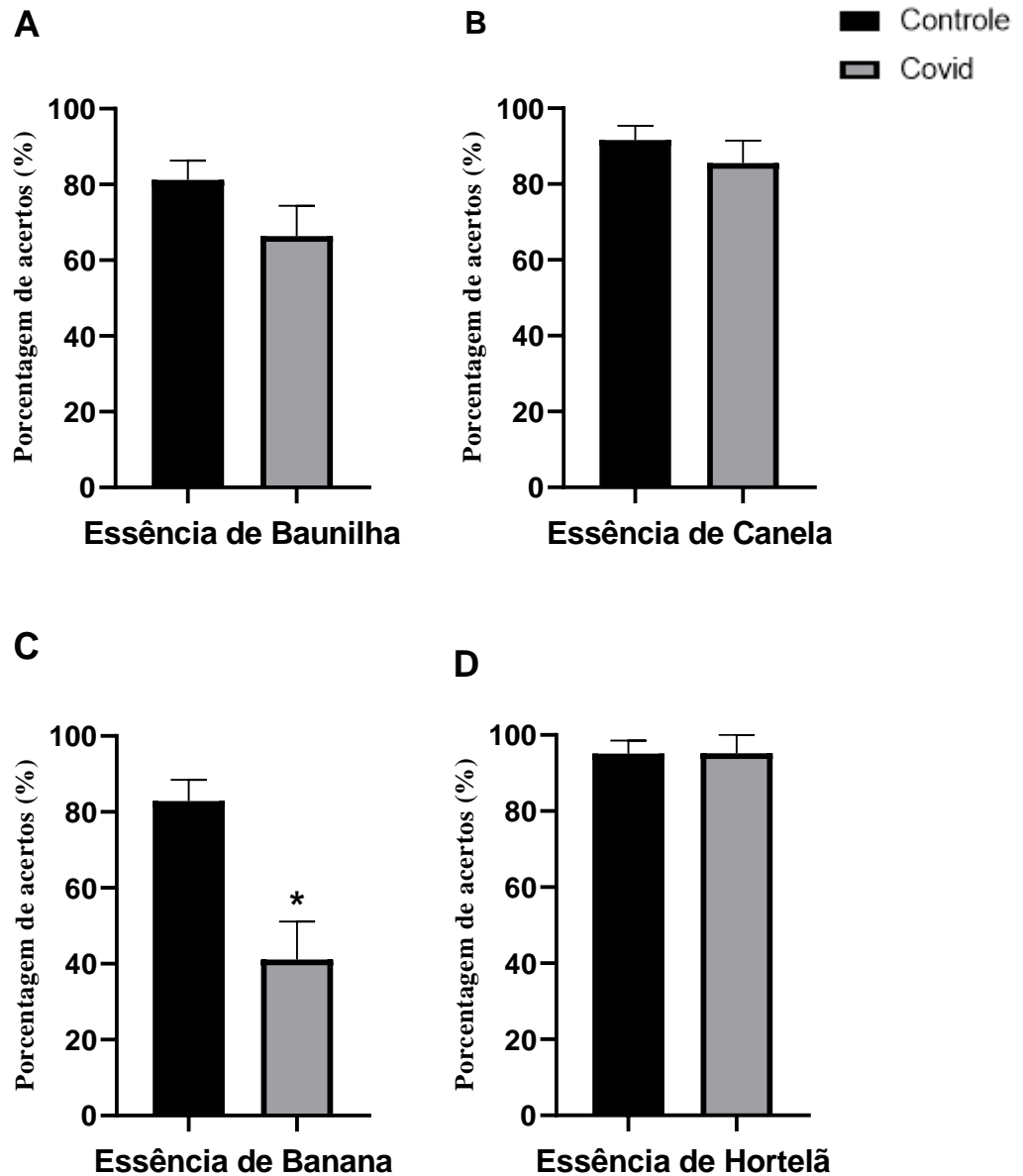


Figura 14 . Gráficos de acertos do teste de identificação olfatória de 4 odorantes distintos, janela COVID-pós agudo A) Média em porcentagem de acertos essência de baunilha. B) Média em porcentagem de acertos essência de canela. C) Média em porcentagem de acertos essência de Banana. D) Média em porcentagem de acertos essência de Hortelã. Os valores foram expressos como média \pm erro padrão da média (EPM). Os valores de p foram determinados por meio do teste t; (*) indica $p \leq 0,05$, em comparação ao grupo controle.

4.9 TESTE DE IDENTIFICAÇÃO ANÁLISE POR ESSÊNCIA (COVID CRÔNICO)

Na análise do período crônico grupo COVID sendo comparado ao grupo controle, quando observado cada essência separada, foi evidenciado diferença significativa em todas as essências utilizadas no estudo de período esse da janela de 3 a 12 semanas após os primeiros sintomas de perda olfatória, denotando-se que se o paciente persiste com os sintomas por um longo período o mesmo demonstra características mais contundentes de perda olfatória (Figura 15).

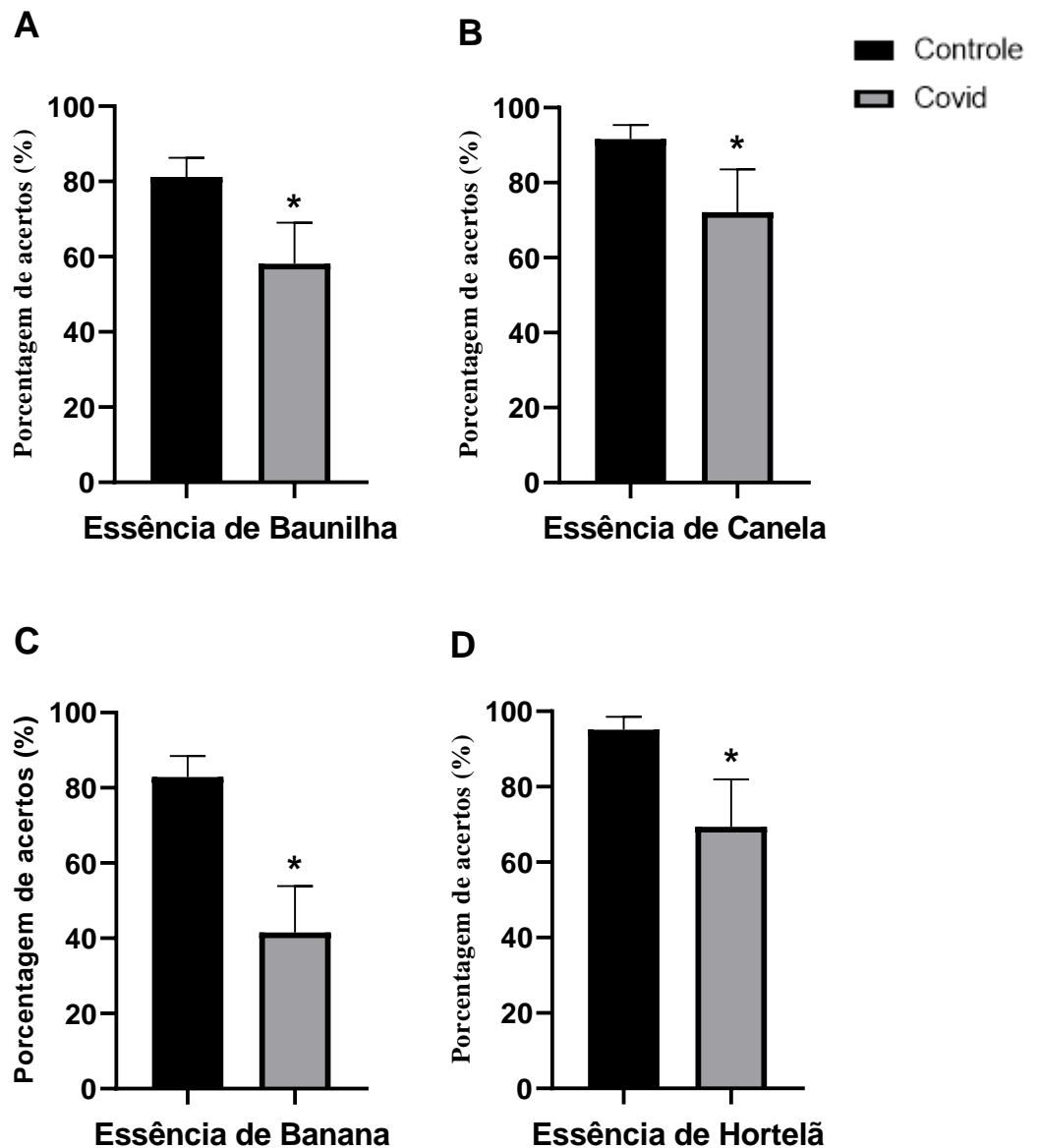


Figura 15. Gráficos de acertos do teste de identificação olfatória de 4 odorantes distintos, janela COVID-crônico A) Média em porcentagem de acertos essência de baunilha. B) Média em porcentagem de acertos essência de canela. C) Média em porcentagem de acertos essência de Banana. D) Média em porcentagem de acertos essência de Hortelã. Os valores foram expressos como média \pm erro padrão da média (EPM). Os valores de p foram determinados por meio do teste t; (*) indica $p \leq 0,05$, em comparação ao grupo controle.

DISCUSSÃO

Aqui revelamos que a seletividade olfativa por meio de testes olfativos psicofísicos, demonstrou ser um aspecto encontrado em pacientes que foram infectados pelo SARS-COV-2, sejam eles indivíduos com COVID-19 e sem histórico de doenças nasais anteriormente ao período da infecção pelo vírus e indivíduos com doenças nasais já relatadas ou diagnosticadas anteriormente ao período da doença, foi denotado que pacientes com COVID-19 (COVID-com e COVID-sem) foram seletivos na identificação de determinados odorantes no primeiro teste realizado (identificação) além disso, em uma análise geral não conseguiram identificar corretamente os odorantes administrados. Probabilidade de serem diagnosticados classificados como anósmicos ou hipósmicos.

Em uma análise detalhada dos quatro odorantes apresentados os pacientes positivos para COVID-19 apresentaram incapacidade para identificar essências de Baunilha e Banana entre os quatro odorantes utilizados no primeiro teste, os resultados do nosso estudo sugerem que a seletividade olfativa é um sinal discriminante para COVID -19 status quando a perda do olfato é medida usando um teste olfativo psicofísico. Por outro lado, diferentes estudos, utilizando as várias metodologias caracterizaram os pacientes com anosmia sem seletividade, no presente estudo encontramos as diferenças na seletividade e especificidades desta patologia (HORNUSS et al., 2020; CHIU et al., 2021; LE BON et al., 2021). Além disso, as propriedades bioativas dos óleos essenciais utilizados na formação olfativa foram completamente ignoradas até agora, os óleos essenciais e suas propriedades bioativas podem ser utilizadas na formação olfativa devido às diferenças dos constituintes químicos e seus efeitos olfativos agonistas.

Horn e colaboradores (2020) que avaliaram as características clínicas dos pacientes evidenciando anosmia como um dos sinais característicos desses pacientes , entretanto os mesmos apenas demonstraram, diferentemente do presente estudo os mesmos não especificam as características dessa perda olfatória como demonstrado na perda olfatória caracterizado pelos nossos achados, onde utilizamos diferente óleos essenciais com propriedades bioativas diferentes, estimulando diversas vias dos neurônios olfatórios com especificidades para cada grupo de óleo essencial utilizado, demonstrando que os pacientes estão seletivos a odorantes específicos em uma análise de cada odorante analisado, sendo demonstrado que odorantes como canela e banana foram as essências com dificuldades de identificação dos pacientes que foram infectados por SARSCOV2.

Ainda assim Le Bon e colaboradores (2021) identificaram por meio de testes psicofísicos as diferenças entre pacientes infectados por SARSCOV2 e controle saudáveis evidenciado mais de estudos que apenas demonstraram as características superficiais desse

grupo estudado, sendo um estudo prospectivo que encontrou a anosmia e hiposmia como sinal que perdura nesses pacientes, entretanto por sua vez traz apenas sinais específicos sem características que esses pacientes desenvolvem.

Como Marshall, 2021, menciona é importante dizer, que os seres humanos carregam memórias olfativas durante suas vidas. Na tentativa de demonstrar a integridade da memória olfativa de curto prazo em pacientes com COVID-19 que perderam temporariamente ou por um período prolongado, nosso resultado mostrou uma alteração da memória olfativa de curto prazo nesses pacientes.

Corroborando com nossos resultados, a memória de curto prazo olfativa é afetada em pacientes infectados com SARS-COV-2, Meinhardt et al. citocinas (IL-6, IL1 CCL2, CCL8 CXCL2, CXCL8, CXCL9 e CXCL16) que invadem o sistema nervoso central como um possível ponto de entrada com evidências muito fortes (BLANCO-MELO et al., 2020; MEINHARDT et al., 2021; RYU; SHIN, 2021). Provavelmente, as citocinas podem estar alterando o nicho dos receptores olfativos.

Para o teste de memória olfativa de curta duração foi visível e significativo os resultados para os erros sendo mais apresentados no grupo CoVID-19 quando comparado ao controle saudável ($p < 0,0001$) revelando um déficit de memória olfativa de curta duração nos pacientes com CoVID-19 avaliados pelo estudo.

No limiar olfativo dos pacientes CoVID-19 comparado com controles saudáveis foi observado diferenças de percepção entre os grupos, enquanto o grupo controle percebeu os limiares da essência de canela em diluições altas com propilenoglicol, o grupo CoVID-19 identificou em alguns casos em concentrações mais altas de essência de canela ou mesmo sem identificação em nenhum dos limiares apresentado, como o caso de 3 voluntários da pesquisa.

Estudos anteriores relataram comprometimento da sensação nasal trigeminal pós-infeciosa no COVID-19 pacientes (GREEN, 2020; PARMA et al., 2020). Em nosso estudo encontramos que os pacientes COVID-19-com e COVID-sem não identificaram a sensação de resfriamento quando comparados a controles saudáveis, esses resultados demonstram que além de pacientes já serem identificados com comprometimentos nasais e trigeminais, os mesmos encontra-se com características de perdas específicas como a sensação de resfriamento observada pelos nossos resultados.

Recentemente demonstrado por Ferreli e colaboradores 2021, pacientes com COVID-19 demonstraram ter perda da sensação trigeminal, entretanto dados expressos pelo *Sniffin' Sticks Test*, teste esse com especificidade do cheiro expelido por uma caneta com sensação de mentol, em contrapartida nossos dados confirmaram os resultados por meio de tetes com

odorantes em forma de essência por meio do teste de abertura de essência. Nosso estudo demonstrou diferenças tanto em pacientes com COVID-com quanto em COVID-sem quando comparados a indivíduos saudáveis, porém não havendo diferença entre os grupos com a patologia (Figura 9).

Ainda assim, testes com maior detalhamento e maior atenção à função nasal trigeminal necessitam serem realizados, pois demonstramos apenas resultados para a sensação de resfriamento, sendo apenas uma das diversas funções do sistema nasal trigeminal.

Investigações de perda de função olfativa associada a COVID-19 em pacientes que sofreram com a patologia, com sequelas olfativas após o período de replicação viral, já foi demonstrado por Melo *et al* 2021, que vários tipos de células do neuroepitélio olfatório são infectados durante o período agudo da infecção, neste momento em que a perda do olfato manifesta hiposmia / anosmia prolongada. Amostras citológicas da mucosa olfatória coletadas de pacientes agudos ou crônicos com COVID-19 com perda da função olfatória revelaram a presença do SARS-CoV-2 em 100% dos pacientes, enquanto o vírus não foi detectado por RT-qPCR realizado na inclusão em esfregaços nasofaríngeos convencionais (MELO et al., 2021).

Em uma análise de cerca de um ano com pacientes em diferentes estágios de COVID longa, com perda olfatória proveniente pelo SARSCoV2, pacientes com sequelas de COVID-19 prolongada não conseguiram identificar todos os odorantes administrados no experimento de identificação olfativa quando comparados a indivíduos saudáveis. Nossos resultados sugerem que os mesmos se prolongam na perda olfatória e que a mesma tem características específicas quanto as vias de transdução de sinais odoríferas que podem estar afetadas.

No teste de identificação utilizando-se de 4 odorantes específicos com vias olfativas diferentes estimuladas, identificou que, os pacientes com COVID-19 curta sejam eles com disfunção olfatória (rinite, sinusite, desvio de septo) anteriormente ao período da pandemia ou pacientes com COVID que nunca tiveram disfunções olfatórias alguma, os mesmos não conseguiram identificar 2 odorantes específicos entre os 4 testados (essência de baunilha e hortelã) (Figura 11) quando comparados a controles saudáveis que identificaram todos os 4 odorantes utilizados no teste de identificação olfatória.

Entretanto o presente estudo demonstra o prolongamento do período de perda olfativa desses pacientes onde encontra-se nos atuais resultados que os pacientes classificados como CoVID pós agudo e CoVID crônico ainda persistem com perda olfatória total ou parcial (Anosmia e Hiposmia), sendo esses resultados corroborados pelo estudo de Le-bom e colaboradores 2020, onde encontrou em seus estudos resultados de pacientes com perdas totais

ou parciais da capacidade olfativa alterada em pacientes com CoVID-19 até 5 semanas após os primeiros sintomas relatados pelos pacientes.

No entanto trazendo uma outra abordagem, percebemos que os pacientes após período curto ou prolongado ainda mantêm as sequelas olfatórias não conseguindo identificar determinados odores, dessa forma começamos a evidenciar que há uma seletividade por odorantes de características mais fáceis de identificar serem percebidos, enquanto se mostra que outros como essência de banana e baunilha terem mais pessoas que sofreram com a perda olfatória não conseguem identificar após 3 tentativas.

Vale salientar que os odorantes escolhidos no presente estudo foram selecionados por características de reconhecimento da população usada no experimento, no estudo de Sorokowska e colaboradores 2018, os autores mostram que olfato e seu papel podem variar inter-individual e culturalmente, ou seja características da cultura podem influenciar no sentido do olfato daquele indivíduo, sendo determinados odorantes mais específicos de reconhecimento de acordo com sua cultura de cheiros.

Complementando as características das escolhas odoríferas, considerou-se avaliar diferentes vias utilizando diferentes famílias odoríferas, onde a especificidade da escolha da essência demonstrou estimulação diferente dos demais odorantes. As especificidades para estimulação de diferentes vias são demonstradas nos estudos de Arzi; Sobel, 2011 e Bolding; Franks, 2019, que observou que as moléculas odoríferas inaladas agem em subconjuntos de neurônios sensoriais, cada um expressando um tipo único de receptor odorante.

No entanto, sabe-se que os odores pertencem a famílias distintas para identificação no sistema olfativo, além disso, tudo tem suas complexas vias e redes de codificação neural específicas para odorantes ou redes não específicas para odorantes (Kitazono, et al., 2017).

Também é importante ressaltar que resultados preliminares mostram que há um número maior de pessoas com comorbidade nasal antes da infecção por COVID-19, que tiveram perda temporária ou prolongada do olfato (anosmia ou hiposmia). Vale ressaltar a importância deste estudo para pacientes que buscam atendimento por disfunção olfatória persistente e solicitam indicações prognósticas, o fato de criar uma linha de raciocínio clínico para possibilidades de tratamento para pessoas com sequelas de covid-19

Por conseguinte, utilizamos os odorantes (Baunilha, Canela, Banana e Hortelã) com características químicas diferentes entre si que dessa forma correspondessem a estímulos diferentes em neurônios sensoriais que convergem para locais de um dos dois locais de espelho, glomérulos, no mapa do bulbo olfatório, a região responsável por armazenar e fazer contato

com sinápticos neurônios mitrais e tufos (IMAI; SAKANO; VOSSHALL, 2010; MURTHY, 2011).

Abordando esse viés se os pacientes se encontram com perda olfatória seletiva, pois o manejo terapêutico para o possível tratamento para a sequela deixada pela COVID-19 passe por ai por conta de ter em mãos dados que demonstrem se de fato há uma seletividade para determinados odorantes em questão, pois como estudos de Bedaque et al 2020 retratam que o manejo terapêutico para essa disfunção passe por um treinamento com odorantes selecionados para trazer de volta a integridade olfativa do indivíduo novamente (BEDAQUE et al., 2020).

Importante ressaltar também a evidencia pelos resultados preliminares o maior número de pessoas com já alguma doença nasal antecedente ao COVID-19 em pacientes que foram acometidos pelo vírus e ficaram transitoriamente ou por um período prolongado com perda do olfato (anosmia ou hiposmia).

Vale salientar a importância do estudo para pacientes que procuram atendimento para disfunção olfativa persistente e solicitam indicações prognósticas, o fato de se criar uma linha de raciocínio clínico para possibilidades de tratamento para pessoas com sequelas da covid-19 como o caso de perda sensibilidade olfatória transitória curta ou prolongada, onde sabemos que o sistema olfativo é uma integração de grupos de receptores que são estimulados de maneiras diferentes dependentes do odorante que o estimula. Ao mesmo tempo soma-se a isso a atenção especial à função nasal trigeminal, identificação de sensação resfriamento trigeminal do paciente para que seja aplicado ao tratamento de estimulação para retorno da integridade do sistema.

CONCLUSÃO

Conclui-se então que os resultados encontrados demonstram haver uma seletividade olfativa nos indivíduos testados quanto a identificação de 4 odorantes específicos administrados no primeiro teste da pesquisa, dessa forma, a infecção por SARS-CoV-2 pode estar promovendo uma disfunção olfativa que afeta a percepção do odor de banana, bem como a característica de longo prazo afetada, como memória olfativa, limiar olfativo e sensação de resfriamento da função nasal trigeminal que o COVID-19 gera em pacientes. Compreender a característica da perda olfativa que a COVID-19 gera a longo prazo nos pacientes pode fornecer pistas para intervenções terapêuticas destinadas a prevenir, aliviar ou curar a disfunção olfativa a longo prazo na COVID-19. As propriedades bioativas dos óleos essenciais usados no treinamento do olfato foram completamente ignoradas até agora, os óleos essenciais e suas propriedades bioativas e diferenças podem ser usados no treinamento olfativo, por terem diferenças de seus constituintes químicos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARZI, Anat; SOBEL, Noam. Olfactory perception as a compass for olfactory neural maps. **Trends in Cognitive Sciences**, 15, 11, 537–545, 2011.

AUFFARTH, Benjamin; GUTIERREZ-GALVEZ, Agustín; MARCO, Santiago. Statistical Analysis of Coding for Molecular Properties in the Olfactory Bulb. **Frontiers in Systems Neuroscience**, 5, 2011.

BEYERSTEDT S, CASARO EB, RANGEL ÉB. COVID-19: angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) expression and tissue susceptibility to SARS-CoV-2 infection. **Eur J Clin Microbiol Infect Dis**. 2021 May;40(5):905-919. doi: 10.1007/s10096-020-04138-6. Epub 2021 Jan 3. PMID: 33389262; PMCID: PMC7778857.

BLANCO-MELO, Daniel; NILSSON-PAYANT, Benjamin E.; LIU, Wen-Chun; *et al.* Imbalanced Host Response to SARS-CoV-2 Drives Development of COVID-19. **Cell**, 181, 5, 1036-1045.e9, 2020.

BOLDING, Kevin A; FRANKS, Kevin M. Recurrent cortical circuits implement concentration-invariant odor coding. 30, 2019.

BRODIN, Petter. Immune determinants of COVID-19 disease presentation and severity. **Nature Medicine**, 27, 1, 28–33, 2021.

BUCK, Linda B. Unraveling the Sense of Smell (Nobel Lecture). **Angewandte Chemie International Edition**, 44, 38, 6128–6140, 2005.

CHAMS, Nour; CHAMS, Sana; BADRAN, Reina; *et al.* COVID-19: A Multidisciplinary Review. **Frontiers in Public Health**, 8, 383, 2020.

CHIU, Andrew; FISCHBEIN, Nancy; WINTERMARK, Max; *et al.* COVID-19-induced anosmia associated with olfactory bulb atrophy. **Neuroradiology**, 63, 1, 147–148, 2021.

CLELAND, Thomas A.; JOHNSON, Brett A.; LEON, Michael; *et al.* Relational representation in the olfactory system. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 104, 6, 1953–1958, 2007.

- DABANCH, Jeannette. Emergencia de sars-cov-2. Aspectos básicos sobre su origen, epidemiología, estructura y patogenia para clínicos. **Revista Médica Clínica Las Condes**, 32, 1, 14–19, 2021.
- DE ALMEIDA, Mônica Moura; FREIRE, Gutemberg L; DE FREITAS, Regina. Implantação E Avaliação Da Prática: “Cansando O Olfato”. 2011.
- DE MELO, Guilherme Dias; LAZARINI, Françoise; LEVALLOIS, Sylvain; *et al.* COVID-19–related anosmia is associated with viral persistence and inflammation in human olfactory epithelium and brain infection in hamsters. **Science Translational Medicine**, 13, 596, eabf8396, 2021.
- DEVANAND, D. P.; LEE, S.; MANLY, J.; *et al.* Olfactory deficits predict cognitive decline and Alzheimer dementia in an urban community. **Neurology**, 84, 2, 182–189, 2015.
- FERRELI, Fabio; DI BARI, Matteo; GAINO, Francesca; *et al.* Trigeminal features in COVID-19 patients with smell impairment. **International Forum of Allergy & Rhinology**, 11, 8, 1253–1255, 2021.
- FJAELDSTAD, Alexander. Testing olfactory function and mapping the structural olfactory networks in the brain. 20, .
- GELLRICH, Janine; SPARING-PASCHKE, Lisa-Marie; THIEME, Theresa; *et al.* Normative data for olfactory threshold and odor identification in children and adolescents. **International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology**, 123, 5–9, 2019.
- GREEN, Barry G. Surveying Chemosensory Dysfunction in COVID-19. **Chemical Senses**, 45, 7, 509–511, 2020.
- GUPTA, Sonal; RAGHUWANSHI, Gourav Singh; CHANDA, Arnab. Effect of weather on COVID-19 spread in the US: A prediction model for India in 2020. **Science of The Total Environment**, 728, 138860, 2020.
- HEDNER, Margareta; LARSSON, Maria; ARNOLD, Nancy; *et al.* Cognitive factors in odor detection, odor discrimination, and odor identification tasks. **Journal of Clinical and Experimental Neuropsychology**, 32, 10, 1062–1067, 2010.

HORNUNG, David E. Nasal Anatomy and the Sense of Smell. *In*: HUMMEL, T.; WELGE-LÜSSEN, A. (Orgs.). **Advances in Oto-Rhino-Laryngology**. Basel: KARGER, 2006, 63, 1–22.

ESPOSITO. Human Brain Mapping – 2022. Olfactory loss and brain connectivity after COVID-19.pdf.

HUMMEL, T.; WHITCROFT, K.L.; ANDREWS, P.; *et al.* Position paper on olfactory dysfunction. **Rhinology journal**, 54, 26, 1–30, 2017.

HORNUSS, D. *et al.* Anosmia in COVID-19 patients. **Clinical Microbiology and Infection**, 26, 10, 1426–1427, out. 2020.

KABBANI N, OLDS JL (2020) Does COVID19 infect the brain? If so, smokers might be at a higher risk. **Molecular Pharmacology** 97: 351–353

KHAN, Amish M.; KALLOGJERI, Dorina; PICCIRILLO, Jay F. Growing Public Health Concern of COVID-19 Chronic Olfactory Dysfunction. **JAMA Otolaryngology–Head & Neck Surgery**, 148, 1, 81, 2022.

KITAZONO, Tomohiro; HARA-KUGE, Sayuri; MATSUDA, Osamu; *et al.* Multiple Signaling Pathways Coordinately Regulate Forgetting of Olfactory Adaptation through Control of Sensory Responses in *Caenorhabditis elegans*. **The Journal of Neuroscience**, 37, 42, 10240–10251, 2017.

KOYAMA, S.; KONDO, K.; UEHA, R.; KASHIWADANI, H.; HEINBOCKEL, T. Possible Use of Phytochemicals for Recovery from COVID-19-Induced Anosmia and Ageusia. **Int. J. Mol. Sci.** 2021, 22, 8912. <https://doi.org/10.3390/ijms22168912>

LE BON, Serge-Daniel; PISARSKI, Nathalie; VERBEKE, Justine; *et al.* Psychophysical evaluation of chemosensory functions 5 weeks after olfactory loss due to COVID-19: a prospective cohort study on 72 patients. **European Archives of Oto-Rhino-Laryngology**, 278, 1, 101–108, 2021.

LUERS, Jan C; ROKOHL, Alexander C; LORECK, Niklas; *et al.* Olfactory and Gustatory Dysfunction in Coronavirus Disease 19 (COVID-19). 10.

LUKASSEN S, CHUA RL, TREFZER T, KAHN NC, SCHNEIDER MA, MULEY T, WINTER H, MEISTER M, VEITH C, BOOTS AW, HENNIG BP, KREUTER M, CONRAD C, EILS R (2020) SARS-CoV-2 receptor ACE2 and TMPRSS2 are primarily expressed in bronchial transient secretory cells. **The EMBO Journal** 39:e105114–e105114

MAINLAND, Joel; SOBEL, Noam. The Sniff Is Part of the Olfactory Percept. **Chemical Senses**, 31, 2, 181–196, 2006.

MARESH, Alison; RODRIGUEZ GIL, Diego; WHITMAN, Mary C.; *et al.* Principles of Glomerular Organization in the Human Olfactory Bulb – Implications for Odor Processing. **PLoS ONE**, 3, 7, e2640, 2008.

MARIN, Concepció; VILAS, Dolores; LANGDON, Cristóbal; *et al.* Olfactory Dysfunction in Neurodegenerative Diseases. **Current Allergy and Asthma Reports**, 18, 8, 42, 2018.

MARSHALL, Michael. COVID'S TOLL ON SMELL AND TASTE: WHAT SCIENTISTS KNOW. 2021.

MEINHARDT, Jenny; RADKE, Josefine; DITTMAYER, Carsten; *et al.* Olfactory transmucosal SARS-CoV-2 invasion as a port of central nervous system entry in individuals with COVID-19. **Nature Neuroscience**, 24, 2, 168–175, 2021.

MOHAMADIAN, Malihe; CHITI, Hossein; SHOGHLI, Alireza; *et al.* COVID-19: Virology, biology and novel laboratory diagnosis. **The Journal of Gene Medicine**, 23, 2, 2021.

PARMA, V. *et al.* More Than Smell—COVID-19 Is Associated With Severe Impairment of Smell, Taste, and Chemesthesis. **Chemical Senses**, 45, 7, 609–622, 9 out. 2020.

NAUDIN, Marine; ATANASOVA, Boriana. Olfactory markers of depression and Alzheimer's disease. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, 45, 262–270, 2014.

PALLANTI, Stefano. Importance of SARS-Cov-2 anosmia: From phenomenology to neurobiology. **Comprehensive Psychiatry**, 100, 152184, 2020.

PASCARELLA, Giuseppe; STRUMIA, Alessandro; PILIEGO, Chiara; *et al.* COVID-19 diagnosis and management: a comprehensive review. **Journal of Internal Medicine**, 288, 2, 192–206, 2020.

QIAO, Jialu; LI, Weiling; BAO, Jian; *et al.* The expression of SARS-CoV-2 receptor ACE2 and CD147, and protease TMPRSS2 in human and mouse brain cells and mouse brain tissues. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, 533, 4, 867–871, 2020.

RAVEENDRAN, A.V.; JAYADEVAN, Rajeev; SASHIDHARAN, S. Long COVID: An overview. **Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews**, 15, 3, 869–875, 2021.

RYU, Gwanghui; SHIN, Hyun-Woo. SARS-CoV-2 Infection of Airway Epithelial Cells. **Immune Network**, 21, 1, e3, 2021.

SCADDING, Glenis; HELTINGS, Peter; ALOBID, Isam; *et al.* Diagnostic tools in Rhinology EAACI position paper. **Clinical and Translational Allergy**, 1, 1, 2, 2011.

SCANGAS, G.A.; BLEIER, B.S. Anosmia: Differential diagnosis, evaluation, and management. **University of Lethbridge Library IP: 185.106.104.183 On: Sun, 19 Feb 2017 15:41:47**

SMITH, Timothy D.; BHATNAGAR, Kunwar P. Anatomy of the olfactory system. *In: Handbook of Clinical Neurology*. [s.l.]: Elsevier, 2019, 164, 17–28.

SOROKOWSKA, A.; ALBRECHT, E.; HUMMEL, T. Reading first or smelling first? Effects of presentation order on odor identification. **Attention, Perception, & Psychophysics**, 77, 3, 731–736, 2015.

SOROKOWSKA, Agnieszka; GROYECKA, Agata; KARWOWSKI, Maciej; *et al.* Global Study of Social Odor Awareness. **Chemical Senses**, 43, 7, 503–513, 2018.

TREMBLAY, Cécilia; FRASNELLI, Johannes. Olfactory and Trigeminal Systems Interact in the Periphery. **Chemical Senses**, 43, 8, 611–616, 2018.

UBEDA-BAÑÓN, Isabel; SAIZ-SANCHEZ, Daniel; FLORES-CUADRADO, Alicia; *et al.* The human olfactory system in two proteinopathies: Alzheimer’s and Parkinson’s diseases. **Translational Neurodegeneration**, 9, 1, 22, 2020.

WITH, Martin. Anatomy and development of the human taste system. *In: Handbook of Clinical Neurology*. Elsevier, 2019, 164, 147–171. >.

ZAMORANO CUERVO, Natalia; GRANDVAUX, Nathalie. ACE2: Evidence of role as entry receptor for SARS-CoV-2 and implications in comorbidities. **eLife**, 9, e61390, 2020.

ZAZHYTSKA, Marianna; KODRA, Albana; HOAGLAND, Daisy A.; *et al.* Non-cell-autonomous disruption of nuclear architecture as a potential cause of COVID-19-induced anosmia. **Cell**, 185, 6, 1052-1064.e12, 2022.