



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
FACULDADE DE MEDICINA DA BAHIA - FMB
Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde
Largo do Terreiro de Jesus – Pelourinho
Tel.: (71) 3283-5582 FAX: (71) 3283-5567
www.possaude.ufba.br E-mail: pos.saude@ufba.br



LORENA PINHEIRO FIGUEIREDO

EFEITOS DO TREINAMENTO OLFATÓRIO E DO ÁCIDO ALFA-LIPOICO NA PERDA DE OLFATO PÓS-COVID-19: UM ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO

Metadados da Tese de Doutorado

Salvador

2023

Ficha catalográfica
Bibliotheca Gonçalo Moniz
Sistema Universitário de Bibliotecas
Universidade Federal da Bahia

Figueiredo, Lorena Pinheiro.

F475 Efeitos do treinamento olfatório e do ácido alfa-lipoico na perda de olfato
Pós-Covid-19: um ensaio clínico randomizado/ Lorena Pinheiro Figueiredo – 2023.

57 f.: il.

Orientador: Prof. Dr. Marcus Miranda Lessa.

Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Ciências da
Saúde, Faculdade de Medicina da Bahia, Universidade Federal da Bahia,
Salvador, 2023.

1. COVID-19. 2. Transtornos do olfato. 3. Síndrome Pós-COVID-19 aguda.
4. Treinamento olfativo. 5. Ácido Tióctico. I. Lessa, Marcus Miranda. II. Universidade
Federal da Bahia. Faculdade de Medicina da Bahia. III. Título.



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
FACULDADE DE MEDICINA DA BAHIA - FMB
Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde
Largo do Terreiro de Jesus – Pelourinho
Tel.: (71) 3283-5582 FAX: (71) 3283-5567
www.possaude.ufba.br E-mail: pos.saude@ufba.br



EFEITOS DO TREINAMENTO OLFATÓRIO E DO ÁCIDO ALFA-LIPOICO NA PERDA DE OLFATO PÓS-COVID-19: UM ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO

LORENA PINHEIRO FIGUEIREDO

Professor-orientador: MARCUS MIRANDA LESSA

Tese apresentada ao Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Faculdade de Medicina da Universidade Federal da Bahia, como requisito obrigatório para a obtenção do grau de Doutora em Ciências da Saúde, da área de concentração Pesquisa Clínica.

Salvador, Bahia, 2023

COMISSÃO EXAMINADORA:

Membros titulares:

Marcus Miranda Lessa, Professor Associado-doutor da Disciplina de Otorrinolaringologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal da Bahia e Chefe da Unidade Cérvico-Facial do Hospital Universitário Professor Edgard Santos da Universidade Federal da Bahia.

Marco Aurélio Fornazieri, Professor Adjunto-doutor de Otorrinolaringologia da Universidade Estadual de Londrina (UEL) e Professor Adjunto-Doutor Nível II na Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR - Campus Londrina).

Clara Mônica Figueredo de Lima, Professora Adjunta-doutora da Universidade Federal do Sul da Bahia e Pesquisadora do Serviço de Imunologia – UFBA.

Jamary Oliveira Filho, Professor Titular de Neurociências do Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Bahia e Orientador do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde (PPgCS) da Faculdade de Medicina da Bahia/UFBA.

Natasha Mascarenhas Andrade Braga, Professora Adjunta-doutora da Disciplina de Otorrinolaringologia da Faculdade de Medicina da UFBA e Médica Assistente do Programa de Residência Médica em Otorrinolaringologia da Universidade Federal da Bahia.

Membro suplente:

Magno Conceição das Mercês, Professor Doutor do Departamento de Ciências da Vida da Universidade do Estado da Bahia (UNEB). Docente Permanente do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde (PPgCS) da Faculdade de Medicina da Bahia/UFBA e do Mestrado Profissional em Saúde Coletiva da UNEB. Professor e Tutor do Programa de Residência Multiprofissional em Saúde da UNEB.



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
Faculdade de Medicina da Bahia
Programa de Pós-graduação em Ciências da
Saúde

Largo do Terreiro de Jesus, s/n. Centro
Histórico 40.026-010 Salvador, Bahia,
Brasil.



LORENA PINHEIRO FIGUEIREDO

**Efeitos do Ácido Alfa-lipoico e do Treinamento Olfatório nas Perdas de Olfato
Pós-COVID-19: um Ensaio Clínico Randomizado.**

Tese apresentada como requisito para obtenção do grau de Doutor em Ciências da Saúde do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal da Bahia.

Aprovada em: 07/12/2023

Banca Examinadora

Documento assinado digitalmente
gov.br **MARCUS MIRANDA LESSA**
Data: 21/03/2024 15:23:57-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Marcus Miranda Lessa
Doutor em Otorrinolaringologia
Universidade Federal da
Bahia/UFBA (Orientador)

Documento assinado digitalmente
gov.br **JAMARY OLIVEIRA FILHO**
Data: 25/03/2024 09:06:09-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Jamary Oliveira Filho
Doutor em Neurologia
Universidade Federal da Bahia/UFBA

Documento assinado digitalmente
gov.br **NATASHA MASCARENHAS ANDRADE BRAGA**
Data: 02/04/2024 00:05:24-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Natasha Mascarenhas Andrade Braga
Doutora em Otorrinolaringologia Universidade Federal da Bahia/UFBA

Documento assinado digitalmente
 **CLARA MONICA FIGUEREDO DE LIMA**
Data: 27/03/2024 21:35:43-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Clara Mônica Figueredo de Lima
Doutora em Ciências da Saúde
Universidade Federal do Sudoeste da Bahia/
UFSB

Documento assinado digitalmente
 **MARCO AURELIO FORNAZIERI**
Data: 21/03/2024 11:41:18-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Marco Aurélio Fornazieri
Doutor em Medicina
Pontifícia Universidade Católica do Paraná - PUC/PR

Dedico este trabalho à memória de minha mãe Ivonete, que sonhou por mim voos tão altos e partiu antes de me ver defendendo esta Tese.

FONTES DE FINANCIAMENTO

1. Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)- Ministério da Educação- Governo Federal (Brasil)

AGRADECIMENTOS:

À Equipe:

Prof. Dr. Marcus Miranda Lessa

Paulo Victor dos Santos Lima Paim

Prof. Dra. Margarida Costa Neves

Aos colegas:

Dr. Thiago Cerqueira Silva

Aos estudantes da Liga de Otorrinolaringologia e Fonoaudiologia da Bahia (LAORL)

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)- Ministério da Educação- Governo Federal (Brasil)

SUMÁRIO

Índice de figuras, quadros, tabelas e gráficos.	12
I. Resumo	14
II. Objetivos	15
III. Introdução	16
IV. Revisão da Literatura	18
IV.1 Anatomia e Fisiologia do Olfato	18
IV.2 A COVID-19	24
IV.3 COVID-19 e o olfato	25
IV.3.1 Epidemiologia	25
IV.3.2 Fisiopatologia	26
IV.3.3 Características clínicas da perda de olfato na COVID-19	30
IV.4 Instrumentos de avaliação do olfato	30
IV.4.1 Escala visual analógica	31
IV.4.2 Teste de Connecticut	32
IV.5 Manejo das perdas de olfato na era pré-COVID-19	34
IV.6 Treinamento olfatório e suas bases	35
IV. 6.1 Treinamento olfatório na perda de olfato pós-COVID-19	37
IV.7 O ácido alfa-lipoico.....	38
IV.7.1 Ácido alfa-lipoico e suas evidências em olfato	40
IV. 7.2 Ácido alfa-lipoico e COVID-19	40
V. Metodologia do Estudo	40
V.1 Desenho de estudo	40
V.2 Critérios de inclusão	41
V.3 Critérios de exclusão	41
V.4 Avaliação clínica dos pacientes	41
V5. Aferição da função olfatória	41
V.6 Protocolo de intervenção	42
V.7 Desfechos primários	43
V.8 Tamanho amostral	43

V.9 Análise estatística	43
VI. Resultados	44
VII. Discussão	51
VIII. Propostas de Estudo	52
IX. Conclusões	52
X. Referências Bibliográficas	54

ÍNDICE DE FIGURAS, QUADROS, TABELAS E GRÁFICOS

FIGURAS

FIGURA I. Cavidade nasal em plano sagital.	19
FIGURA II. Neuroepitélio olfatório e sua lâmina própria compondo a mucosa olfatória	20
FIGURA III. Representação esquemática da recepção das moléculas odoríferas pelos neurônios olfatórios e a transdução do estímulo elétrico até o bulbo olfatório	21
FIGURA IV. Via central da olfação	22
FIGURA V. Córtex olfatório	23
FIGURA VI. Estrutura viral do SARS-CoV-2.....	27
FIGURA VII. Interação do SARS-CoV-2 ao ACE-2, após ativação da proteína spike (S) pelo TMPRSS2	28
FIGURA VIII. Escala visual analógica	32
FIGURA IX. Número de publicações sobre tratamento de perda de olfato indexadas no Pubmed	35
FIGURA X. Treinamento olfatório clássico	37
FIGURA XI. Estrutura molecular do ácido alfa-lipoico	39
FIGURA 1. Fluxograma CONSORT	45
FIGURAS 2. Distribuição gráfica da classificação olfatória inicial	49
FIGURA 3. Distribuição gráfica da classificação olfatória final	49
FIGURA 4. Boxplot com a evolução do score de Connecticut nos dois grupos	50

QUADROS

QUADRO I. Tecidos e células humanas com expressão de ACE-2	34
---	----

TABELAS

TABELA 1. Características clínicas e demográficas dos grupos intervenção e comparação.....46

TABELA 2. Comparação da evolução olfatória baseado no Teste de Connecticut e EVA dos grupos intervenção e comparação.....47

TABELA 3. Desfecho terapêutico dos pacientes do estudo48

I. RESUMO

EFEITOS DO TREINAMENTO OLFATÓRIO E DO ÁCIDO ALFA-LIPOICO NA PERDA DE OLFATO PÓS-COVID-19: UM ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO. A perda de olfato é uma reconhecida e desafiadora disfunção apresentada por pacientes acometidos por COVID-19. **Objetivos:** Avaliar o efeito do ácido alfa-lipoico como adjuvante do treinamento olfatório na recuperação da perda de olfato em pacientes pós-COVID-19, através de um ensaio clínico randomizado. **Métodos:** Este estudo incluiu 128 pacientes com perda de olfato pós-COVID-19 persistente por mais de 12 semanas. Os participantes foram alocados aleatoriamente para dois grupos, intervenção e comparação, para receber treinamento olfatório associado a ácido alfa-lipoico ou a placebo, respectivamente, durante 12 semanas. A disfunção olfatória dos pacientes foi avaliada por meio da escala visual analógica (EVA) e do teste Connecticut Chemossensory Clinical Research Center (CCCRC) adaptado para a população brasileira. **Resultados:** Um total de 100 participantes completaram o período de acompanhamento e foram analisados neste estudo. Ambos os grupos melhoraram o escore CCCRC ($p=0,000$), limiar olfativo ($p=0,000$), escore de identificação ($p=0,000$) e escore EVA ($p=0,000$) 12 semanas após o tratamento. Nenhuma diferença significativa foi determinada entre os grupos de intervenção e comparação no escore CCCRC ($p=0,63$), limiar olfatório ($p=0,50$), escore de identificação ($p=0,96$) e escore EVA ($p=0,97$). Em todos esses critérios, o grupo de comparação foi um pouco pior. No final do estudo, a frequência de anosmia reduziu para 2% no grupo intervenção e para 7,8% no grupo comparação, enquanto 16,8% dos sujeitos da intervenção e 15,7% dos pacientes do grupo de comparação atingiram a normosmia. **Conclusões:** No geral, houve uma diferença fortemente significativa na função olfativa entre a linha de base e a conclusão do estudo para ambos os grupos. No entanto, como não houve diferença significativa entre os grupos intervenção e comparação, nosso estudo aponta que o ácido alfa-lipoico não é eficaz para tratar a perda de olfato pós-COVID-19.

Palavras-chave: COVID-19, ácido tióctico, transtornos do olfato, treinamento olfativo, síndrome pós-COVID-19 aguda

II. OBJETIVOS

PRINCIPAL

Avaliar o efeito do ácido alfa-lipoico como adjuvante do treinamento olfatório na recuperação da perda de olfato em pacientes pós-COVID-19, através de um ensaio clínico randomizado.

SECUNDÁRIOS

Avaliar a melhora objetiva do distúrbio olfatório pós-COVID-19 após 12 semanas de tratamento, através da aplicação do teste de Connecticut;

Avaliar a melhora subjetiva dos pacientes com perda de olfato pós-COVID-19, utilizando a escala visual analógica;

III. INTRODUÇÃO

O advento da COVID-19 e sua propagação mundial a partir de 2020 trouxeram desafios sanitários, econômicos e sociais em escala planetária. A população viveu uma situação globalmente inédita para toda essa geração: a primeira pandemia do século.

Além de todo o impacto na saúde pública mundial, que precisou enfrentar a nova doença e se debruçar sobre sua fisiopatologia, sua forma de transmissão e sua prevenção, foi necessário enfrentar duramente os efeitos agudos da doença. A Síndrome Respiratória Aguda Grave era uma complicação muito temida e não havia preditores claros de quem seriam os principais acometidos. À medida que os estudos avançavam, os grupos de risco para adoecimento grave foram ficando mais definidos. Concomitantemente, a ciência acelerava as pesquisas para a produção de vacinas.

Em meio a tantos desafios, uma queixa despontou como importante sintoma preditor de COVID-19: as perdas de olfato. Na prática do Otorrinolaringologista, apesar de serem frequentes em doenças respiratórias agudas na era pré-COVID-19, perder o olfato era uma característica autolimitada daquelas doenças. Não havia impactos ou prejuízos duradouros à saúde humana.

A COVID-19 trouxe um cenário diferente. A perda do olfato acometia uma parcela muito significativa dos pacientes afetados pela doença. Dentro desse cenário, a grande peculiaridade era o fato de uma parcela de pacientes não recuperar o olfato após a remissão da COVID-19.

O primeiro alerta associando perda de olfato à COVID-19 foi publicado em 21 de março de 2020, pela Sociedade Britânica de Otorrinolaringologia (ENT UK), comandada pela Profa. Claire Hopkins. Na época, o foco da publicação foi anunciar a perda de olfato como um frequente sintoma, importante para rastreamento de assintomáticos, a fim de fortalecer o bloqueio contra a disseminação da doença.

Não foi possível evitar os mais de 556 milhões de casos de COVID-19 pelo mundo e os mais de 37 milhões no Brasil. Não foi possível evitar que a perda de olfato atingisse tantas pessoas ao mesmo tempo. Felizmente, a grande maioria se recuperou de forma espontânea e auto-limitada. Contudo, existe ainda hoje um enorme contingente de pessoas que não

conseguem sentir o cheiro da comida, as ameaças gasosas do ambiente e o cheiro dos seus próprios filhos depois da COVID-19.

O treinamento olfatório já era uma ferramenta com bons resultados na recuperação do olfato na era pré-pandemia. O ácido alfa-lipoico também mostrou resultados encorajadores. O objetivo deste estudo é avaliar a eficácia do treinamento olfatório em associação ao ácido alfa-lipoico na recuperação da perda de olfato pós-COVID-19 e contribuir com o esclarecimento desta lacuna de conhecimento.

IV. REVISÃO DA LITERATURA

IV. 1 Anatomia e Fisiologia do Olfato

Em comparação aos outros sentidos (visão, paladar, tato e audição), o olfato é o mais primitivo entre eles (Smith, 2019). Em humanos, esse sentido provê segurança, nutrição, prazer e bem-estar geral (Pinto, 2011).

O olfato é composto de estruturas periféricas, que são o epitélio olfatório e os feixes de axônios dos neurônios olfatórios, e de estruturas centrais como o bulbo olfatório e seus feixes nervosos compondo o trato olfatório.

Na espécie humana, o epitélio olfatório localiza-se no teto da cavidade nasal, abaixo da lâmina cribiforme, na superfície medial da concha nasal superior e na porção superior do septo nasal, ocupando de 1 a 2 cm³ em cada cavidade. (FIGURA I). O epitélio olfatório é formado por 10-20 milhões de neurônios localizados entre outras células, tais como as células microvilares, as células de sustentação, as células basais e as glândulas de Bowman. Epitélio olfatório e lâmina própria, formam a mucosa olfatória. (FIGURA II)

As glândulas de Bowman são responsáveis pela produção de muco rico em imunoglobulinas A e M, lisozima, lactoferrina e proteínas de ligação a agentes odoríferos. As células basais ou *stem cells* têm a capacidade de se diferenciar em neurônios maduros e substituir os neurônios perdidos por inflamação, infecção ou agentes químicos. As células de sustentação, por sua vez, fornecem um suporte físico e metabólico para as demais células, em especial ao neurônio olfatório. Por fim, as células microvilares, ainda não têm função definida.

FIGURA I- Cavidade nasal em plano sagital.

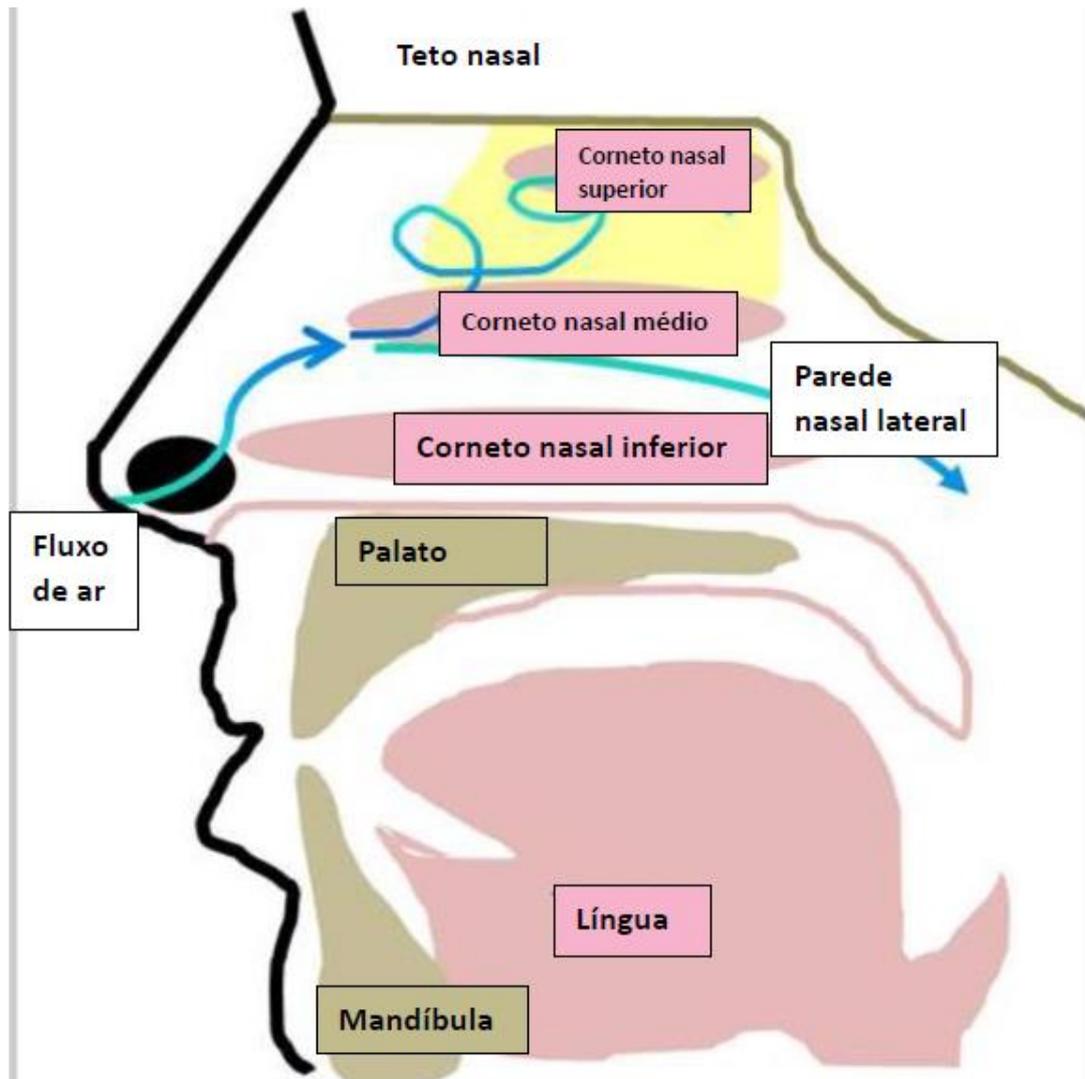
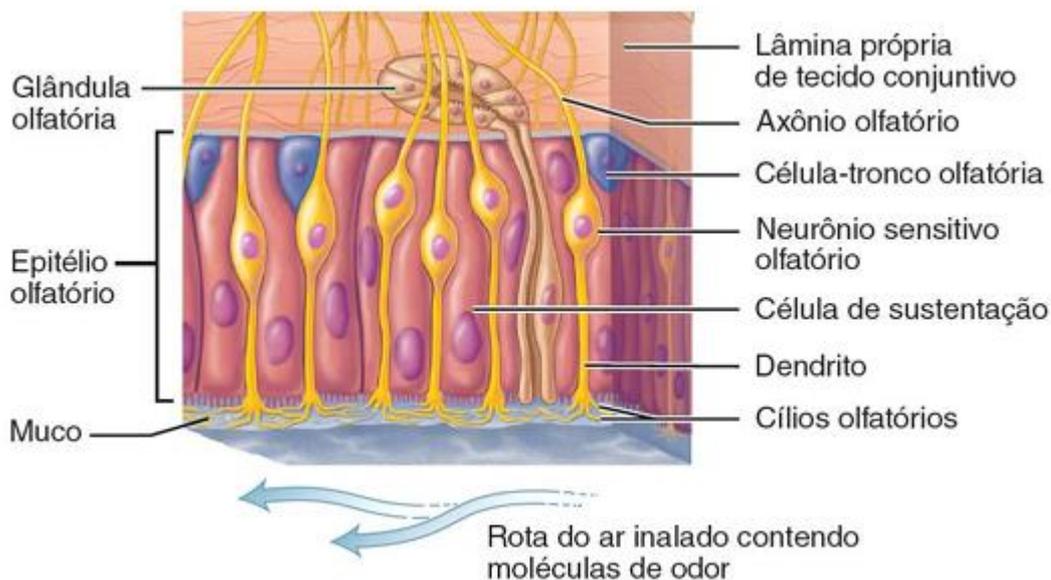


Figura I: Neuroepitélio olfatório (em amarelo) presente na face medial do corneto nasal superior, do corneto nasal médio, na placa cribiforme do teto nasal e na porção superior do septo nasal (não mostrado nessa figura).

Fonte: adaptado de Pinto, Jayant M. Olfaction. *Proceedings of the American Thoracic Society* 8,1 (2011): 46-52.

FIGURA II- Neuroepitélio olfatório e sua lâmina própria compoendo a mucosa olfatória



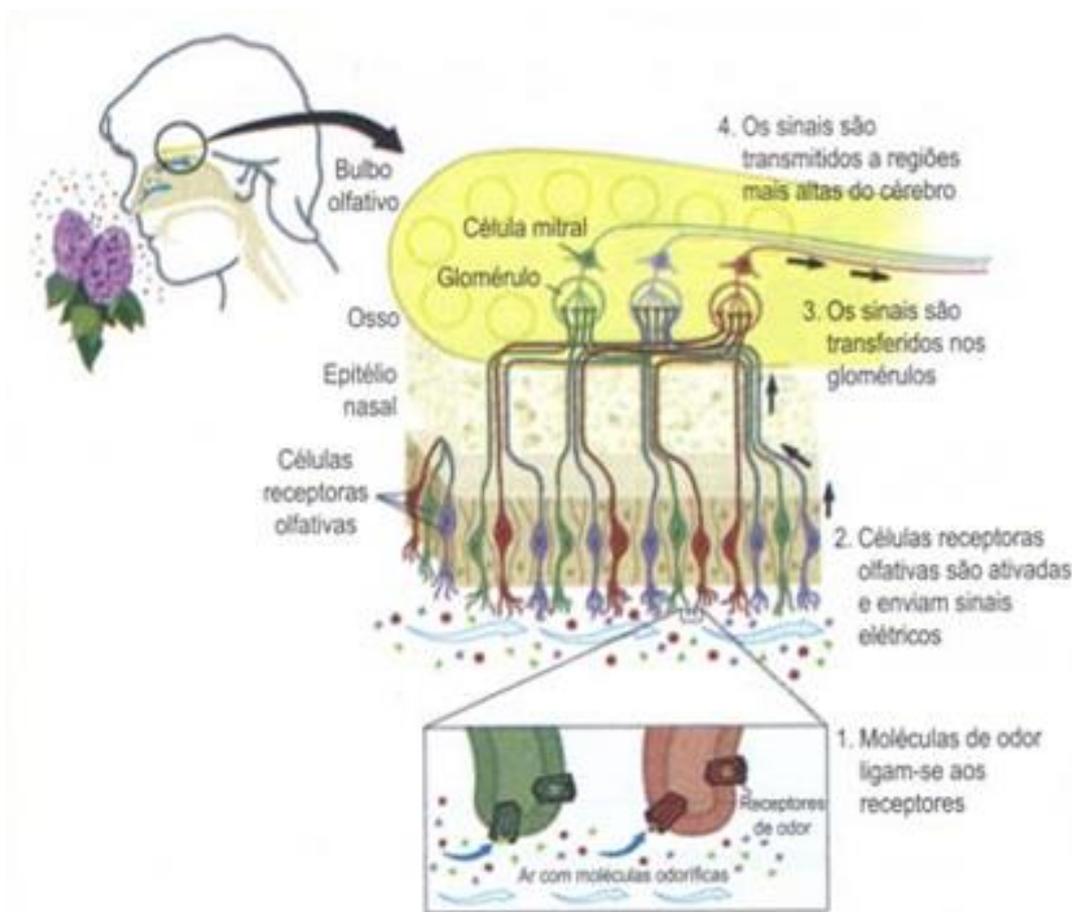
Fonte: Luiza da Silva Lopes- Neuroanatomia do sistema olfatório. edisciplinas.usp.br acessado em 05/08/2023

Os dendritos do neurônio olfatório apresentam uma dilatação chamada de vesícula olfatória, de onde se originam 15 a 20 cílios sensoriais que se projetam pela camada de muco. Cada neurônio expressa uma única proteína de ligação com moléculas odoríferas, tendo uma relação de chave-fechadura com cada molécula química odorífera diferente.

Na lâmina própria, grupos de axônios dos neurônios olfatórios com o mesmo padrão de proteína de ligação a moléculas odoríferas se organizam em feixes ou fascículos que atravessam a lâmina cribriforme do osso etmoide. Cada feixe de axônios é responsável por um subtipo de cheiro e se direciona para um glomérulo do bulbo olfatório ipsilateral. (FIGURA III)

Assim, a subida de um odor até a área olfatória no teto nasal ativa um conjunto específico de receptores com base em sua composição química. Os glomérulos correspondentes do bulbo olfatório são ativados, criando um padrão único de excitação no bulbo para cada odorante.

FIGURA III- Representação esquemática da recepção das moléculas odoríferas pelos neurônios olfatórios e a transdução do estímulo elétrico até o bulbo olfatório.



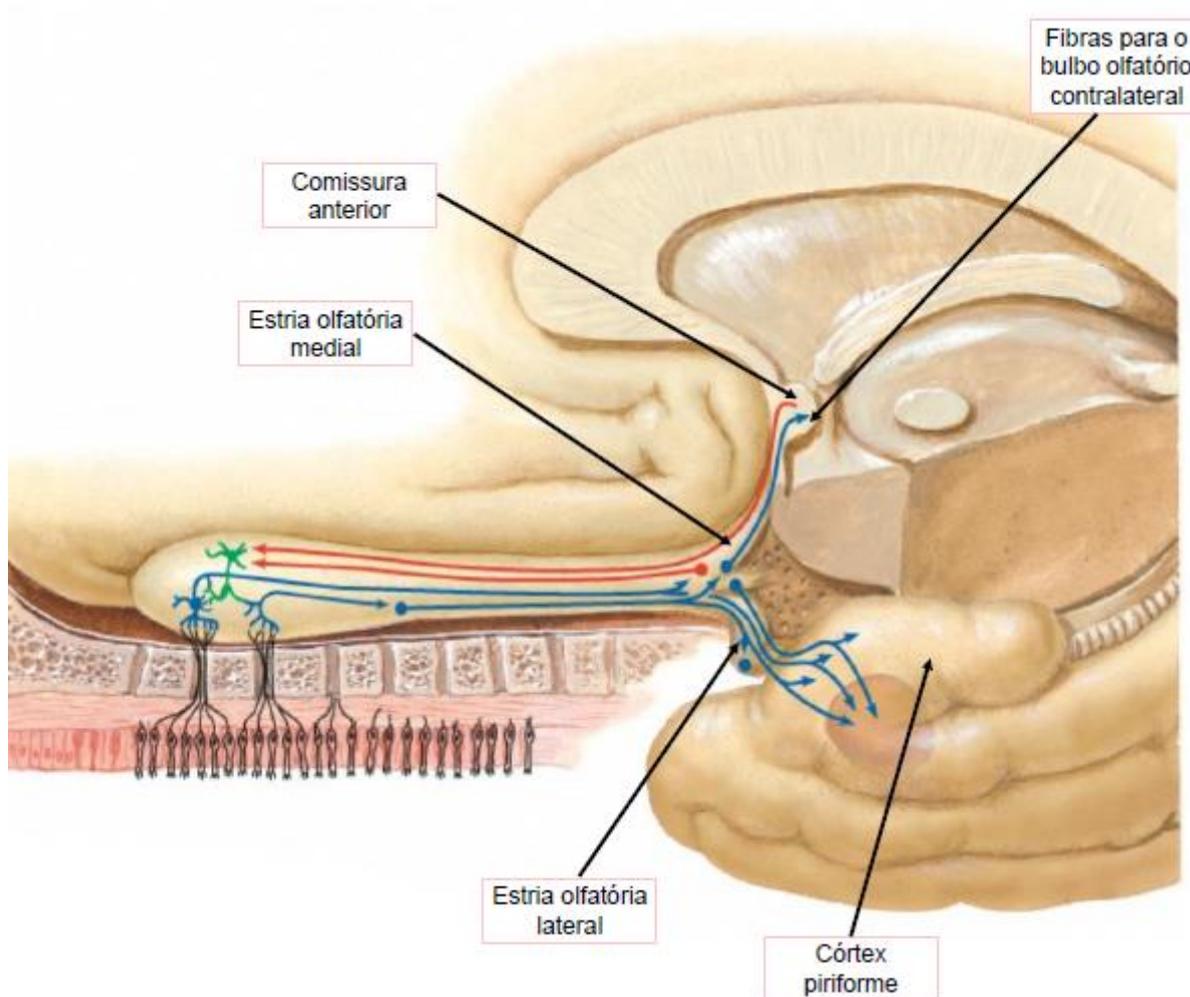
Fonte: adaptado de Buck, L, and R Axel. A novel multigene family may encode odorant receptors: a molecular basis for odor recognition. *Cell* vol. 65,1 (1991): 175-87.

Cada glomérulo recebe sinal de cerca de 600 a 750 neurônios olfatórios e transmite o impulso nervoso através do feixe de axônios da estria olfatória lateral do trato olfatório. O conjunto de neurônios presentes no bulbo olfatório compõem o nervo olfatório (I par craniano). As fibras da estria olfatória medial trazem estímulos olfatórios contralaterais, após cruzarem na comissura anterior do bulbo cerebral. (FIGURA IV)

Esse feixe carrega a informação olfativa dos bulbos até o córtex olfatório primário, composto por: 1) núcleo olfatório anterior; 2) tubérculo olfatório; 3) amígdala; 4) núcleo cortical da amígdala; 5) área entorrinal. (FIGURA V)

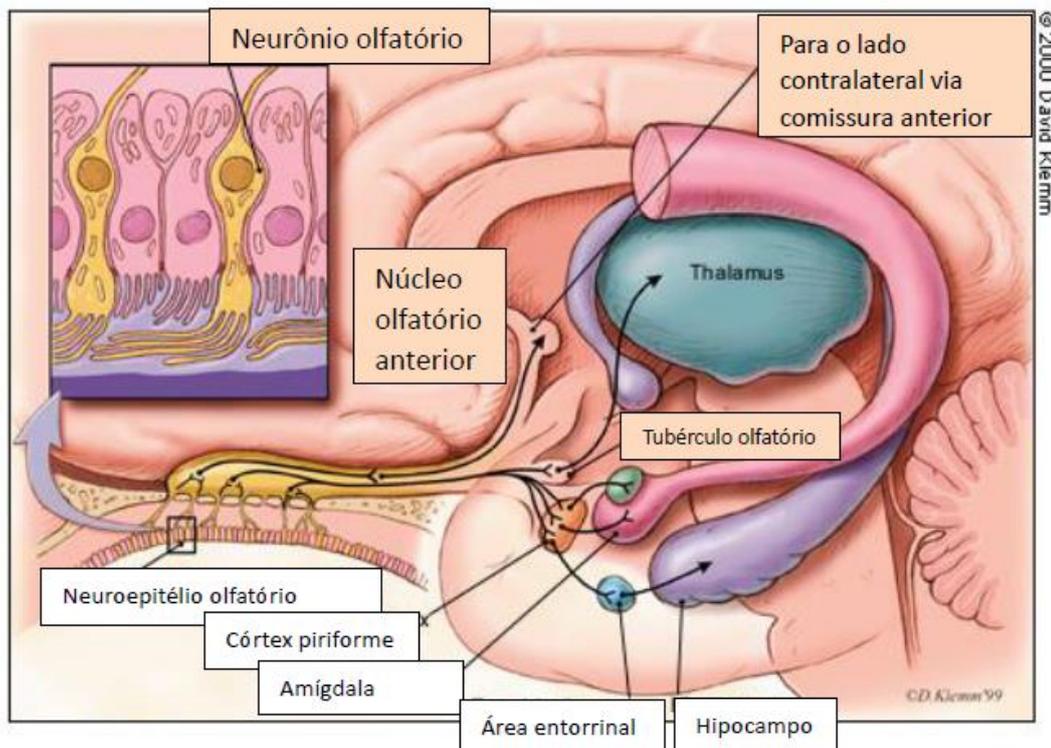
Essas áreas corticais primárias são posteriormente enviadas a áreas como hipocampo, hipotálamo, tálamo, cerebelo e ao córtex orbitofrontal, também chamado de córtex olfatório secundário. Muitas dessas estruturas descritas pertencem ao sistema límbico e estão intimamente ligadas às percepções olfativas relacionadas à memória e às consequências emocionais, viscerais e endócrinas dos odores.

FIGURA IV: Via central da olfação



Fonte: Moore, Keith L.; DALLEY, Arthur F.. Anatomia orientada para a clínica. 6ª edição. Rio De Janeiro: Editora Guanabara Koogan S.A., 2011, 1103 p.

FIGURA V: Córtex olfatório



Fonte: adaptado de Bromley, S M. Smell and taste disorders: a primary care approach. *American family physician* vol. 61,2 (2000): 427-36, 438.

A chegada da molécula odorífera no teto nasal requer boa função respiratória e ausência de bloqueios significativos no nariz. As partículas voláteis chegam tanto pelas narinas, quanto por meio da nasofaringe (via retronasal). Dissolvem-se no muco que recobre o epitélio olfatório e ligam-se aos receptores dos neurônios olfatórios.

Cada neurônio olfatório apresenta apenas um tipo de receptor e cada receptor é específico para determinado tipo de molécula olfatória. Estima-se haver de 10 a 100 milhões de neurônios olfatórios, que abrigam aproximadamente 400 tipos de receptores funcionantes. (Buck, 1991).

A discriminação olfatória vem da ativação diferencial de determinados grupos de receptores por parte de cada estímulo odorífero. O padrão de ativação determina a informação que é enviada ao córtex olfativo para processamento.

A ligação de uma quantidade suficiente de odorantes aos receptores ativa uma cascata intracelular que culmina com a síntese de adenosina monofosfato (AMP) cíclico. O aumento

do AMP cíclico intracelular leva ao influxo de cálcio e de sódio, desencadeando o potencial de ação que gera o impulso neural. Além disso, o cálcio intracelular contribui para o término do potencial de ação e adaptação ao estímulo odorífero, reduzindo a sensibilidade dos canais iônicos ao AMP cíclico.

Além do reconhecido e descrito papel do I par craniano (nervo olfatório) na função olfativa, o V par craniano, nervo trigêmeo, também exerce papel importante ao reconhecer odores irritantes ou agressivos à mucosa nasal, tais como amônia, pimenta, mentol, dióxido de carbono e capsaicina. (Bromley, 2000).

Diversos fatores influenciam na função olfatória tais como idade, gênero, presença de doenças neurológicas, exposição a tabagismo, ocupação profissional e doenças nasossinais inflamatórias ou infecciosas, como a COVID-19.

IV.2 A COVID-19

Em dezembro de 2019, a cidade de Wuhan, pertencente à província de Hubei, na China, presenciou um surto de uma pneumonia grave, de origem desconhecida. Esse surto foi reportado à Organização Mundial de Saúde em 31 de dezembro de 2019. Poucos dias depois, em 07 de janeiro de 2020, o agente causador foi identificado pelas autoridades chinesas: era um novo coronavírus, temporariamente nomeado de 2019-nCoV.

Casos crescentes dessa nova doença foram registrados em diversos outros países da Ásia, Europa e na América do Norte. O mundo recebia da OMS o alerta sobre o risco de um surto mais amplo, fora do epicentro inicial. Em 30 de janeiro de 2020, foi declarada Emergência de Saúde Pública de importância internacional. Em 12 de fevereiro de 2020, a OMS nomeou essa doença de COVID-19 e o novo coronavírus causador, de SARS-CoV-2, até que em 11 de março de 2020, a COVID-19 foi caracterizada pela OMS como uma pandemia, devido à sua distribuição mundial e transmissão sustentada.

O SARS-CoV-2 é o sétimo coronavírus documentado a causar doenças em humanos.¹ Dessa família, quatro vírus são responsáveis por afetar predominantemente o trato respiratório superior e causar sintomas leves: HCoV-229E, HCoV-OC43, HCoV-NL63 e HKU1. Os outros três, SARS-CoV-1, MERS-CoV e o novo coronavírus SARS-CoV-2, afetam também o trato

¹ Histórico da pandemia de COVID-19, OPAS. Disponível em <https://www.paho.org/pt/covid19/historico-da-pandemia-covid-19> acessado em 06/08/2023.

respiratório inferior e causam, em alguns pacientes, uma Síndrome Respiratória Aguda Grave potencialmente letal.

No momento de escrita desta tese (em 06 de agosto de 2023), as mortes por COVID-19 já ultrapassam 6,8 milhões e o número de casos, 676 milhões.² Destes, 37,7 milhões de casos e 704.794 mortes ocorreram no Brasil.³

Embora febre, tosse, dispneia, mialgias e cansaço tenham sido os sintomas clássicos da COVID-19 desde o seu surgimento, a presença de perda súbita do olfato se confirmou como um preditor precoce e um sintoma frequente da doença (Menni, 2020).

IV.3 COVID-19 e o olfato

IV.3.1 Epidemiologia

O primeiro relato advindo de uma organização científica sobre a perda de olfato como sintoma importante de COVID-19 foi proferido em 25 de março de 2020 pela Sociedade Britânica de Otorrinolaringologia (ENTUK). Na ocasião, a Profa. Claire Hopkins alertava o mundo sobre a aparente alta prevalência da perda de olfato em vigência de COVID-19, inclusive como único sintoma.⁴

Segundo Rocke et. al., 2020, a probabilidade de um indivíduo com perda de olfato estar acometido por COVID-19 foi de 61%; maior do que o valor preditivo positivo para qualquer outro sintoma. A Organização Mundial de Saúde rapidamente integrou a perda de olfato à lista oficial de sintomas e a recomendação de auto-isolamento a partir do início de uma perda de olfato súbita.

Vários trabalhos publicados pelo mundo confirmaram a alta prevalência de perda de olfato na vigência da COVID-19. (Mullol, 2020). Em Wuhan, na China, Mao et. al., 2020, publicaram um estudo retrospectivo, baseado em registros de prontuários, mostrando a

² Dados do Instituto Johns Hopkins, COVID-19 *Tracking Center*, atualizado em 10 de março de 2023. Disponível em <https://coronavirus.jhu.edu/map.html> acessado em 06 de agosto de 2023.

³ Dados do Ministério da Saúde - Brasil, atualizado em 04/08/2023. Disponível em <https://covid.saude.gov.br> acessado em 06 de agosto de 2023.

⁴ Disponível em <https://www.entuk.org/loss-sense-smell-marker-covid-19-infection> acessado em 09 de agosto de 2023

prevalência de 5% de perda de olfato ou paladar em 214 pacientes internados. Um inquérito sul-coreano com 3.191 pessoas reportou a prevalência de 12% de perda de olfato ou paladar. (Lee, 2020). Em Milão, na Itália, Giacomelli et. al. identificaram 34% de perda de olfato em 59 pacientes hospitalizados. (Giacomelli, 2020). Lechien et. al., por sua vez, encontrou uma alta prevalência de perda de olfato (86%) e de paladar (89%) em pacientes com COVID-19 leve e moderada, com grande impacto na qualidade de vida em pacientes da França, Bélgica, Itália e Espanha. (Lechien, 2020).

Há uma clara variabilidade na prevalência reportada de perda de olfato na COVID-19 ao longo do primeiro ano da doença. Provavelmente, essa diferença deveu-se à variabilidade de metodologias utilizada pelos diferentes estudos, pela presença de vieses de memória nos estudos retrospectivos, e à falta de instrumentos de aferição quantitativa do olfato nos primeiros estudos publicados. (Mullol, 2020).

Além da significativa prevalência, os estudos descritivos também apontaram uma alta taxa de recuperação espontânea do olfato após o início da COVID-19. Hopkins et. al., 2020, encontraram anosmia em 86,4% de 382 pessoas submetidas a um inquérito populacional. Desses, 79% reportaram alguma melhora dentro de uma semana, sendo que 11,5% já alcançaram o olfato normal em 1 semana de follow-up. (Hopkins, 2020).

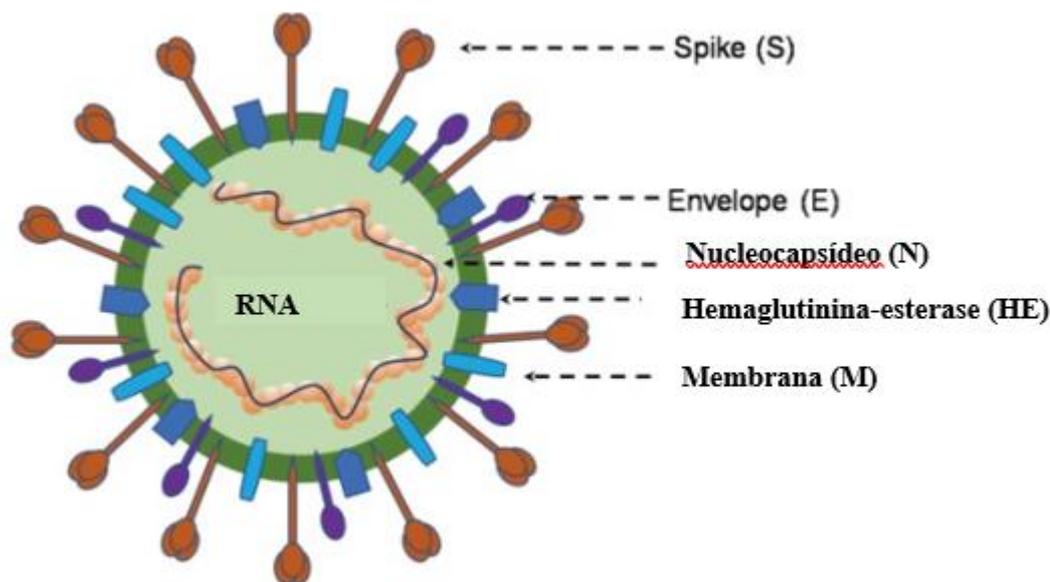
A alta prevalência de disfunção olfatória auto reportada nos pacientes com COVID-19 também foi confirmada por um grupo de pesquisadores brasileiros: Brandão-Neto et. al., 2021, identificaram 82,4% (95% IC, 79,5%-85,3%) de perda de olfato auto reportada em 655 pacientes. Destes, 42,9% relataram anosmia. Após um tempo mediano de 2 meses após o início dos sintomas, a recuperação do olfato aconteceu de forma total ou parcial para 53,8% e 44,7% dos pacientes, respectivamente. (Brandão-Neto, 2021). Apesar disso, 1,4% dos pacientes permaneceu com a perda de olfato instalada, sem qualquer recuperação.

IV.3.1 Fisiopatologia

Os coronavírus são uma classe de vírus de RNA de fita simples, envelopados e genotipicamente divididos em 4 famílias: α , β , γ e Δ - coronavírus. As infecções humanas por coronavírus são causadas por α e β - coronavírus. Os coronavírus SARS e MERS são membros dos β - coronavírus. (Jin, 2020). A análise filogenética de todo o genoma indica que o SARS-CoV-2 compartilha 79,5% e 50% de identidade de sequência com o SARS-CoV e com o MERS-CoV, respectivamente. (Zhu, 2020).

O núcleo do vírus SARS-CoV-2 é composto pelo RNA genômico e a proteína do nucleocapsídeo fosforilada. O envelope, por sua vez, é formada por uma dupla camada fosfolipídica, coberta por dois tipos diferentes de proteína spike (S e hemaglutinina-esterase, HE), proteína de membrana (M) e proteína do envelope (E). (FIGURA VI)

FIGURA VI- Estrutura viral do SARS-CoV-2

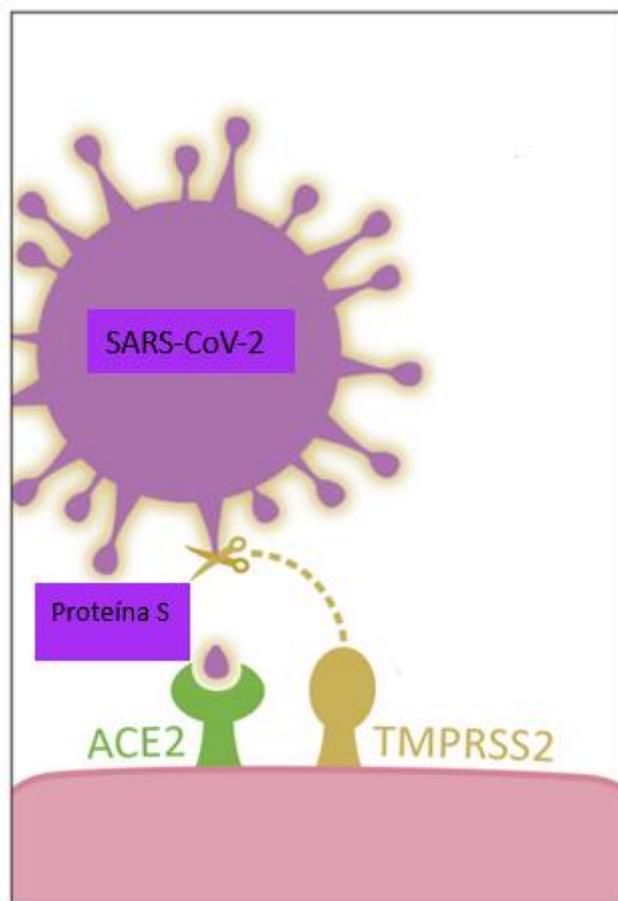


Fonte: adaptado de Jin Y, Yang H, Ji W, Wu W, Chen S, Zhang W, Duan G. *Virology, Epidemiology, Pathogenesis, and Control of COVID-19. Viruses*. 2020 Mar 27;12(4):372.

A resposta imune inata utiliza-se de vários receptores de reconhecimento de padrão (PRRs) para detectar a presença de vírus. Os vírus de RNA, como os coronavírus, são detectados por meio de duas estratégias separadas: 1) células dendríticas plasmocitoides (pDCs), que detectam o RNA genômico viral por meio do receptor Toll-like (TLR7). Essas células inspecionam o lúmen do trato respiratório e fornecem a primeira linha de defesa; 2) Reconhecimento citosólico de RNAs dentro das células infectadas, por meio dos receptores MDA5 e os receptores semelhantes a RIG-I (RLRs). A ativação de TLRs e RLRs induz à transcrição de interferons (IFNs) do tipo I e III, bem como de citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias dependentes e fator nuclear κ B (NF- κ B). (Merad, 2022). A resposta imune inata induzida pela sinalização PRR ativa as células efetoras para mediar o *clearance* viral.

A enzima conversora de angiotensina 2 (ACE-2) é o receptor funcional para a entrada do SARS-CoV-2 na célula humana (Zhou, 2020), e tem afinidade de ligação 10-20 vezes maior do que o SARS-CoV. (Bourgonje, 2020). Seu papel crucial para a entrada do SARS-CoV-2 na célula humana é facilitado por uma serino-protease transmembrana do tipo II (TMPRSS2). (FIGURA VII).

FIGURA VII- Interação do SARS-CoV-2 ao ACE-2, após ativação da proteína spike (S) pelo TMPRSS2



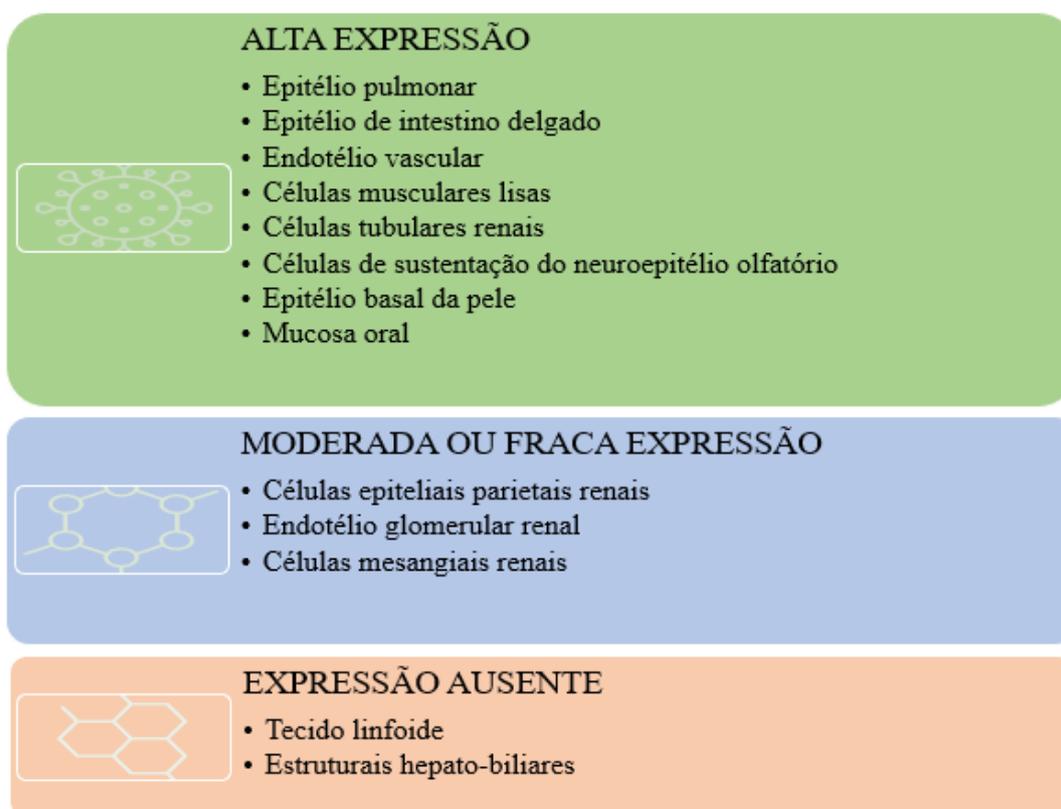
Fonte: adaptado de Bourgonje AR, Abdulle AE, Timens W, Hillebrands JL, Navis GJ, Gordijn SJ, Bolling MC, Dijkstra G, Voors AA, Osterhaus AD, van der Voort PH, Mulder DJ, van Goor H. Angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2), SARS-CoV-2 and the pathophysiology of coronavirus disease 2019 (COVID-19). *Journal of Pathology*. 2020 Jul;251(3):228-248.

Ademais, o ACE-2 é amplamente expresso em diversos tecidos humanos. (QUADRO I). Tanto nos principais órgãos-alvo do SARS-CoV-2 (células epiteliais dos alvéolos pulmonares, células epiteliais do intestino delgado, endotélio vascular, células musculares

lisas, células tubulares proximais renais, epitélio basal da pele, mucosa oral, mucosa nasal), quanto em órgãos que desempenham papel aparentemente menos importante ou desconhecido na fisiopatologia da COVID-19, tais como o endotélio glomerular renal, células mesangiais, tecidos linfoides e estruturas hepatobiliares. (Bourgonje, 2020).

Em contraste, ACE-2 não foi detectado em neurônios do neuroepitélio olfatório nem do bulbo olfatório. (Brann et. al., 2020). Neste referido estudo, a expressão de ACE-2 foi encontrada nas células de suporte e nas células basais do neuroepitélio olfatório, indicando que a infecção do SARS-CoV-2 em células não neuronais leva à disfunção olfativa nos pacientes com COVID-19. Além disso, as alterações olfatórias da COVID-19 podem estar relacionadas a outros mecanismos condutivos locais, decorrentes de edema da fenda olfatória e disseminação por contiguidade do SARS-CoV-2 para o sistema nervoso central. (Zhou, 2020).

QUADRO I- Tecidos e células humanas com expressão de ACE-2



IV.3.3 Características clínicas da perda de olfato na COVID-19

A COVID-19 trouxe consigo uma perda de olfato altamente prevalente, de início súbito e intenso, com poucos sintomas nasais associados, quando comparada às outras perdas de olfato pós-infecciosas (Rocke, 2020).

Uma pesquisa on-line conduzida pela Sociedade Brasileira de Otorrinolaringologia e Cirurgia Cérvico-Facial e pela Academia Brasileira de Rinologia, incluiu 253 voluntários médicos com perda de olfato súbita ocorrida entre 1º de fevereiro a 30 de abril de 2020. Desses, 183 (72,3%) fizeram teste de COVID-19 com 145 resultados positivos (79,2%). Os voluntários com perda de olfato causada por COVID-19 apresentaram uma taxa mais baixa de recuperação total da disfunção olfatória apresentada (52,6% *versus* 70,3%; $p=0,05$) e um tempo mais longo de recuperação total (15 dias *versus* 10 dias; $p=0,0006$), em comparação aos que testaram negativo para a COVID-19. Considerando apenas os voluntários com COVID-19, a hiposmia súbita teve maior chance de recuperação completa do que a anosmia súbita (68,4% *versus* 50,0%; $p=0,04$). (Kosugi, 2020).

Um outro estudo prospectivo brasileiro utilizou-se de um questionário *on-line* para aferir a taxa e o tempo de recuperação total do olfato em 655 pacientes. Brandão-Neto et. al., 2021 revelaram que a prevalência de distúrbios olfativos auto-relatados nos pacientes com COVID-19 foi de 82,4% (IC 95%, 79,5%-85,3%). A maioria reportou anosmia (42,9%). Num tempo mediano de 76 dias após o início dos sintomas, as taxas de recuperação total e parcial do olfato foram de 53,8% e 44,7%, enquanto 1,4% (IC 95%, 0%-3,3%), não apresentou nenhuma recuperação do olfato.

Esses dois estudos, em conjunto, confirmam a alta prevalência de perda de olfato na COVID-19, com baixas taxas de recuperação completa e a necessidade de um tempo mais longo de recuperação. Além disso, a COVID-19 deixa um pequeno percentual de pacientes sem qualquer recuperação que, quando olhados como número absoluto, formam um grande contingente de pacientes que necessitarão de reabilitação.

IV.4 Instrumentos de avaliação do olfato

Para se fazer uma boa avaliação propedêutica é indispensável colher a história completa do paciente. A anamnese da consulta de olfato levanta dados como tempo de início da queixa,

presença de doenças nasais prévias ao início do sintoma, história de síndromes gripais ou trauma, uso de medicações nasais e história de doenças neurológicas ou psiquiátricas pessoais ou na família.

Ao paciente, também é solicitado descrever a alteração quantitativa do olfato: se há uma incapacidade total (anosmia), ou se há uma diminuição da intensidade da percepção (hiposmia). Pacientes com perda de olfato também podem cursar com alterações qualitativas, tais como a parosmia (percepção distorcida de determinado odor), fantosmia (alucinação olfatória na ausência de estímulo odorífero) e cacosmia, uma sensação desagradável persistente ou desassociada da presença do estímulo odorífero.

Essas informações colhidas na entrevista do paciente são subjetivas, e precisarão ser confirmadas e aferidas por instrumentos de medida. A aferição objetiva do olfato tem como objetivo transformar esse dado numa variável, de forma que seja possível comparar a evolução de um paciente ao longo do tempo e categorizar os diferentes estágios de perda de olfato.

Para isso, neste estudo foram utilizados testes olfatórios de fácil aplicação, como a escala visual analógica, e validados para a diversidade cultural da população brasileira, como o Teste de Connecticut.

IV.4.1 Escala visual analógica

A escala visual analógica (EVA) é um instrumento utilizado para mensuração de dor em pacientes, comum e amplamente utilizado na prática clínica ambulatorial. (Williamson, 2005).

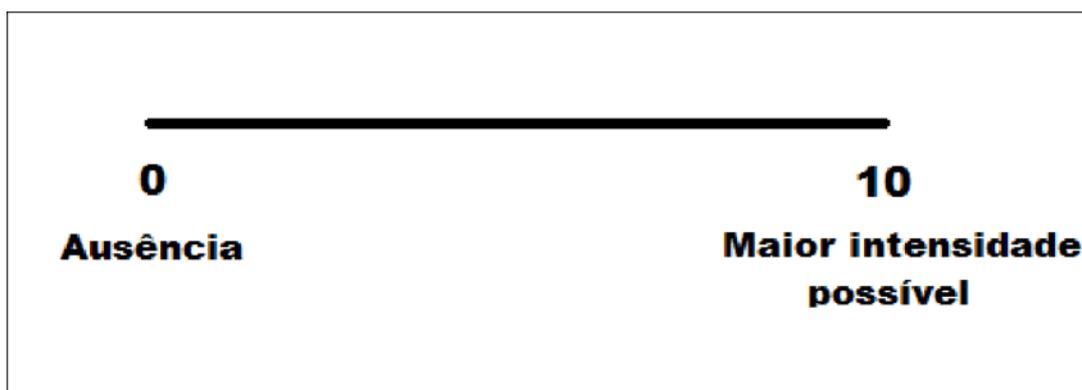
É apresentada como uma linha de 10 cm, ancorada por descritores verbais, usualmente “ausência de dor” e “maior intensidade possível”, como se pode ver na Figura VIII. Ao paciente, é solicitado escolher um ponto na linha que represente a dor ou o desconforto apresentado em relação a uma determinada queixa. A distância entre o extremo “ausência de dor” e o ponto marcado pelo paciente determina a intensidade da dor e configura a pontuação da queixa pela escala visual analógica.

Na anamnese de olfato, a EVA pode ser utilizada tanto para aferir o desconforto em relação à perda olfatória apresentada, quanto para mensurar a qualidade do olfato, através de uma pontuação de 0 a 10- em que 0 configura ausência completa de olfato- e 10, o melhor olfato possível.

Das vantagens em utilizar a EVA, estão a padronização das respostas, a presença de um reforço visual que as apoie, e sua simplicidade, fator decisivo em pesquisas científicas com públicos abrangentes.

Por outro lado, essa mesma simplicidade pode ser encarada como uma desvantagem do método, uma vez que pode induzir a uma avaliação superficial da queixa apresentada, devendo, idealmente, ser associada a outros métodos.

FIGURA VIII- Escala visual analógica utilizada



Fonte: adaptada de <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/j.1365-2702.2005.01121.x?src=getfr> acessado em 11/10/2023

IV.4.2 Teste de Connecticut

Objetivamente, há três domínios do olfato que podem ser quantificados: limiar, discriminação e identificação. (Hummel, 1997). O primeiro domínio, o limiar, consiste em aferir o estímulo odorífero menos concentrado a ser percebido pelo paciente. A discriminação se refere ao paciente perceber, num trio de odorantes, qual portaria um aroma diferente. A identificação, por sua vez, afere a capacidade de o indivíduo responder qual o aroma exato está sendo oferecido.

O Teste de Connecticut foi descrito por Cain et.al. em 1988. O teste foi aplicado em 670 pessoas entre as quais 441 pacientes com perda parcial ou total de olfato e 229 voluntários com olfato normal. O teste avalia dois domínios do olfato: limiar e identificação.

O teste de limiar consiste em oferecer diferentes concentrações de n-butanol, da menor (0,005%) para a maior (4%), atribuindo pontuação de 7 a 0, sendo que a nota máxima é dada para aquele paciente que identificar com consistência o frasco de menor concentração.

O teste de identificação consiste em aferir os acertos dos pacientes em 10 aromas oferecidos: café, canela, talco, chocolate, sabonete, naftalina, pasta de amendoim, Vick VapoRub®, amônia e óleo de Wintergreen. No momento do teste, oferece-se ao paciente uma lista com 20 nomes: 10, dos aromas presentes e outros 10, de distratores. Nessa etapa, o paciente pontua de 0 a 7 a depender dos acertos de identificação. O paciente que alcança a pontuação 7, encerra o teste com nota máxima.

Através dos acertos colhidos em cada uma das duas etapas, realizadas unilateral e sequencialmente em cada narina (limiar na narina direita, seguido de identificação na narina direita; e em seguida limiar da narina esquerda, com subsequente de identificação da narina esquerda), o paciente recebe uma pontuação objetiva. Somam-se as quatro pontuações obtidas, fazendo uma média aritmética que assume valores inteiros de 0 a 7, ou frações de 0,25 nesse intervalo.

É classificada como normosmia a pontuação entre 6,0 e 7,0; hiposmia leve, de 5,0 a 5,75; hiposmia moderada, de 4,0 a 4,75; hiposmia grave, de 2,0 a 3,75 e anosmia, de 0 a 1,75.

Quando foi validado, o teste de Connecticut mostrou ser sensível em diferenciar pacientes com olfato normal de pacientes com disfunções olfativas de diversas causas, tais quais pós-infecciosas, pós-traumáticas e por doenças nasais crônicas. (Cain, 1988).

Esse teste desenvolvido no Connecticut Chemossensory Clinical Research, na cidade de Farmington, Estado de Connecticut, Estados Unidos, se popularizou pelo mundo (Toledano, 2009, Sánchez-Valecillo, 2012, Veyseller, 2014) e foi validado no Brasil em 2020 (Fenólio, 2020).

No teste de validação brasileira, sofreu adaptações quanto aos odores de identificação: amônia e óleo de Wintergreen foram retirados e pasta de amendoim foi substituída por paçoca. (Fenólio, 2020). Nesse estudo brasileiro, o teste apresentou valores de normalidade semelhantes ao teste originalmente descrito, com alta taxa de reprodutibilidade.

Considerando a relação custo-benefício altamente favorável, o Connecticut Chemossensory Clinical Research Teste (CCCRC) é uma ferramenta muito útil para mensurar a função olfatória na população brasileira.

Esse foi o teste utilizado no nosso estudo.

IV.5 Manejo das perdas de olfato na era pré-COVID-19

Embora COVID-19 seja a principal causa de perda olfatória nos tempos atuais, otorrinolaringologistas já tratavam perda de olfato muito antes da pandemia eclodir.

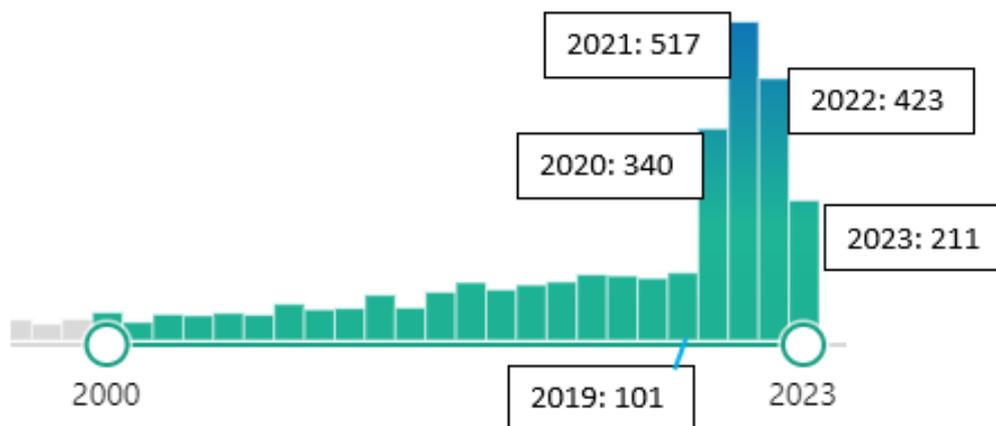
As causas pós-infecciosas eram, de longe, as mais comuns. Além delas, figuravam também pacientes com perda de olfato de diversas outras causas: 1) pós-traumáticas; 2) por exposição tóxica a agentes inalantes; 3) uso de medicações olfato tóxicas; 4) exposição à radioterapia; 5) presença de rinossinusites crônicas; 6) doenças neurodegenerativas e psiquiátricas; 7) efeito da idade sobre o olfato (presbiolfato). Todas essas causas eram observadas nos consultórios de otorrinolaringologia em todo o mundo. (Patel, 2021).

A perda olfatória impacta negativamente na qualidade de vida dos pacientes e reduz a atenção contra a ingestão de alimentos estragados, fumaças de incêndios, escapes de gás, entre outros perigos domésticos (Fornazieri, 2020).

Na era pré-COVID-19, não havia um consenso sobre tratamento de perdas de olfato. As evidências científicas eram menores, mas já apontavam os benefícios do treinamento olfatório (Hummel, 2009) e da corticoterapia nasal (Yan, 2019) e oral (Hura, 2020).

A pandemia de COVID-19 provocou um aumento significativo do número de pacientes com perda de olfato. Este fato despertou um crescente interesse científico no assunto. (Figura IX). Diversos estudos (Elkholi, 2021, Huart, 2021, Pinna, 2020) foram conduzidos nos últimos 3 anos com o objetivo de compreender os mecanismos fisiopatológicos da perda de olfato pós-COVID-19, bem como suas estratégias terapêuticas.

FIGURA IX- Número de publicações sobre tratamento de perda de olfato indexadas ao Pubmed



Fonte: adaptado de

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/?term=smell+loss+treatment&filter=years.2000-2023&timeline=expanded> acessado em 17/08/2023

Foi em abril de 2022, motivado e impulsionado pelo grande contingente de pacientes acometidos pela perda de olfato na pandemia, que foi publicado o I Consenso Internacional em Alergia, Rinologia e Olfato (Patel ZM, 2022). Essa revisão sistemática teve como objetivo direcionar as escolhas terapêuticas dos otorrinolaringologistas, e trazer em detalhes, as evidências científicas dos tratamentos para perda de olfato existentes.

Detalharemos, de agora em diante, as evidências para o uso do treinamento olfatório e do ácido alfa-lipoico.

IV.6 Treinamento olfatório e suas bases

O estudo clássico que demonstrou os efeitos do treinamento olfatório na recuperação do olfato em pacientes com perdas pós-infecciosas, pós-traumáticas e idiopáticas foi publicado por Hummel et. al. em 2009.

Nele, foi descrito um protocolo sistematizado de treinamento olfatório com odores específicos (cravo, limão, eucalipto e rosa) baseado no prisma dos odores de Henning (1916).⁵ Nesse estudo, 56 pacientes com perda de olfato, dentre eles 33 mulheres e 23 homens, com média de idade 57,8 +- 12 anos [23-79], foram recrutados de forma voluntária a seguirem um protocolo de treinamento olfatório que consistia em cheirar cada frasco dos quatro odores acima descritos por 10 segundos, duas vezes ao dia, por 12 semanas. (Figura X)

Os pacientes foram avaliados antes e depois da intervenção através do teste de Sniffin' Sticks. (Hummel, 1997). Em comparação à linha de base, os pacientes que aderiram ao treinamento olfatório obtiveram melhora de sua função olfatória tanto na pontuação final do teste de olfato quanto nos limiares olfativos. A função olfatória não mudou naqueles pacientes que não aderiram. (Hummel, 2009).

Desde então, o treinamento olfatório é uma das principais ferramentas de recuperação do olfato nos pacientes com as mais diversas fisiopatologias.

Já foi abordado anteriormente nesta Tese as propriedades de regeneração neuronal únicas do nervo olfatório, quando comparado aos demais nervos cranianos (Wilson, 2004). A presença de células basais no neuroepitélio olfatório confere ao tecido uma capacidade de recuperação após um dano neuronal. (Showb, 1999).

Além disso, há evidências de que a repetida exposição a odores induz à neuroplasticidade, tanto em animais (Wang, 1993) quanto em humanos (Wang, 2004). Nesse último estudo citado, Wang et. al. mostraram pela primeira vez que pessoas anósmicas para androstenona passaram a ter sensibilidade olfativa a esse esteroide presente na urina e na axila, após serem submetidas à exposição de odores (androstenona, amyl-acetato e odor de maçã com banana). Essa sensibilidade foi confirmada por um teste objetivo de limiar e, também, por dois testes eletrofisiológicos: 1) potencial evocado olfatório no eletro-olfatograma (EOG); e 2) potencial olfatório relacionado ao evento (OERP) no eletroencefalograma. Esses resultados apontam para a existência de uma plasticidade odor-específica no sistema olfatório.

⁵ Prisma de odores de Henning ou "*Geruchsprisma*": representação clássica e histórica que classifica os odores em seis categorias primárias: floral, pútrido, frutado, aromático, queimado e resinoso. Desses, foram excluídos os odores desagradáveis (pútrido e queimado) para a sistematização do protocolo de treinamento olfatório clássico de Hummel et. al., 2019.

Figura X- Treinamento olfatório clássico



Legenda: os quatro odores do treinamento olfatório clássico, de Hummel et.al., 2009 são rosa (fenil-etil-álcool), cravo (eugenol), limão (citronelal) e eucalipto. Foto de 22/04/2021, feita no Ambulatório Magalhães Netto, do Hospital Universitário Professor Edgard Santos/UFBA. Trata-se do kit de treinamento olfatório que cada paciente incluído no estudo recebeu.

IV 6.1 Treinamento olfatório na perda de olfato pós-COVID-19

Uma vez compreendidos os mecanismos que levam ao benefício do treinamento olfatório para a recuperação do olfato em outras fisiopatologias, seria intuitivo indicá-lo para a recuperação das perdas de olfato pós-COVID-19. Entretanto, por se tratar de uma doença nova, foram necessários estudos científicos que provassem o benefício do treinamento olfatório.

O primeiro ensaio clínico randomizado publicado sobre eficácia terapêutica do treinamento olfatório na recuperação da perda de olfato pós-COVID-19 comparou os efeitos da mometasona spray associada ao treinamento olfatório em 50 pacientes com 50 pacientes que só fizeram o treinamento olfatório. (Abdelalim, 2021). O instrumento de avaliação do

olfato foi a EVA e os pacientes foram acompanhados por 3 semanas. Em ambos os grupos, os escores de olfato melhoraram no final do período de seguimento ($p < 0,001$). Assim, esse estudo concluiu que a mometasona spray em associação ao treinamento olfatório não oferece resultados superiores ao uso do treinamento olfatório isoladamente.

O ensaio clínico randomizado multicêntrico de Pires et. al. confirmou os achados em favor do treinamento olfatório para a recuperação do olfato pós-COVID-19. Nesse estudo, 80 pacientes foram recrutados e divididos em dois grupos: 1) aquele que recebeu treinamento olfatório com quatro essências; 2) o grupo de comparação, que recebeu treinamento olfatório com oito essências. As avaliações do olfato foram feitas através do University of Pennsylvania Smell Identification Test (UPSIT) e os pacientes foram seguidos por 4 semanas. Como resultado, houve aumento significativo dos scores olfatórios em ambos os grupos, sem diferenças entre eles. Com isso, esse estudo provou a eficácia do treinamento olfatório na recuperação da perda de olfato pós-COVID-19 e concluiu que o protocolo com mais do que quatro essências não traz superioridade aos resultados.

Ademais, o Consenso Britânico para o manejo da perda de olfato também recomendou o treinamento olfatório para todo paciente com perda de olfato persistente com mais de duas semanas de duração. (Hopkins, 2021).

No ano seguinte, o I Consenso do Fórum Internacional de Alergia e Imunologia- Olfato confirmou a indicação do treinamento olfatório com grau de evidência B para as perdas de olfato, assegurando os baixos riscos e afirmando bom custo-benefício. (Patel ZM, 2022).

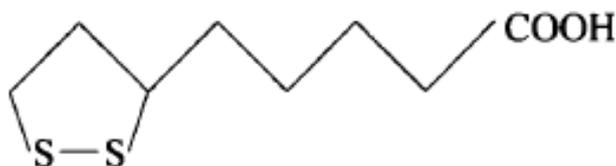
Podemos afirmar, portanto, que no momento de escrita desta Tese, as evidências para a utilização do treinamento olfatório nas perdas de olfato pós-COVID-19 já eram bem estabelecidas.

IV.7 O ácido alfa-lipoico

O ácido alfa-lipoico (ALA), também conhecido como ácido tióctico, é um ácido graxo organossulfurado que contém uma ponte dissulfídica e um carbono quiral. (Figura XI). É cofator em diversas reações bioquímicas catalisadas por processos enzimáticos cetoácido-desidrogenase. (Lynch, 2001).

Sua propriedade antioxidante deriva da capacidade em eliminar espécies reativas de oxigênio (ROS), de quelar metais e de reciclar antioxidantes endógenos como a vitamina E, a vitamina C e a glutatona. Ácido alfa-lipoico elimina oxigênio singlete, óxido nítrico, peroxinitrito e ácido hipocloroso. É rapidamente reduzido a ácido diidrolipoico às custas de NADH. O ácido diidrolipoico, por sua vez, atua como outro potente antioxidante eliminando, também, radicais superóxido e peroxil. (Kagan, 1992).

FIGURA XI- Estrutura molecular do ácido alfa-lipoico



Fonte: Lynch MA. Lipoic acid confers protection against oxidative injury in non-neuronal and neuronal tissue. *Nutritional Neuroscience*. 2001;4:419–438.

O ALA exerce diversos efeitos nos sistemas. Por exemplo, aumenta a sensibilidade a insulina e melhora a entrada de glicose nas células (Haugaard e Haugaard, 1970), estimula a síntese e secreção de fator de crescimento nervoso (Murase, 1993), o que pode contribuir para sua capacidade de promover a regeneração das fibras nervosas (Dimpfel, 1990), aumentando o fluxo sanguíneo e protegendo as células de uma variedade de insultos. (Cameron, 1998).

O efeito anti-oxidante e neuro-regenerativo do ácido alfa-lipoico vem sendo estudado e utilizado como tratamento das neuropatias diabéticas. Um estudo prospectivo utilizando 600mg/dia de ácido alfa-lipoico oral por 40 dias em 72 pacientes diabéticos observou melhora dos escores de dor neuropática e dos escores de qualidade de vida desses pacientes, além de redução nos triglicérides séricos. (Agathos, 2018).

Uma revisão sistemática com meta-análise confirmou que o uso do ácido alfa-lipoico 600mg/dia intravenoso por um período superior a 3 semanas reduz sintomas de neuropatia diabética. (Mijnhout, 2012). Esse mesmo estudo observou que dosagens superiores a 600mg/dia não resultaram em melhora dos escores de sintoma de neuropatia, além de aumentarem a incidência de efeitos colaterais, como náusea, vômito e tontura. Os efeitos colaterais vistos quando dosagens menores ou iguais a 600mg/dia não foram diferentes do grupo placebo.

De acordo com suas propriedades antioxidantes, neurotrópicas e hemorreológicas, o ácido alfa-lipoico é uma droga que para ser usada em várias doenças e distúrbios.

IV.7.1 Ácido alfa-lipoico e suas evidências na recuperação do olfato

Em estudo clássico publicado por Hummel et. al., em 2002 evidenciou benefícios do uso do ácido alfa-lipoico 600mg/dia, por 4,5 meses, na recuperação das perdas de olfato pós-infecciosas. Esse ensaio clínico não cego acompanhou 23 pacientes (13 mulheres, 10 homens, mediana de idade 57 anos [22-79], e a mensuração do olfato foi feita através de teste de limiar, identificação e discriminação de fenil-etil-álcool (rosa).

De forma geral, houve melhora estatisticamente significativa nos escores olfatórios após o uso do ácido alfa-lipoico ($p = 0,002$). Seis pacientes (26%) e 8 pacientes (35%) evoluíram com melhora moderada e pronunciada de suas funções olfatórias, respectivamente. De quatro pacientes anósmicos, dois tornaram-se hipósmicos. De 19, cinco se tornaram normósmicos e a frequência de parosmia reduziu de 48% para 22%.

O estudo fecha sua conclusão trazendo a necessidade de realização de ensaios clínicos randomizados duplo-cegos, com “n” amostral maior, para confirmar os achados encontrados pelo grupo alemão.

IV. 7.2 Ácido alfa-lipoico e COVID-19

Apesar do estudo clássico de Hummel et. al, 2002, não havia, no momento de planejamento deste estudo, literatura robusta para avaliar a eficácia do ácido alfa-lipoico na recuperação do olfato após a COVID-19.

V. METODOLOGIA DO ESTUDO

V. 1 Desenho do estudo

Este é um ensaio clínico controlado, randomizado, duplo-cego, para avaliar o efeito do ácido-alfa lipoico como adjuvante ao treinamento olfatório na recuperação da perda de olfato pós-COVID-19. O estudo aconteceu no Ambulatório Pós-COVID-19 do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade Federal da Bahia, no período compreendido entre 1º de março a 30 de outubro de 2021. O protocolo do estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética

da Universidade Federal da Bahia (código ético: 4.562.570). Todos os pacientes incluídos no estudo assinaram o consentimento informado antes da participação. Além disso, o nosso estudo foi aprovado no Registo Brasileiro de Ensaio Clínicos- REBEC (U1111-1267-0901).

V.2 Critérios de inclusão

Os critérios de inclusão foram: 1) pacientes ambulatoriais, adultos, entre 18 e 65 anos de idade; 2) infecção por SARS-CoV-2 confirmada por RT-PCR ou teste de antígeno positivo para SARS-CoV-2; 3) distúrbio olfativo com duração superior a três meses. Além disso, a perda olfatória era confirmada por um teste de Connecticut (CCCRC- *Connecticut Chemosensory Clinical Research Center*), com uma pontuação < 6,0.

V.3 Critérios de exclusão

Foram excluídos: 1) pacientes com história de disfunção olfatória prévia à COVID-19; 2) história pessoal de traumatismo craniano; 3) cirurgia e/ou radioterapia nas cavidades oral e nasal; 4) pacientes com rinossinusite crônica; 5) pacientes com doenças psiquiátricas ou neurológicas; 6) corticoterapia recente nos últimos 30 dias; 7) uso atual de ácido alfa-lipóico.

V.4. Avaliação clínica dos pacientes

As características demográficas, a história clínica, os sintomas, a duração da perda olfatória e o resultado do teste olfatório foram colhidos na primeira consulta. Antes de serem examinados, os pacientes foram questionados sobre a sua pontuação olfatória subjetiva utilizando uma escala visual analógica (EVA) de 0 a 10. Após o teste olfativo, os pacientes foram submetidos a exame físico e endoscopia nasal.

V.5 Aferição da Função Olfatória

O teste de *Connecticut Chemosensory Clinical Research Center* (CCCRC) foi utilizado para avaliar a função olfatória de todos os pacientes. (Fenólio, 2020). Cada paciente realizou o teste duas vezes: na admissão e após 12 semanas de tratamento. O teste é composto por duas etapas: 1) Teste do butanol para determinar o limiar; 2) Teste de identificação com 8 aromas.

O teste do limiar foi realizado com soluções de N-butanol em concentração decrescente em 8 diferentes frascos. A concentração mais forte de butanol foi de 4%. Cada um dos outros frascos (do 2 ao 7) continha uma diluição subsequente de 1:3 de N-butanol. O frasco 8 foi

preenchido com água deionizada. Dois frascos vidro-âmbar idênticos foram apresentados ao paciente: um contendo a solução de N-butanol, a partir da diluição maior, e o outro preenchido com água deionizada. A narina não testada foi fechada com uma fita de micropore. Foi solicitado ao paciente que fechasse os olhos e cheirasse cada frasco, relatando qual dos dois cheirava mais forte. O limiar foi identificado quando o sujeito deu a resposta correta quatro vezes. Em caso de erro, foi oferecida ao paciente a solução mais concentrada seguinte. O limiar foi quantificado para cada uma das duas narinas, com uma pontuação de 0 a 7, correspondente ao frasco menos concentrado que o paciente conseguiu detectar corretamente.

Para o teste de identificação, foram utilizados oito odores conhecidos no Brasil: café, sabonete, canela, paçoca, chocolate, talco, naftalina e Vick VapoRub®. Cada etapa foi realizada em ambas as fossas nasais e recebeu uma pontuação de 0 a 7.

Ao final do processo, foi calculado um escore final, seguindo a equação: média do escore obtido no teste do butanol para ambas as narinas mais a média do escore de identificação para as duas narinas/ 2, resultando em um escore também de 0 a 7 que determinou o grau de hiposmia. Foi considerada normosmia a pontuação entre 6,0 e 7,0; hiposmia leve, de 5,0 a 5,75; hiposmia moderada, de 4,0 a 4,75; hiposmia grave, de 2,0 a 3,75 e anosmia, de 0 a 1,75.

V.6 Protocolo de intervenção

Os pacientes incluídos no estudo foram divididos aleatoriamente em dois grupos: intervenção e comparação. Foi utilizado uma tabela de números aleatórios gerada por computador. Tanto os pacientes quanto a pesquisadora estavam completamente cegos; e a aleatorização e a alocação foram efetuadas por uma terceira pessoa pesquisadora da equipe.

O grupo intervenção recebeu um frasco com 180 cápsulas de ácido alfa-lipoico 300mg/cápsula e o grupo comparação recebeu um frasco idêntico com 180 cápsulas de placebo (amido) 300mg/cápsula. Os pacientes deveriam tomar 01 comprimido duas vezes ao dia, durante 12 semanas, seguindo o estudo anterior de Hummel et al., 2002.

Além disso, ambos os grupos receberam um kit de treinamento olfatório com quatro odorantes (álcool feniletílico: rosa, eucaliptol: eucalipto, citronelal: limão e eugenol: cravo) (Hummel, 2009), em potes plásticos rotulados com o nome do odor (fabricados pela Clínica Olfact- Londrina/PR- Brasil). No seu interior, havia um chumaço de algodão embebido com 1mL de cada odor. Os pacientes foram orientados a cheirar os odores duas vezes ao dia, por

aproximadamente 10 segundos cada, resgatando memórias em relação a cada um desses cheiros. Para auxiliar na adesão terapêutica, os pacientes receberam um diário de utilização. Além disso, os pacientes receberam uma chamada telefônica de 4 em 4 semanas durante o período de tratamento para aferir a função olfatória subjetiva, seguindo a escala visual analógica. O objetivo do contato telefônico era manter a aderência e a adesão ao estudo além de recolher dados sobre os efeitos colaterais das medicações.

V.7 Desfechos primários

Ao final de 12 semanas, os pacientes retornaram ao ambulatório. A escala visual analógica foi aplicada, o diário de utilização foi devolvido bem como os frascos com a medicação oral. As pílulas não utilizadas foram contabilizadas. A avaliação final do teste de Connecticut foi realizada. Os desfechos primários coletados foram os novos resultados do teste de Connecticut e a pontuação da EVA em ambos os grupos.

V.8 Tamanho amostral

O tamanho da amostra foi calculado considerando um erro alfa de 0,05, um Poder de Teste 80% (erro beta = 0,2) e um grau de confiança de 95%. Esperávamos uma magnitude de efeito de 4,4 em favor do ácido alfa-lipoico na recuperação do olfato. Assim, o tamanho da amostra foi calculado em 64 indivíduos em cada grupo.

V.9 Análise estatística

A análise estatística foi realizada com o software SPSS 25ª versão (IBM, Armonk, NY, EUA). As variáveis qualitativas foram descritas por meio de frequência (%) e comparadas pelo teste do qui-quadrado. As variáveis quantitativas foram verificadas pelo teste de Kolmogorov-Smirnov para determinar a distribuição normal dos dados mencionados. Por conseguinte, as variáveis com ou sem distribuição normal foram apresentadas como média \pm desvio-padrão ou mediana e intervalo interquartil (percentil 25-75), respectivamente. Foi efetuado o teste t de amostras não pareadas ou o teste de Mann-Whitney para comparar variáveis quantitativas entre os grupos intervenção e comparação. Além disso, foi utilizada a Análise de Variância (ANOVA) mista para avaliar as diferenças entre os grupos. O valor de $p < 0,05$ foi considerado significativo.

VI. RESULTADOS

Entre 1º de março e 30 de outubro de 2021, 134 indivíduos foram avaliados quanto à elegibilidade e, desses, 128 pacientes foram incluídos no estudo. Os participantes foram divididos aleatoriamente em dois grupos para receber: 1) Treinamento olfatório associado a ácido alfa-lipóico 600 mg por dia (grupo intervenção); ou 2) Treinamento olfatório associado a cápsulas de placebo 600 mg por dia (grupo comparação), ambos durante 12 semanas. Quinze indivíduos do grupo intervenção e treze indivíduos do grupo comparação foram excluídos durante o período de acompanhamento. Quarenta e nove pacientes foram analisados no grupo de tratamento de intervenção, enquanto 51 pacientes foram analisados no grupo comparação para avaliar a recuperação da disfunção olfativa (FIGURA 1).

De acordo com a Tabela 1, a média de idade foi de $38,2 \pm 11,3$ e $39,9 \pm 13,3$ anos nos grupos intervenção e controle, respectivamente, sem diferença significativa entre os dois grupos ($p = 0,44$). A duração da perda de olfato foi de 8 [5-12] meses no grupo intervenção e de 7 [5-10,5] meses no grupo comparação ($p = 0,39$). Havia 79,6% e 84,3% dos pacientes do sexo feminino nos grupos intervenção e controle, respectivamente ($p = 0,83$). Foram registados efeitos colaterais em ambos os grupos. Os mais frequentes foram a dispepsia (queimação no estômago e azia) em ambos os grupos (26,5% no grupo intervenção; 7,8% no grupo comparação), $p = 0,13$.

Além disso, não foram observadas diferenças significativas entre os dois grupos nos seguintes critérios: 1) gravidade da COVID-19 ($p = 0,27$); 2) pontuação CCCRC ($p = 0,84$); 3) gravidade da perda olfativa ($p = 0,49$) e 4) pontuação EVA ($p = 0,58$) no momento da admissão do estudo.

FIGURA 1- Fluxograma CONSORT

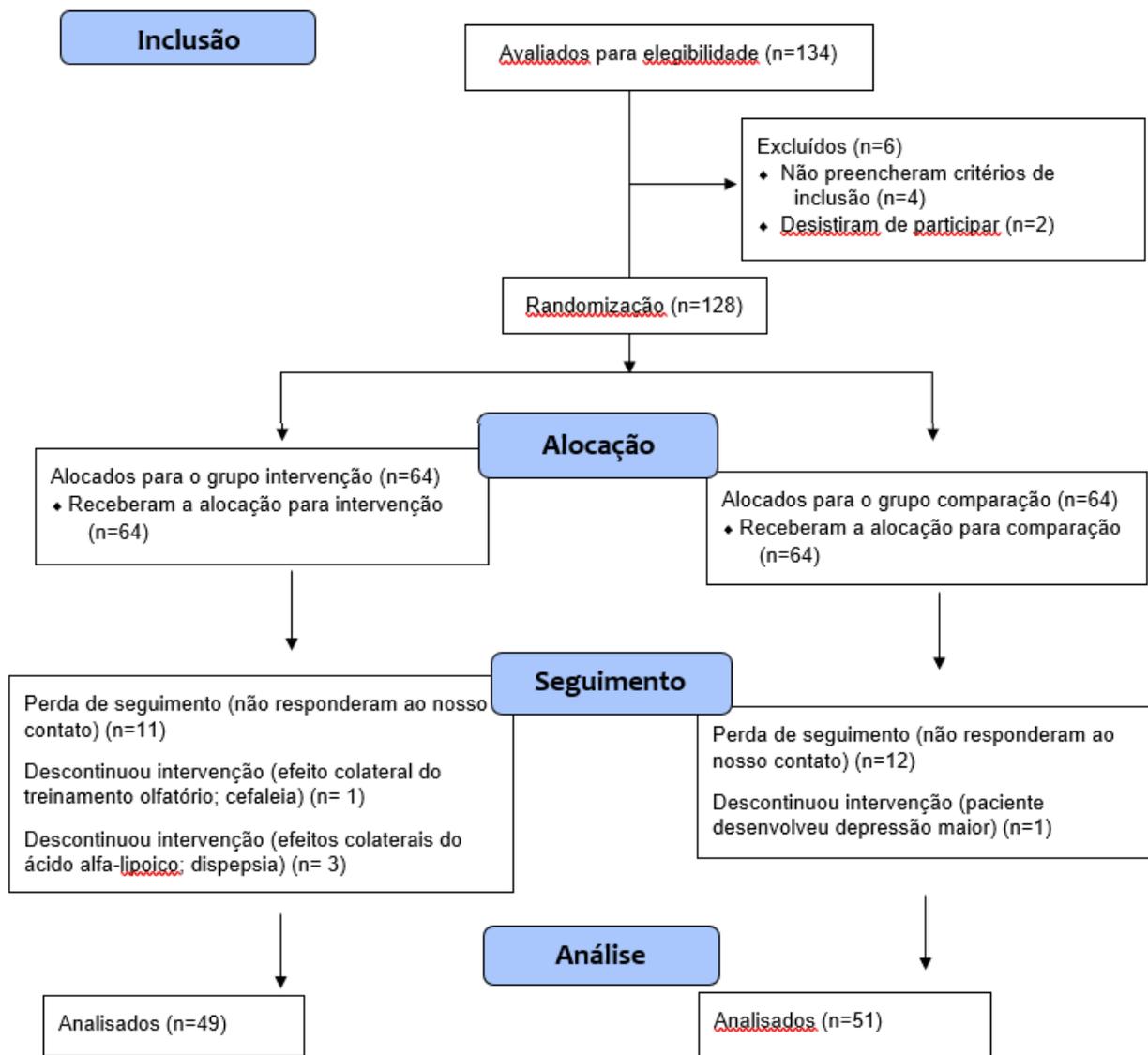


TABELA 1 - Características clínicas e demográficas dos grupos intervenção e comparação

VARIÁVEL	Intervenção (n=49)	Comparação (n=51)	p-valor
Idade, média (DP), anos	38,2 ±11,3	39,9 ±13,3	a 0,44
Mulheres, frequência (%)	79,6	84,3	b 0,83
Nível de escolaridade			
<4 anos, (%)	2,5	2,6	
4-7 anos, (%)	0	5,3	c 0,83
8-11 anos, (%)	15	15,8	
>12 anos, (%)	82,5	76,3	
Método diagnóstico da COVID-19			
RT-PCR, %	65,3	72,5	b 0,15
Teste de Antígeno, (%)	34,7	27,5	
Duração da perda de olfato [IQR], meses	8 [5-12]	7 [5-10,5]	d 0,39
Gravidade da COVID-19			
Leve, (%)	93,9	96,1	
Moderada, (%)	6,1	3,9	c 0,27
Grave, (%)	0	0	
Parosmia, (%)	57,1	49	b 0,19
Disgeusia, (%)	53,2	60,8	b 0,73
Escore CCCRC na admissão do estudo, média (DP)	2,7 ± 1,5	2,9 ± 1,4	a 0,84
Limiar olfatório, média (DP)	2 ± 1,4	1,9 ± 1,3	a 0,89
Identificação, média, (DP)	3,4 ± 1,9	3,8 ± 1,9	a 0,65
Classificação olfatória na admissão do estudo			
Hiposmia leve, (%)	8,2	9,8	
Hiposmia moderada, (%)	18,4	19,6	
Hiposmia grave, (%)	53,1	54,9	b 0,49
Anosmia, (%)	20,4	15,7	
<u>Pontuação EVA, mediana [IQR]</u>	2,5 [0-5]	3 [1-5]	d 0,58

Abreviações: DP, desvio-padrão; IQR: intervalo interquartil; RT-PCR: *reverse transcription polymerase chain reaction*; COVID-19: *Coronavirus Disease 2019*; CCCRC: *Connecticut Chemosensory Clinical Research Center*; EVA: Escala visual analógica.

a Teste T de Student; b X² teste; c Teste Exato de Fisher; d Teste U de Wilcoxon-Mann-Whitney

A Tabela 2 mostra os escores olfativos de acordo com o teste de Connecticut e a EVA no período de acompanhamento. Ao comparar as pontuações médias do teste do olfato com base na CCCRC, ambos os grupos melhoraram a pontuação da CCCRC ($p=0,000$), o limiar olfativo ($p=0,000$), a pontuação de identificação ($p=0,000$) e a pontuação da EVA ($p=0,000$) 12 semanas após o tratamento.

TABELA 2- Comparação da evolução olfatória baseado no Teste de Connecticut e EVA dos grupos intervenção e comparação

Avaliação Olfatória	Admissão no estudo	Final (12 semanas)	p-valor dentro do grupo (a)	p-valor entre os grupos (a)
Escore CCCRC, média (DP)				
Intervenção (TO+ALA)	2,7 ± 1,5	4,6 ± 1,3	$p<0,001$	
Comparação (TO)	2,9 ± 1,4	4,3 ± 1,6	$p<0,001$	$p=0,63$
Limiar olfatório, média (DP)				
Intervenção (TO+ALA)	2 ± 1,4	4,2 ± 1,7	$p<0,001$	$p=0,50$
Comparação (TO)	1,9 ± 1,3	3,8 ± 1,9	$p<0,001$	
Identificação, média (DP)				
Intervenção (TO+ALA)	3,4 ± 1,9	4,9 ± 1,5	$p<0,001$	
Comparação (TO)	3,8 ± 1,9	4,9 ± 1,8	$p<0,001$	$p=0,96$
Pontuação EVA, mediana, [IQR]				
Intervenção (TO+ALA)	2,5 [0-5]	6 [4-8]	$p<0,001$	$p=0,97$
Comparação (TO)	3 [1-5]	6,5 [5-8]	$p<0,001$	

Abreviações: DP: desvio-padrão; TO: treinamento olfatório; ALA: ácido alfa-lipoico; IQR: intervalo interquartil; EVA: escala visual analógica.

a Análise de Variância (ANOVA) e *post-hoc* teste de Sidak

Todos os desfechos da avaliação olfatória apresentaram diferença estatisticamente significativa após as 12 semanas do estudo: o escore de Connecticut (CCRC) ($p<0,001$), o limiar olfatório ($p<0,001$), a identificação de odores ($p<0,001$) e pontuação EVA ($p<0,001$).

Não foram encontradas diferenças significativas na variação do CCCRC inicial e final entre os grupos intervenção e comparação ($p=0,63$). Além disso, também não houve diferenças estatisticamente significativas entre os dois grupos nas pontuações relativas ao limiar olfativo, à identificação e à pontuação da EVA ($p=0,50$, $0,96$ e $0,97$, respectivamente).

A variação do escore de Connecticut foi de $1,5 \pm 1,1$ para o grupo intervenção e $1,2 \pm 1,3$ para o grupo de comparação ($p=0,48$). A variação da pontuação da EVA foi de 3 [1,5-5] no grupo intervenção e 3 [1,1- 4,7] no grupo de comparação ($p=0,64$). Não houve diferença estatisticamente significativa entre os desfechos olfatórios nos grupos intervenção e comparação, vide Tabela 3.

TABELA 3- Desfecho terapêutico dos pacientes do estudo

Desfecho	Intervenção (n=64)	Comparação (n=64)	p-valor
Escore de Connecticut final, média (DP)	4,6 \pm 1,2	4,3 \pm 1,6	a 0,41
Limiar olfativo, média (DP)	4,1 \pm 1,6	3,7 \pm 1,9	a 0,79
Identificação, média (DP)	5 \pm 2,5	5 \pm 3	c 0,97
Varição do Score de Connecticut, média (DP)	1,5 \pm 1,1	1,2 \pm 1,3	a 0,48
EVA final, média (DP)	5,9 \pm 2,7	6,1 \pm 2,4	a 0,86
Varição EVA, mediana (IQR)	3 [1,5-5]	3 [1,1-4,7]	c 0,64
Parosmia final			
Presente, com melhora, %	23,3	32,6	b 0,61
Ausente, %	74,4	61,8	b 0,61
Normosmia, %	16	16,3	b 0,34

Abreviações: DP, desvio-padrão; IQR, intervalo interquartil.

a Teste t de Student b Teste Exato de Fisher c U de Willcoxon-Mann-Whitney

As Figuras 2 e 3 mostram a distribuição gráfica da classificação olfatória em ambos os grupos ao longo do estudo e a Figura 4, um boxplot que representa o resultado comparativo final deste estudo.

FIGURAS 2 E 3- Classificação olfatória inicial e final

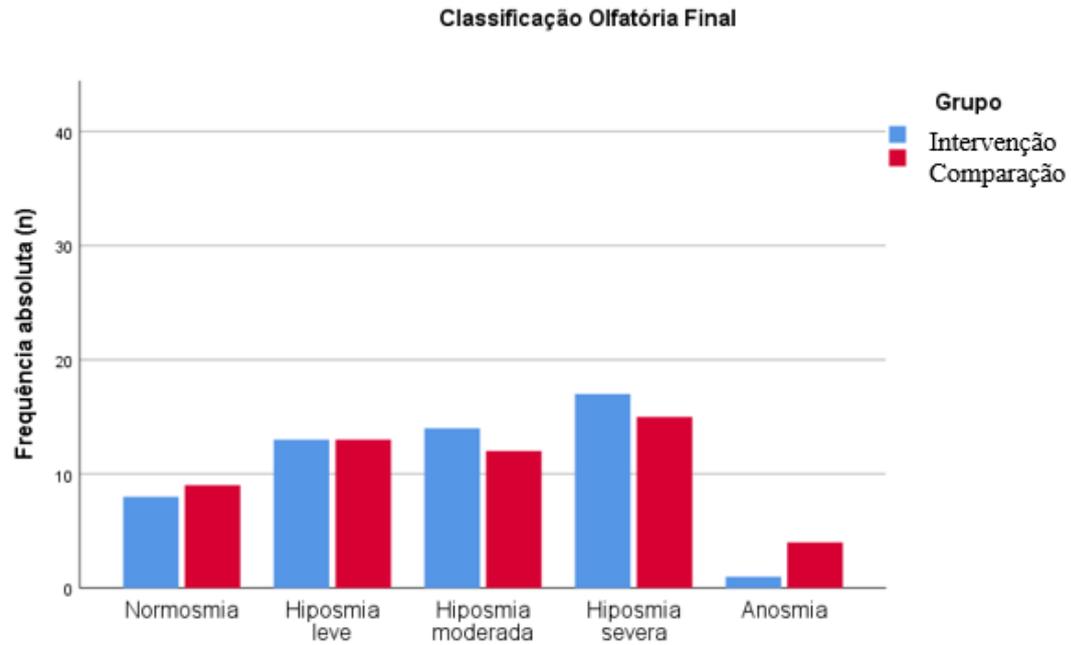
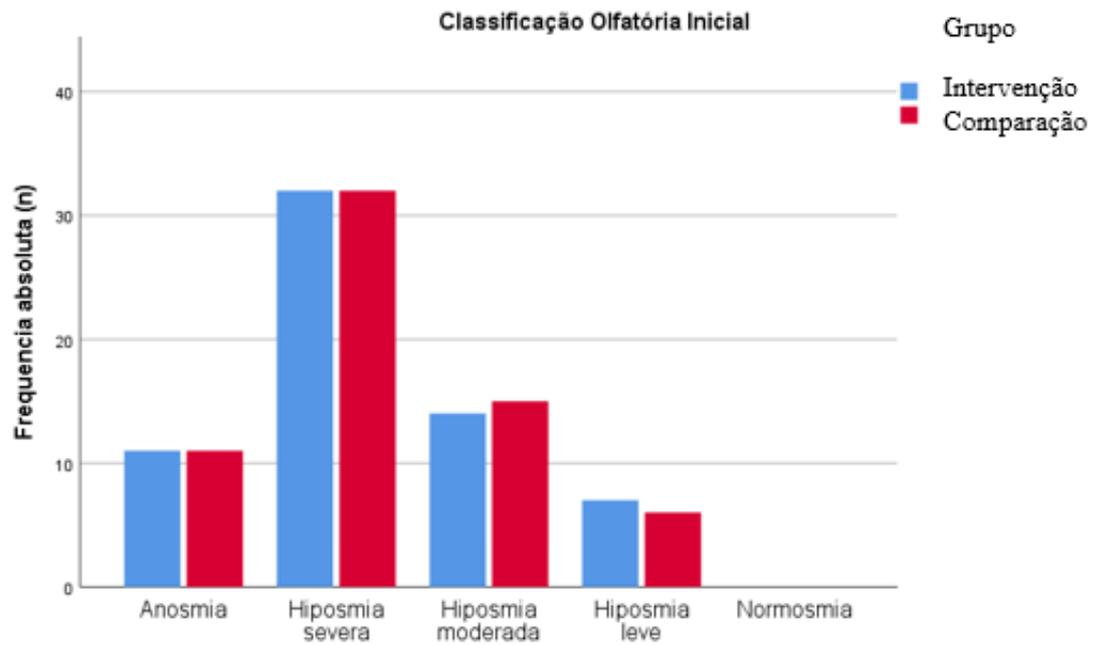
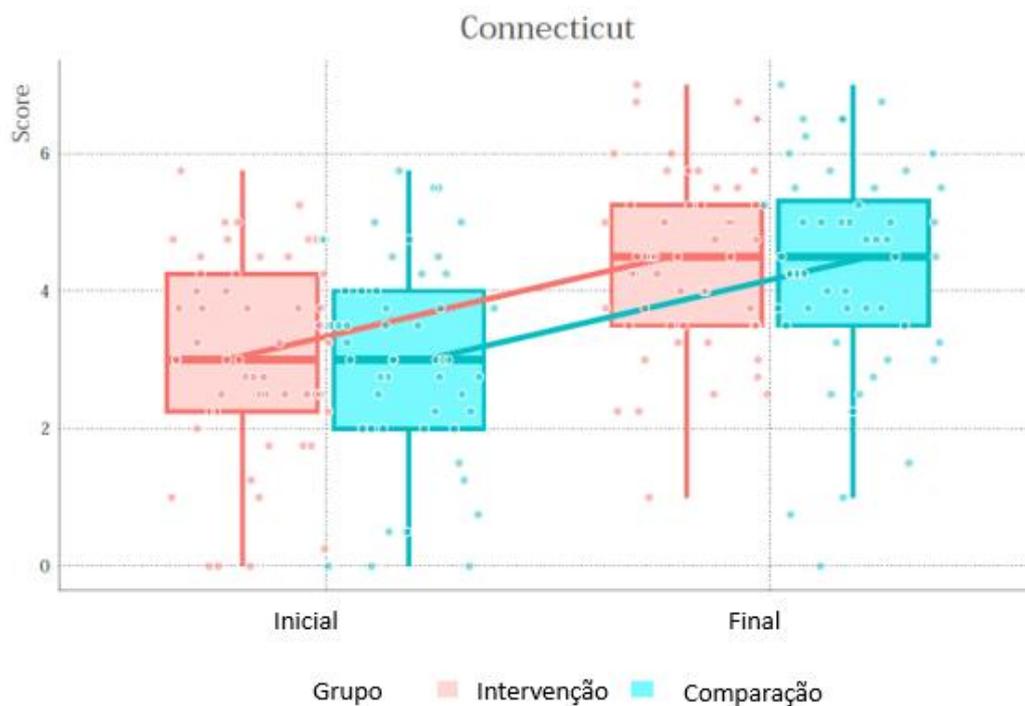


FIGURA 4- Boxplot com a evolução do score de Connecticut nos dois grupos



Na admissão do estudo, anosmia foi registrada em 20,4% e 15,7% pacientes dos grupos intervenção e comparação, respectivamente (vide TABELA 1). No final do estudo, a frequência de anosmia diminuiu para 2% no grupo intervenção e para 7,8% no grupo comparação (dados não mostrados em Tabela). No grupo intervenção, 16,8% dos pacientes atingiram normosmia; no grupo comparação, 15,7%. (TABELA 3).

Também não houve diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos no que diz respeito à gravidade da perda de olfato durante o período de seguimento.

VII. DISCUSSÃO

Este estudo é o primeiro ensaio clínico randomizado a avaliar o efeito do ácido alfa-lipoico como adjuvante ao treinamento olfatório na recuperação da perda de olfato pós-COVID-19.

Aqui, encontramos fortes diferenças estatisticamente significativas nos escores de Connecticut e escala visual analógica no período de acompanhamento em ambos os grupos. Comparando os escores médios dos testes de olfato, ambos os grupos melhoraram a pontuação geral do teste de Connecticut ($p < 0,001$), bem como seus dois domínios: o limiar olfatório ($p < 0,001$) e o escore de identificação ($p < 0,001$). Além disso, a pontuação da escala visual analógica também melhorou após 12 semanas de tratamento nos dois grupos ($p < 0,001$). Ao final do estudo, 16,3% do grupo intervenção e 15,7% do grupo comparação atingiram a normosmia.

Em 2002, Hummel et al. concluíram que o ácido alfa-lipóico (ALA) pode ser útil em pacientes com perda olfatória pós-viral. (Hummel, 2002). Neste estudo clássico, foi realizado um ensaio clínico prospectivo não cego, com apenas 23 pacientes incluídos. Desde então, não foram realizados outros ensaios clínicos que testaram o ácido alfa-lipoico na função olfatória.

O ácido alfa-lipóico é um ácido graxo que penetra na barreira hemato-encefálica. É metabolizado na célula para o seu metabólito ativo, o ácido dihidro-lipóico (DHHLA). (Salehi, 2019). Tanto o ALA como o DHHLA têm um papel determinante no metabolismo oxidativo celular. Enquanto o ALA reduz o oxigênio singlete, o peroxinitrito, o ácido hipocloroso e os radicais hidroxila, o DHHLA diminui o superóxido e os radicais peroxil, e regenera a vitamina E, elevando as concentrações intracelulares de glutatona. (Moura, 2015). Assim, tanto o ALA como o DHHLA apresentam propriedades úteis na reparação de lesões oxidativas.

Apesar de sua propriedade antioxidante e de ter um estudo clássico apontando benefícios do seu uso, o ácido alfa-lipoico no nosso estudo não apontou resultados estatisticamente significativos como adjuvante ao treinamento olfatório.

Apesar de termos encontrado resultados negativos para o uso ácido alfa-lipóico como adjuvante na recuperação da perda do olfato devido à COVID-19, os nossos resultados confirmam a segurança do treinamento olfatório. Trata-se de uma terapia simples, de custo relativamente baixo, indicada pelo otorrinolaringologista ou por médicos que cuidam de pacientes com perda de olfato.

De acordo com o Consenso Britânico de perda de olfato publicado pela Sociedade Britânica de Rinologia (Hopkins, 2021), o treinamento olfatório é recomendado para pacientes com perda de olfato com tempo superior a 2 semanas. Os benefícios do treinamento olfatório

se baseiam na capacidade dessa terapia em estimular a regeneração dos neurônios olfatórios e a maior expressão dos seus receptores. (Altundag, 2015, Hummel, 2009).

Zhang et. al., 2021, publicaram uma recente revisão sistemática com meta-análise sobre a eficácia e a segurança do treinamento olfatório para pacientes com COVID-19 com distúrbios do olfato. (Zhang, 2021). O nosso estudo é consistente com esses achados de trabalhos anteriores a favor do treinamento olfatório na recuperação da perda do olfato.

Esta pesquisa, contudo, tem algumas limitações. Em primeiro lugar, quando a iniciamos, não havia nenhum estudo publicado sobre treinamento olfatório ou sobre o ácido alfa-lipóico na recuperação da perda do olfato pós-COVID-19. Por isso, o cálculo do tamanho da amostra trouxe dificuldades. Esperávamos um efeito de grande dimensão na utilização do ácido alfa-lipóico. Embora isso tenha impactado o tamanho amostral, os resultados sugerem um efeito positivo do treinamento olfatório. Em um contexto em que a formação médica tradicional supervaloriza a intervenção medicamentosa, este estudo aponta que as terapias complementares não podem ser descartadas ou subestimadas.

Também é uma limitação do nosso estudo não ter tido um grupo de controle em que pudéssemos observar apenas a recuperação espontânea. Deparamo-nos com um problema ético em deixar parte dos participantes sem qualquer tratamento promissor. Por isso, não o fizemos.

Nosso estudo é o primeiro ensaio duplo-cego randomizado a avaliar o ácido alfa-lipoico como tratamento adjuvante para distúrbios olfatórios de longa duração em pacientes com COVID-19.

Dada a elevada incidência desta infecção na população, existe um número significativo e crescente de doentes com perturbações olfatórias persistentes que necessitarão de tratamento.

VIII. PROPOSTAS DE ESTUDO

Não foram avaliados os efeitos do ácido alfa-lipoico e do treino olfatório em perturbações qualitativas, como a parosmia. Planejamos apresentá-lo em um outro estudo.

IX. CONCLUSÕES

No nosso estudo, treinamento olfatório isolado ou associado a ácido-alfa lipoico melhorou significativamente o resultado do teste olfatório de Connecticut e a pontuação pela

escala visual analógica, após 12 semanas de tratamento. Entretanto, não houve diferença estatisticamente significativa nos dois grupos.

Embora, no final da intervenção, a anosmia tenha sido registrada em 2% no grupo intervenção contra 7,8% no grupo comparação, não foram encontradas diferenças significativas entre os dois grupos.

Nossos resultados reforçam a importância do treinamento olfatório para recuperação da perda de olfato pós-COVID-19, especialmente a longo prazo.

Por fim, recomendamos a realização de mais ensaios clínicos randomizados para reproduzir esses resultados.

X. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Abdelalim AA, Mohamady AA, Elsayed RA, Elawady MA, Ghallab AF. Corticosteroid nasal spray for recovery of smell sensation in COVID-19 patients: A randomized controlled trial. *American Journal of Otolaryngology*, 2021: 42(2).
2. Agathos E, Tentolouris A, Eleftheriadou I, Katsaouni P, Nemtzas I, Petrou A, Papanikolaou C, & Tentolouris N. Effect of α -lipoic acid on symptoms and quality of life in patients with painful diabetic neuropathy. *The Journal of International Medical Research*, 2018. 46(5):1779–1790.
3. Altundag A, Cayonu M, Kayabasoglu G, Salihoglu M, Tekeli H, Saglam O, Hummel T. Modified olfactory training in patients with postinfectious olfactory loss. *Laryngoscope*. 125(8):1763-6, 2015.
4. Bourgonje AR, Abdulle AE, Timens W, Hillebrands JL, Navis GJ, Gordijn SJ, Bolling MC, Dijkstra G, Voors AA, Osterhaus AD, van der Voort PH, Mulder DJ, van Goor H. Angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2), SARS-CoV-2 and the pathophysiology of coronavirus disease 2019 (COVID-19). *Journal of Pathology*. 2020 Jul;251(3):228-248.
5. Brandão Neto D, Fornazieri MA, Dib C, Di Francesco RC, Doty RL, Voegels RL, Pinna FR. Chemosensory Dysfunction in COVID-19: Prevalences, Recovery Rates and Clinical Associations on a Large Brazilian Sample. *Otolaryngology Head and Neck Surgery*. 164(3):512-518, 2021.
6. Brann DH, Tsukahara T, Weinreb C, Lipovsek M, Van den Berge K, Gong B, Chance R, Macaulay IC, Chou HJ, Fletcher RB, Das D, Street K, de Bezieux HR, Choi YG, Risso D, Dudoit S, Purdom E, Mill J, Hachem RA, Matsunami H, Logan DW, Goldstein BJ, Grubb MS, Ngai J, Datta SR. Non-neuronal expression of SARS-CoV-2 entry genes in the olfactory system suggests mechanisms underlying COVID-19-associated anosmia. *Science Advances*. 2020 Jul 31;6(31):eabc5801
7. Bromley, SM. Smell and taste disorders: a primary care approach. *American family physician* vol. 61,2 (2000): 427-36, 438.
8. Buck, L, and R Axel. A novel multigene family may encode odorant receptors: a molecular basis for odor recognition. *Cell* vol. 65,1 (1991): 175-87.
9. Cain, WS, Gent, JF, Goodspeed, RB, Leonard, G. Evaluation of olfactory dysfunction in the Connecticut Chemosensory Clinical Research Center. *The Laryngoscope*, 1988. 98(1), 83–88.

10. Cameron NE, Cotter MA, Horrobin DF, Tritschler HJ. Effects of α -lipoic acid on neurovascular function in diabetic rats: interaction with essential fatty acids, *Diabetologia* 1998; 41, 390-399.
11. Donoghue M, Hsieh F, Baronas E, Godbout K, Gosselin M, Stagliano N, Donovan M, Woolf B, Robison K, Jeyaseelan R, Breitbart RE, Acton S. A novel angiotensin-converting enzyme-related carboxypeptidase (ACE2) converts angiotensin I to angiotensin 1-9. *Circulation Research*. 2000
12. Dimpfel W, Spuler M, Pierau FK, Ulrick H. "Thioctic acid induces dose-dependent sprouting of neuritis in cultured rat neuroblastoma cells", *Development Pharmacological Therapies*. 1990; 14, 193-199.
13. Elkholi SMA, Abdelwahab MK, Abdelhafeez M. Impact of the smell loss on the quality of life and adopted coping strategies in COVID-19 patients. *European archives of oto-rhino-laryngology : official journal of the European Federation of Oto-Rhino-Laryngological Societies (EUFOS) : affiliated with the German Society for Oto-Rhino-Laryngology - Head and Neck Surgery*. 2021 Sep;278(9):3307-3314. doi: 10.1007/s00405-020-06575-7.
14. Fenólio GHM, Anselmo-Lima WT, Tomazini GC, Compagnoni IM, Amaral MSAD, Fantucci MZ, Peixoto PPL, Guimarães AF, Guimarães RES, Sakano E, Valera FCP, Tamashiro E. Validation of the Connecticut olfactory test (CCCRC) adapted to Brazil. *Brazilian Journal of Otorhinolaryngology*. 2020; 88(5):725-732.
15. Fornazieri MA, Garcia ECD, Lopes NMD, Miyazawa INI, Silva GDS, Monteiro RDS, Pinna FR, Voegels RL, Doty RL. Adherence and Efficacy of Olfactory Training as a Treatment for Persistent Olfactory Loss. *American Journal of Rhinology & Allergy*, 2020. 34(2), 238–248.
16. Gane SB, Kelly C, Hopkins C.. Isolated sudden onset anosmia in COVID-19 infection. A novel syndrome? *Rhinology Journal*. 2020. April 02;58(3):299–301
17. Giacomelli, A., Pezzati, L., Conti, F., Bernacchia, D., Siano, M., Oreni, L., Rusconi, S., Gervasoni, C., Ridolfo, A. L., Rizzardini, G., Antinori, S., & Galli, M. (2020). Self-reported Olfactory and Taste Disorders in Patients With Severe Acute Respiratory Coronavirus 2 Infection: A Cross-sectional Study. *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 71(15), 889–890.
18. Haugaard N, Haugaard ES. Stimulation of glucose utilization by thioctic acid in rat diaphragm incubated *in vitro*, *Biochimichal and Biophysical Acta* . 1970: 222, 583-586.

19. Hopkins, C., Surda, P., Whitehead, E., & Kumar, B. N. (2020). Early recovery following new onset anosmia during the COVID-19 pandemic - an observational cohort study. *Journal of otolaryngology - head & neck surgery*, 49(1), 26.
20. Hopkins C, Alanin M, Philpott C, Harries P, Whitcroft K, Qureishi A, Anari S, Ramakrishnan Y, Sama A, Davies E, Stew B, Gane S, Carrie S, Hathorn I, Bhalla R, Kelly C, Hill N, Boak D, Nirmal Kumar B. Management of new onset loss of sense of smell during the COVID-19 pandemic - BRS Consensus Guidelines. *Clinical Otolaryngology*. 2021 Jan;46(1):16-22.
21. Huart C, Philpott CM, Altundag A, Fjaeldstad AW, Frasnelli J, Gane S, Hsieh JW, Holbrook EH, Konstantinidis I, Landis BN, Macchi A, Mueller CA, Negroias S, Pinto JM, Poletti SC, Ramakrishnan VR, Rombaux P, Vodicka J, Welge-Lüessen A, Whitcroft KL, Hummel T. Systemic corticosteroids in coronavirus disease 2019 (COVID-19)-related smell dysfunction: an international view. *International forum of allergy & rhinology*, 2021 Jul;11(7):1041-1046. doi: 10.1002/alr.22788.
22. Hummel, T., Sekinger, B., Wolf, S. R., Pauli, E., & Kobal, G. 'Sniffin' sticks': olfactory performance assessed by the combined testing of odor identification, odor discrimination and olfactory threshold. *Chemical senses*, 1997. 22(1), 39–52.
23. Hummel T, Heilmann S, Huttenbriuk KB. Lipoic acid in the treatment of smell dysfunction following viral infection of the upper respiratory tract. *Laryngoscope*. 112:2076–2080, 2002.
24. Hummel T, Rissom K, Reden J, Hahner A, Weidenbecher M, Huttenbrink KB. Effects of olfactory training in patients with olfactory loss. *Laryngoscope*. 119:496–499, 2009.
25. Hura N, Xie DX, Choby GW, Schlosser RJ, Orlov CP, Seal SM, Rowan NR. Treatment of post-viral olfactory dysfunction: an evidence-based review with recommendations. *International forum of allergy & rhinology*. 2020 Sep;10(9):1065-1086. doi: 10.1002/alr.22624. Epub 2020 Jun 25
26. Jin Y, Yang H, Ji W, Wu W, Chen S, Zhang W, Duan G. Virology, Epidemiology, Pathogenesis, and Control of COVID-19. *Viruses*. 2020 Mar 27;12(4):372.
27. Kagan VE, Shvedova A, Serbinova E, Khan S, Swanson C, Powell R, Packer L. Dihydrolipoic acid--a universal antioxidant both in the membrane and in the aqueous phase. Reduction of peroxy, ascorbyl and chromanoxyl radicals. *Biochemical pharmacology*, 1992. 44(8), 1637–1649.
28. Kosugi EM, Lavinsky J, Romano FR, Fornazieri MA, Luz-Matsumoto GR, Lessa MM, Piltcher OB, Sant'Anna GD. Incomplete and late recovery of sudden olfactory

- dysfunction in COVID-19. *Brazilian Journal of Otorhinolaryngology*. Jul-Aug;86(4):490-496, 2020.
29. Lechien, J. R., Chiesa-Estomba, C. M., De Siati, D. R., Horoi, M., Le Bon, S. D., Rodriguez, A., Dequanter, D., Blecic, S., El Afia, F., Distinguin, L., Chekkoury-Idrissi, Y., Hans, S., Delgado, I. L., Calvo-Henriquez, C., Lavigne, P., Falanga, C., Barillari, M. R., Cammaroto, G., Khalife, M., Leich, P., ... Saussez, S. (2020). Olfactory and gustatory dysfunctions as a clinical presentation of mild-to-moderate forms of the coronavirus disease (COVID-19): a multicenter European study. *European archives of oto-rhino-laryngology : official journal of the European Federation of Oto-Rhino-Laryngological Societies (EUFOS) : affiliated with the German Society for Oto-Rhino-Laryngology - Head and Neck Surgery*, 277(8), 2251–2261.
 30. Lee, Y., Min, P., Lee, S., & Kim, S. W. (2020). Prevalence and Duration of Acute Loss of Smell or Taste in COVID-19 Patients. *Journal of Korean medical science*, 35(18), e174.
 31. Lynch MA. Lipoic acid confers protection against oxidative injury in non-neuronal and neuronal tissue. *Nutritional Neuroscience*. 2001;4:419–438.
 32. Mao, L., Jin, H., Wang, M., Hu, Y., Chen, S., He, Q., Chang, J., Hong, C., Zhou, Y., Wang, D., Miao, X., Li, Y., & Hu, B. (2020). Neurologic Manifestations of Hospitalized Patients With Coronavirus Disease 2019 in Wuhan, China. *JAMA neurology*, 77(6), 683–690.
 33. Merad M, Blish CA, Sallusto F, Iwasaki A. The immunology and immunopathology of COVID-19. *Science*. 2022 Mar 11;375(6585):1122-1127.
 34. Menni C, Valdes AM, Freidin MB, et al. Real-time tracking of self-reported symptoms to predict potential COVID-19. *Nature Medicine* 26(7):1037-1040, 2020.
 35. Mijnhout GS, Kollen B J, Alkhalaf A, Kleefstra N, & Bilo HJ. Alpha lipoic Acid for symptomatic peripheral neuropathy in patients with diabetes: a meta-analysis of randomized controlled trials. *International Journal of Endocrinology*, 2012, 456279.
 36. Moore, Keith L.; DALLEY, Arthur F.. Anatomia orientada para a clínica. 6ª edição. Rio De Janeiro: Editora Guanabara Koogan S.A., 2011, 1103 p.
 37. Moura F.A., de Andrade K.Q., dos Santos J.C., Goulart M.O. Lipoic acid: Its antioxidant and anti-inflammatory role and clinical applications. *Current Topics in Medicinal Chemistry*. 15:458–483, 2015.

38. Mullol J, Alobid I, Mariño-Sánchez F, Izquierdo-Domínguez A, Marin C, Klimek L, Wang DY, Liu Z. The Loss of Smell and Taste in the COVID-19 Outbreak: a Tale of Many Countries. *Current Allergy and Asthma Reports*. 2020 Aug 3;20(10):61
39. Murase K, Hattori A, Kohno M, Hayashi K. Stimulation of nerve growth factor synthesis/secretion in mouse astroglial cells by coenzymes, *Biochemical and Molecular Biology*. 1993; 30, 615-621.
40. Patel ZM, Holbrook EH, Turner JH, Adappa ND, Albers MW, Altundag A, Appenzeller S, Costanzo RM, Croy I, Davis GE, Dehgani-Mobaraki P, Doty RL, Duffy VB, Goldstein BJ, Gudis DA, Haehner A, Higgins TS, Hopkins C, Huart C, Hummel T, Jitaroon K, Kern RC, Khanwalkar AR, Kobayashi M, Kondo K, Lane AP, Lechner M, Leopold DA, Levy JM, Marmura MJ, McLelland L, Miwa T, Moberg PJ, Mueller CA, Nigwekar SU, O'Brien EK, Paunescu TG, Pellegrino R, Philpott C, Pinto JM, Reiter ER, Roalf DR, Rowan NR, Schlosser RJ, Schwob J, Seiden AM, Smith TL, Soler ZM, Sowerby L, Tan BK, Thamboo A, Wrobel B, Yan CH. International consensus statement on allergy and rhinology: Olfaction. *International Forum of Allergy and Rhinology*. 2022 Apr;12(4):327-680.
41. Pinna, F. R., Brandão Neto, D., Fornazieri, M. A., & Voegels, R. L. (2020). Olfaction and COVID: The little we Know and what else we need to know. *International archives of otorhinolaryngology*, 24(3), e386–e387. <https://doi.org/10.1055/s-0040-1713143>
42. Pinto, Jayant M. Olfaction. *Proceedings of the American Thoracic Society* 8,1 (2011): 46-52.
43. Pires ÍAT, Steffens ST, Mocelin AG, et al. Intensive Olfactory Training in Post-COVID-19 Patients: A Multicenter Randomized Clinical Trial. *American Journal of Rhinology and Allergy*. 2022;36(6):780-787.
44. Rocke J, Hopkins C, Philpott C, et al. Is loss of sense of smell as a diagnostic marker in COVID-19: A systematic review and meta-analysis. *Authorea*. 2020.
45. Sánchez-Vallecillo MV, Fraire ME, Baena-Cagnani C, & Zernotti ME. Olfactory dysfunction in patients with chronic rhinosinusitis. *International Journal of otolaryngology*, 2012, 327206.
46. Salehi B, Berkay Yılmaz Y, Antika G, et al. Insights on the Use of α -Lipoic Acid for Therapeutic Purposes. *Biomolecules*. 9(8):356, 2019.
47. Schwob JE, Youngentob SL, Ring G, et al. Reinnervation of the rat olfactory bulb after methyl bromide-induced lesion: timing and extent of reinnervation. *The Journal of Comparative Neurology*, 1999; 412:439–457.

48. Smith, Timothy D, and Kunwar P Bhatnagar. Anatomy of the olfactory system. *Handbook of clinical neurology* vol. 164 (2019): 17-28.
49. Toledano A, Ruiz C, Navas C, Herráiz C, González E, Rodríguez G, & Galindo AN. Development of a short olfactory test based on the Connecticut Test (CCCRC). *Rhinology*, 2009. 47(4), 465–469.
50. Veyseller, B, Ozucer, B, Karaaltin, AB, Yildirim, Y, Degirmenci, N, Aksoy, F, Ozturan, O. Connecticut (CCCRC) Olfactory Test: Normative Values in 426 Healthy Volunteers. *Indian journal of otolaryngology and head and neck surgery: official publication of the Association of Otolaryngologists of India*, 2014. 66(1), 31–34.
51. Wang HW, Wysocki CJ, Gold GH. Induction of olfactory receptor sensitivity in mice. *Science* 1993;260:998–1000.
52. Wang L, Chen L, Jacob T. Evidence for peripheral plasticity in human odour response. *Journal of Physiology* 2004; 554(Pt 1):236-244.
53. Williamson, A. and Hoggart, B. Pain: a review of three commonly used pain rating scales. *Journal of Clinical Nursing*, 2005. 14: 798-804.
54. Wilson DA, Best AR, Sullivan RM. Plasticity in the olfactory system: lessons for the neurobiology of memory. *Neuroscientist* 2004; 10:513–524.
55. Yan CH, Overdevest JB, Patel ZM. “Therapeutic use of steroids in non-chronic rhinosinusitis olfactory dysfunction: a systematic evidence-based review with recommendations.” *International forum of allergy & rhinology* vol. 9,2 (2019): 165-176.
56. Zhang Y, Mei T, Chen Y, Wang L, Jiang L, Liu K, Zhao L, Luo Z, Chi W, Zhu X. Smell disorders in COVID-19 patients: role of olfactory training: A protocol for systematic review and meta-analysis. *Medicine (Baltimore)*. 100(8):e24862, 2021.
57. Zhou P, Yang XL, Wang XG, Hu B, Zhang L, Zhang W, Si HR, Zhu Y, Li B, Huang CL, Chen HD, Chen J, Luo Y, Guo H, Jiang RD, Liu MQ, Chen Y, Shen XR, Wang X, Zheng XS, Zhao K, Chen QJ, Deng F, Liu LL, Yan B, Zhan FX, Wang YY, Xiao GF, Shi ZL. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature*. 2020 Mar;579(7798):270-273.
58. Zhou Z, Kang H, Li S, & Zhao X. Understanding the neurotropic characteristics of SARS-CoV-2: from neurological manifestations of COVID-19 to potential neurotropic mechanisms. *Journal of Neurology*, 2020. 267(8): 2179–2184.
59. Zhu N, Zhang D, Wang W, Li X, Yang B, Song J, Zhao X, Huang B, Shi W, Lu R, Niu P, Zhan F, Ma X, Wang D, Xu W, Wu G, Gao GF, Tan W; China Novel Coronavirus

Investigating and Research Team. A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019. *New England Journal of Medicine*. 2020 Feb 20;382(8):727-733.