



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS

FERNANDO AUGUSTO PERES

AVALIAÇÃO LONGITUDINAL DA ALTERAÇÃO OLFATÓRIA NO LÚPUS
ERITEMATOSO SISTÊMICO: IMPORTÂNCIA DO ANTICORPO ANTI-P
RIBOSSOMAL E VOLUMES DO HIPOCAMPO E AMÍGDALA

Campinas, 2018

FERNANDO AUGUSTO PERES

**AVALIAÇÃO LONGITUDINAL DA ALTERAÇÃO OLFATÓRIA NO LÚPUS
ERITEMATOSO SISTÊMICO: IMPORTÂNCIA DO ANTICORPO ANTI-P
RIBOSSOMAL E VOLUMES DO HIPOCAMPO E AMÍGDALA**

Tese de doutorado apresentada à pós-graduação da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP, para obtenção do Título de Doutor em Ciências, na área de clínica médica.

.

ORIENTADORA: Prof^ª Dr^a Simone Appenzeller
COORIENTADORA: Prof^ª Dr^a Lilian Tereza Lavras Costallat

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DA TESE DEFENDIDA PELO ALUNO FERNANDO AUGUSTO PERES E ORIENTADO PELA PROF^ª. DR^a. SIMONE APPENZELLER.

Campinas, 2018

Agência(s) de fomento e nº(s) de processo(s): FAPESP, 2014007347

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca da Faculdade de Ciências Médicas
Maristella Soares dos Santos - CRB 8/8402

P415a Peres, Fernando Augusto, 1988-
Avaliação longitudinal da alteração olfatória no lúpus eritematoso sistêmico : importância do anticorpo anti-P ribossomal e volumes do hipocampo e amígdala / Fernando Augusto Peres. – Campinas, SP : [s.n.], 2018.

Orientador: Simone Appenzeller.
Coorientador: Lilian Tereza Lavras Costallat.
Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Ciências Médicas.

1. Lúpus eritematoso sistêmico. 2. Olfato. 3. Anticorpos. 4. Tonsila do cerebelo. 5. Hipocampo. I. Appenzeller, Simone, 1974-. II. Costallat, Lilian Tereza Lavras, 1952-. III. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. IV. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em outro idioma: Longitudinal evaluation of the olfactory alteration in systemic lupus erythematosus : importance of the anti-ribosomal P antibodies

Palavras-chave em inglês:

Lupus erythematosus, Systemic

Smell

Antibodies

Amygdala

Hippocampus

Área de concentração: Clínica Médica

Titulação: Doutor em Ciências

Banca examinadora:

Simone Appenzeller [Orientador]

Andre de Souza Cavalcanti

Fabiano Reis

Jozélio Freire de Carvalho

Sergio Juan Dertkigil

Data de defesa: 06-02-2018

Programa de Pós-Graduação: Ciências Médicas

BANCA EXAMINADORA DA DEFESA DE DOUTORADO

FERNANDO AUGUSTO PERES

ORIENTADOR: PROF. DRA. SIMONE APPENZELLER

COORIENTADOR: PROF. DRA. LILIAN TEREZA LAVRAS COSTALLAT

MEMBROS:

1. PROFa DRa. SIMONE APPENZELLER

2. PROF. DR. SERGIO SAN JUAN DERTKGIL

3. PROF. DR. FABIANO REIS

4. PROF.DR. JOZÉLIO FREIRE DE CARVALHO

5.PROF.DR. ANDRE DE SOUZA CAVALCANTI

Programa de Pós-Graduação em Clínica Médica da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.

A ata de defesa com as respectivas assinaturas dos membros da banca examinadora encontra-se no processo de vida acadêmica do aluno.

Data: 06/02/2018

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais Antônio e Patrícia, pelo incentivo contínuo, apoio e principalmente pelo exemplo de amor e dedicação a família. Ao meu pai que não pôde ver a finalização de mais essa etapa, mas que tem importância fundamental nesse processo de aprendizado e formação. Aos meus irmãos Caio e Sheila por todo o apoio.

A minha namorada Jennifer pela paciência e apoio nos momentos que era necessário me ausentar para cumprir com o desenvolvimento do projeto.

À Prof^a. Dr^a. Simone Appenzeller pela oportunidade, orientação, dedicação e estímulo nos momentos mais difíceis, tanto do desenvolvimento do trabalho como do desenvolvimento pessoal.

À Prof^a. Dr^a. Lilian Tereza Lavras Costallat pela coorientação no desenvolvimento deste trabalho.

Aos alunos e funcionários do laboratório de reumatologia, pela ajuda no desenvolvimento deste trabalho.

Aos grandes amigos que tenho a felicidade de ter, por todo apoio e companheirismo em todos os anos de dedicação a este trabalho.

Aos pacientes e aos controles que participaram desta pesquisa.

Agradeço à banca examinadora pela disposição em participar e contribuir neste trabalho.

Agradeço à FAPESP (Processo: 2014/00734-7) e a CAPES pelo apoio financeiro possibilitando a execução deste trabalho.

*“As grandes conquistas ocultam grandes abdicações, sendo assim,
a conquista deve se fazer digna em seu objetivo”*

RESUMO

Objetivo: Avaliar a alteração olfatória no Lúpus Eritematoso Sistêmico (LES) comparando com indivíduos saudáveis durante o período de 2 anos de seguimento, e determinar o papel da presença do anticorpo anti-P ribossomal (anticorpo anti-P) e redução de volume das estruturas límbicas na alteração do olfato.

Material e Método: Trata-se de um estudo observacional, longitudinal, aberto com grupo controle. Avaliamos a função olfatória através das três fases do teste de olfato Sniffin' Sticks kit (SST). O volume das estruturas do sistema límbico (amígdala e hipocampo) foi determinado através da segmentação automática realizada pelo programa comercial FreeSurfer. Coletamos sangue para dosagem de anticorpo anti-P Ribossomal (Kit Anova® com amostras em duplicata) na entrada do estudo e a cada ano, durante 2 anos, para todos os pacientes. Os controles incluídos foram submetidos aos mesmos exames e testes em duas avaliações.

Resultados: Incluímos 95 pacientes consecutivos com LES [87 mulheres (91,6%); com média de idade = 40,05 (DP $\pm$ 11,16)]. A duração média da doença foi de 155 meses (DP $\pm$ 105,6). O grupo controle foi constituído de 64 indivíduos [53 (82,8%) mulheres; $p = 0,134$] com média de idade de 40,09 anos (DP $\pm$ 6,61) ($p = 0,97$). Os anticorpos anti-P foram observados em 16 (16,8%) dos pacientes com LES e em nenhum dos controles ($p=0,002$). Não houve nenhuma manifestação clínica, laboratorial e imunológica associada ao anti P. A disfunção olfatória foi observada em 42 (44,2%) dos pacientes com LES no início do estudo e em 9 (14,06%) dos controles ($p < 0,001$). Além de pontuações mais baixas na avaliação olfatória (SST) [pontuações SLE significativas = 28,79 (DP $\pm$ 5,46) versus valores médios dos controles = 32,38 (DP $\pm$ 5,28); $p < 0,001$], os pacientes com LES tiveram pontuações significativamente menores em todos os três sub-testes do SST quando comparados aos controles. Os pacientes com LES, com disfunção olfatória, são significativamente mais velhos [idade média = 42,77 (DP $\pm$ 11,81) vs 36,61 (DP $\pm$ 11,12) anos; $p = 0,017$], e apresentam atividades da doença mais intensas [pontuação média de SLEDAI = 5,73 (DP $\pm$ 5,68) versus 1,766 (DP $\pm$ 1,65); $p < 0,001$], maiores pontuações BAI [pontuação BAI média 15,85 (DP $\pm$ 14,98) versus 8,22 (DP $\pm$ 9,50); $p < 0,001$], maiores valores de BDI [pontuação BDI média 14,43 (DP $\pm$ 11,74) vs 7,63 (DP $\pm$ 8,52); $p < 0,001$], volume inferior do hipocampo esquerdo [volume médio 3795,36 mm³ (DP $\pm$ 451,87) versus 3926,73 mm³ (DP $\pm$ 492,92); $p = 0,045$], volume inferior da amígdala esquerda [volume médio 1583,91 mm³ (DP $\pm$ 232,28) versus 1711,65 mm³ (DP $\pm$ 332,51); $p = 0,002$], volume de amígdala inferior

direita [volume médio 1798,73 mm³ (DP ± 296,01) versus 1891,22 mm³ (DP ± 298,13); p = 0,024] em comparação com pacientes com LES sem comprometimento olfativo.

O desempenho olfatório manteve-se estável ao longo do período de 2 anos em 95 pacientes, tais como as pontuações médias do BAI, do BDI e os volumes de hipocampo e amígdala.

Conclusão: Manifestações olfatórias são mais frequentemente observadas no LES que em controles, mas permanecem estáveis ao longo de dois anos no LES. A atividade da doença, sintomas de ansiedade e depressão e volume da amígdala e do hipocampo estão associados a alterações olfatórias no LES e não encontramos associação entre anticorpos anti-P e diminuição olfatória.

ABSTRACT

Objective: To evaluate olfactory function in SLE compared to healthy individuals during the 2-year follow-up, and to determine the role of Anti-P and volume reduction of limbic structures in the occurrence of smell abnormalities.

Material and Method: This is an observational, longitudinal, study with a control group. We evaluated the olfactory function, the volume of the structures of the limbic system (amygdala and hippocampus), and collected blood for anti-P dosage every year for 2 years for all patients. The included controls were submitted to the same tests and tests in two evaluations.

Results: We included 95 [87 (91.6%) women; with mean age = 40.05 (SD $\pm$ 11.16)] consecutive patients with SLE. The mean duration of the disease was 155 months (SD $\pm$ 105.6). The control group consisted of 64 controls [53 (82.8%) women; p = 0.134] with mean age = 40.09 years (SD $\pm$ 6.61) (p = 0.97). Anti-P antibodies were observed in 16 (16.8%) of SLE patients and in none of the controls (p = 0.002). Olfactory dysfunction was observed in 42 (44.2%) of SLE patients at the start of the study and in 9 (14.06%) of the controls (p <0.001). In addition to lower TDI scores [significant SLE scores = 28.79 (SD $\pm$ 5.46) versus mean values of controls = 32.38 (SD $\pm$ 5.28); p <0.001], SLE patients had significantly lower scores in all three SST sub-tests compared to controls. SLE patients with olfactory dysfunction were significantly older (mean age = 42.77 (SD $\pm$ 11.81) vs 36.61 (SD $\pm$ 11.12) years; p = 0.017], had more intense disease activity [SLEDAI mean score = 5.73 (SD $\pm$ 5.68) versus 1.766 (SD $\pm$ 1.65); p <0.001], higher BAI scores [mean BAI score 15.85 (SD $\pm$ 14.98) versus 8.22 (SD $\pm$ 9.50); p <0.001], higher BDI values (mean BDI score 14.43 (SD $\pm$ 11.74) vs 7.63 (SD $\pm$ 8.52); p <0.001], lower left hippocampal volume [mean volume 3795.36 mm³ (SD $\pm$ 451.87) versus 3926.73 mm³ (SD $\pm$ 492.92); p = 0.045], lower left amygdala volume [mean volume 1583.91 mm³ (SD $\pm$ 232.28) versus 1711.65 mm³ (SD $\pm$ 332.51); p = 0.002], right lower amygdala volume [mean volume 1798.73 mm³ (SD $\pm$ 296.01) versus 1891.22 mm³ (SD $\pm$ 298.13); p = 0.024] compared to SLE patients without olfactory impairment. Olfactory performance remained stable over the 2-year period in 95 patients, such as mean BAI, BDI scores, and hippocampal and amygdala volumes.

Conclusion: Olfactory manifestations are more frequently observed in SLE than in controls, but remain stable over two years in SLE. Disease activity, anxiety symptoms and depression and volume of the amygdala and hippocampus are associated with olfactory changes in SLE, and we found no associations between levels anti-P and olfactory manifestations.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Critérios revisados para a classificação de LES.....	18
Tabela2. Critérios ACR de manifestações neuropsiquiátricas no LES.....	20
Tabela 3. Alteração olfatória em doenças autoimunes: Principais estudos.....	26
Tabela 4. Manifestações clínicas e laboratoriais na inclusão do estudo.....	44
Tabela 5. LES: Manifestações neuropsiquiátricas no T0.....	45
Tabela 6. LES: Manifestações clínicas, laboratoriais e de tratamento em pacientes com o anticorpo anti-P positivo e negativo.....	47
Tabela 7. Manifestações NP em pacientes com anticorpo anti-P positivo e negativo.....	48
Tabela 8. Avaliações longitudinais em pacientes com anticorpo anti-P positivo e negativo	49
Tabela 9. Função olfatória LES e controles.....	51
Tabela 10. Comparação de volumes de hipocampo e amígdala entre pacientes e controles	53

ABREVIATURAS

aCL- Anti-cardiolipina

ACR- American College of Rheumatology

ANA- Anticorpo antinuclear

Anticorpo Anti-P - Anticorpo anti-P ribossomal

Anti-dsDNA- Anti-DNA de fita dupla

Anti-Sm- Anti-Smith

AVC- Acidente vascular cerebral

BAI- Inventário de ansiedade de Beck

BDI- Inventário de depressão de Beck

CEP- Comitê de ética em pesquisa

DNA- Ácido dextrirribonucléico

DO- Densidade optica (leitura de absorbância)

DP- Desvio padrão

ELISA- Enzyme-Linked Immunoabsorbent Assay

ENA- Anticorpos contra antígenos extraídos do núcleo

FAN- Fator anti-núcleo

FCM- Faculdade de Ciências Médicas

HAS- Hipertensão arterial sistêmica

HC- Hospital de Clínicas

HDL- Lipoproteína de alta densidade

HLA – Antígeno leucocitário humano

HRP- Solução de lavagem Horseradish Peroxidase

LA- Anticoagulante lúpico

LCR- Líquido cefalorraquidiano

LDL- Lipoproteína de baixa densidade

LES- Lúpus eritematoso sistêmico

NMDA- Anticorpos contra o receptor N-metil-d-aspartato

NP- Neuropsiquiátrica

MCH- Complexo de histocompatibilidade

MM3 – Milímetros cúbicos

RNA- Ácido ribonucleico

RNP- Ribonucleoprotéico

RM – Ressonância nuclear magnética

RPM- Rotação por minuto

SLEDAI- Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index

SLICC/ACR (DI)/ SDI - Systemic Lupus International Collaborating Clinics/American College of Rheumatology Damage Index

SST - Teste Sniffin' Sticks kit

SNC- Sistema nervoso central

SNP- Sistema nervoso periférico

TCLE- Termo de consentimento livre e esclarecido

TDI – Somatório das fases de avaliação do limiar olfatório, discriminação olfatória e identificação de odores respectivamente

TMB- Cromógeno tetrametilbenzina

UNICAMP- Universidade Estadual de Campinas

VHS- Velocidade de hemossedimentação

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	15
1.1 Lúpus eritematoso sistêmico: epidemiologia, manifestações neuropsiquiátricas.....	15
1.2 Anticorpo anti-P ribossomal.....	19
1.3 Alterações Olfatórias.....	21
2. JUSTIFICATIVA	33
3. OBJETIVO GERAL.....	34
3.1. Objetivos Específicos.....	34
4. HIPÓTESES.....	35
5. PACIENTES E MÉTODOS.....	36
5.1. Delineamento do Estudo.....	36
5.2. Seleção dos Pacientes.....	36
5.2.1 Critérios de inclusão	36
5.2.2 Critérios de exclusão.....	36
5.3 Seleção do Grupo Controle	36
5.4 Termo de consentimento livre e esclarecido.....	37
5.5 Análise Clínico e Laboratorial	37
5.6 Análise de Indicadores de doença	37
5.7 Avaliação Neurológica	38
5.8 Investigação com Ressonância Magnética:.....	38
5.10 Investigação laboratorial	39

5.11	<i>Análise Estatística.....</i>	40
6.	RESULTADOS.....	42
6.2	<i>Manifestações clínicas na inclusão do estudo.....</i>	42
6.3	<i>Anti-P.....</i>	45
6.4	<i>Disfunção olfatória.....</i>	50
6.5	<i>Achados de RM.....</i>	52
6.6	<i>Associação da disfunção olfatória com manifestações clínicas, anticorpo anti-P e volumetria de amígdala e hipocampo.....</i>	54
6.7	<i>Avaliação longitudinal da coorte SLE.....</i>	54
7.	DISCUSSÃO.....	56
8.	CONCLUSÃO.....	59
9.	REFERÊNCIAS.....	60
10.	ANEXO 1.....	79

1. INTRODUÇÃO

1.1 Lúpus eritematoso sistêmico: epidemiologia, manifestações neuropsiquiátricas

O lúpus eritematoso sistêmico (LES) é uma doença inflamatória crônica que acomete múltiplos órgãos e sistemas. A doença manifesta-se em períodos de atividade e remissão (1-4).

Gênero, etnia e status socioeconômico interferem consideravelmente na incidência e prevalência do LES. A doença acomete, principalmente, mulheres (9 mulheres acometidas para cada 1 homem) em idade fértil, entre 15 e 50 anos de idade (4-10).

Há uma variação mundial na incidência de manifestação de LES (11,12). A prevalência do LES é de aproximadamente 0,1% na população geral (13-16).

No Brasil, observamos uma incidência de 8,7 adultos com LES para cada 100 mil habitantes (17). Estudos na região sudeste observaram uma frequência maior do LES em caucasóides (77%), em relação a não brancos (14% em negros e 9% em mulatos) (18, 19).

Não existem critérios definitivos para o diagnóstico do LES. O Colégio Americano de Reumatologia (ACR) definiu critérios classificatórios, segundo os quais são necessários no mínimo quatro critérios clínicos e/ou laboratoriais dentre onze (20). Estes critérios foram revisados em 1997, após cuidadosa investigação e exclusão de doenças infecciosas e neoplásicas, o item “presença de células LE”, constante no critério “alterações imunológicas”, foi excluído e o teste falso positivo para sífilis foi substituído pela presença de anticorpos antifosfolípidos (21) (Tabela 1).

As apresentações clínicas do LES são variadas em cada caso, como artrite ou artralguas, lesões cutâneas, nefrite, serosite e manifestações do sistema nervoso central (SNC), como convulsões e psicose (3,22).

Tabela 1. Critérios revisados para a classificação de LES (29)

CRITÉRIO	OBSERVAÇÕES
Alterações imunológicas	Anticorpos Anti-dsDNA Anticorpos Anti-Sm Anticorpos antifosfolípide [anticardiolipina (aCL) IgG/IgM; anticoagulante lúpico (LA)]
Fator antinuclear (FAN)	Título $\geq 1/80$ do FAN por imunofluorescência ou um ensaio equivalente a qualquer ponto no tempo, na ausência de drogas conhecidas por induzirem FAN
Fotossensibilidade	<i>Rash</i> cutâneo resultado da exposição à luz solar, observadas por médico
Úlceras orais	Ulceração oral e/ou em nasofaringe, geralmente dolorosa, observadas por médico
Artrite	Não erosiva de duas ou mais articulações
Serosite	Pleurite Pericardite
Eritema malar	Eritema fixo sobre as eminências malares e/ou pregas naso-labiais
Lesão discoide	Placas eritematosas, elevadas e circulares, com escamação aderente, comprometimento dos pelos e cicatrização com atrofia
Envolvimento renal	Proteinúria maior que 0,5 g/dia Leucocitúria, na ausência de infecção Hematúria dismórfica Cilindros celulares
Envolvimento do sistema nervoso central	Convulsão Psicose

Alterações hematológicas	Anemia hemolítica (Bilirrubinemia indireta, LDH elevada, Coombs direto positivo) Leucopenia menor que 4.000/mm ³ Linfopenia menor que 1.500/mm ³ Plaquetopenia menor que 100.000/mm ³
---------------------------------	---

Alterações no SNC afetam crianças e adultos com LES e seu acometimento também está associado a um pior prognóstico e a danos cumulativos (23). O comprometimento do SNC no LES varia de 12-90%, dependendo dos critérios diagnósticos, do tipo de manifestações incluídas e dos métodos utilizados para a avaliação (24-33).

As manifestações neuropsiquiátricas (NP) no LES são complexas e podem ser definidas como manifestações neurológicas do SNC, sistema nervoso periférico (SNP) ou do sistema nervoso autônomo e também de síndromes psiquiátricas (29, 34-38).

O envolvimento neuropsiquiátrico pode ser considerado primário se diretamente relacionado ao LES em atividade no SNC ou SNP, ou secundário quando relacionado com o tratamento, infecções, alterações metabólicas ou outras comorbidades como hipertensão arterial sistêmica, diabetes mellitus, uremia e infecção (34, 35, 40-43). As manifestações NP secundárias correspondem a aproximadamente 40% das manifestações NP observadas em pacientes com LES (39).

Sintomas de depressão e ansiedade são comumente relatados em pacientes com LES devido, principalmente, ao déficit físico e ao estresse de viver com uma doença crônica (43-46). Pacientes com estes transtornos muitas vezes sentem dificuldade ou mesmo vergonha de assumir publicamente os seus sintomas. Alguns métodos de avaliação, como questionários de autorrelatos podem ser úteis na identificação desses sintomas (47).

Manifestações NP no LES podem influenciar na mortalidade, qualidade de vida e índice de danos permanentes (48-57).

Desde as primeiras descrições das manifestações NP (58-67) observou-se que muitas destas não eram contempladas pelos critérios classificatórios originalmente descritos (68). A falta de padronização fez surgir diferentes critérios e definições (69-73) o que levou a resultados diversos e de difícil comparação. A padronização veio somente em 1999 com os critérios propostos pelo ACR, que elaborou um consenso para a terminologia e definição das

síndromes NP que ocorrem no LES (29). Definiram-se então 19 síndromes mais prevalentes na doença (Tabela 2). Estes critérios foram validados posteriormente apresentando uma sensibilidade de 91% e especificidade de 46% (74).

Tabela 2. Critérios do ACR de manifestações neuropsiquiátricas no LES.

Manifestações do SNC	Manifestações do SNP
Cefaleia	Desordem autonômica
Convulsão	Miastenia grave
Desordens de ansiedade	Mononeuropatia
Desordens de humor	Neuropatia craniana
Desordens de movimento	Plexopatia
Distúrbio cognitivo	Polineuropatia
Doença cerebrovascular	Polirradiculopatia inflamatória desmielinizante aguda
Estado confusional agudo	
Meningite asséptica	
Mielopatia	
Psicose	
Síndromes desmielinizantes	

1.2 Anticorpo anti-P ribossomal

Os anticorpos anti-P ribossomais (anticorpos anti-P) são autoanticorpos que têm como alvo três fosfoproteínas ribossomais altamente conservadas. Estas proteínas correspondem as moléculas P0, P1 e P2. As fosfoproteínas podem ser encontradas no meio intracelular, fazendo parte do componente 60S dos ribossomos de células eucarióticas (75, 76). Esses anticorpos são altamente específicos para o lúpus eritematoso sistêmico, e podem ser marcadores para atividade da doença (77-79).

Os anticorpos anti-P apresentam uma prevalência de 6-46% no LES, dependendo do grupo étnico, idade e variáveis clínicas analisadas (80), e estão associados à psicose, depressão e envolvimento do SNC (81-90). Altos níveis de anticorpos anti-P são considerados restritos ao LES e são raramente detectados (<5%) em sujeitos normais ou pacientes com outras doenças autoimunes (91-93)

A variabilidade étnica é atribuída a associação com certos alelos da classe II do complexo de histocompatibilidade (MCH II), confirmado pela maior positividade do anticorpo anti-P em pacientes com HLA-DQB1 * 0602 (94). Na maioria dos estudos, sua prevalência fica entre 6 e 20%, sendo que estudos com pacientes chineses, esta prevalência é maior (36%), atingindo 46% em estudo com pacientes japoneses (95-99).

A presença do anticorpo anti-P em paciente com LES tem sido associada com menor idade de início da doença, envolvimento multiorgânico e diversas outras manifestações, dentre elas o acometimento do SNC (89, 95-96, 98, 100-101). Matus et al (102) demonstraram que o anticorpo anti-P se liga aos neurônios e pode desencadear um influxo de cálcio que leva a apoptose, além da demonstração em cultura e *in-situ* que o anticorpo anti-P possui potencial neurotóxico.

O primeiro relato de correlação entre o anticorpo anti-P e manifestações neuropsiquiátricas no LES foi descrita em 1987 (81), que reportou a correlação com psicose. No trabalho, o anticorpo anti-P foi avaliado em 20 pacientes com psicose secundária ao LES e foi encontrado em 18 deles. No acompanhamento longitudinal, observou-se a atividade do anticorpo anti-P em dois pacientes com psicose e foi demonstrado que os níveis de anticorpo anti-P aumentaram antes e durante as fases ativas de psicose, chegando a títulos 30 vezes maiores durante a fase ativa, e permanecendo inalterados durante outras manifestações da doença (81).

Esta associação entre anticorpo anti-P e psicose foi confirmada em outras coortes (99, 103-117).

Após estas constatações, essa possível associação entre anticorpo anti-P e manifestações neuropsiquiátricas, principalmente psicose, no LES tem gerado relatos conflitantes (103-104, 106, 108-109, 118-120). Além disso, outro estudo observou associação entre anticorpo anti-P e outras manifestações neuropsiquiátricas (convulsão, mielopatia transversa e meningite asséptica) e não observou com psicose especificamente (121).

Diversos estudos subsequentes não conseguiram encontrar estas mesmas associações, possivelmente pelos diferentes métodos utilizados para a dosagem de anticorpo anti-P, pela diversidade étnica dos grupos estudados, diferenças no curso da doença apresentando períodos de atividade e remissão e pelas diferentes definições de distúrbios neuropsiquiátricos adotados (95, 122-133). Estudos multicêntricos observaram a associação entre os anticorpos anti-P e manifestações NP focais e difusas, incluindo psicose (97, 115, 117) enquanto outro estudo multicêntrico com 1537 pacientes não encontrou valores estatísticos significantes entre anticorpo anti-P ribossomal e valor diagnóstico para manifestações NP ou para manifestações específicas (131).

A associação entre anticorpos anti-P e transtornos do humor também são relatadas (1991, 107, 113-114) e estudo do nosso grupo com pacientes juvenis com LES, o anticorpo anti-P associou com ansiedade, sugerindo um possível acometimento da amígdala (89).

Yoshio et al observaram alta frequência de anticorpo anti-P no fluído cerebrospinal de pacientes com LES que apresentavam positividade do anticorpo anti-P no soro e com manifestações neuropsiquiátricas. Esta observação fortaleceu a linha do papel patogênico do anticorpo anti-P em pacientes com LES e manifestações neuropsiquiátricas. A presença do anticorpo anti-P, no soro e no fluído cerebrospinal, foi associada com psicose (123).

Vários mecanismos patogênicos têm sido propostos, como ligação nos epítomos da membrana de superfície das células, adentrar as células através da membrana celular, inibição de síntese proteica, produção de citocinas pró-inflamatórias e apoptose celular (81, 83,98, 113, 134-135). No entanto, o maior avanço na compreensão do possível mecanismo que leva a disfunção neuronal vem do trabalho que mostra a relação do anticorpo anti-P com uma proteína presente na superfície de neurônios de áreas específicas do cérebro, envolvidas com memória, conhecimento e emoções. Em cultura, a adição do anticorpo anti-P nesses neurônios resultou no aumento da entrada de íons cálcio, levando a morte neuronal por apoptose (135).

Em modelos animais, a injeção intraventricular do anticorpo anti-P, levou ao desenvolvimento de comportamento depressivo e diminuição da resposta a estímulos

olfatórios, posteriormente tratados com antidepressivos, estes animais voltaram ao seu estado de humor normal, porém as respostas a estímulos olfatórios continuaram diminuídas (136). A análise histológica do cérebro desses animais revelou a presença do anticorpo anti-P nos neurônios do hipocampo, da amígdala, do córtex cingulado e piriforme e das camadas neocorticais II, V,VI (137). Estes achados sugerem que o anticorpo anti-P pode estar associado a uma ampla gama de disfunções do SNC (93).

1.3 Alterações Olfatórias

O olfato é um processo complexo do sistema nervoso central que envolve várias áreas específicas do cérebro, principalmente regiões do sistema límbico como amígdala e hipocampo (138-143). Na última década tem crescido as evidências da inter-relação entre o sistema imunológico e o SNC (144-147), em especial o sistema olfativo (113, 148). Em modelos animais foi demonstrado que a injeção intracerebral do anticorpo anti-P desencadeia um comportamento depressivo e a diminuição da olfação (137). O exame histológico do cérebro destes camundongos revelou que o anticorpo anti-P adentrou células neuronais do sistema límbico, incluindo células da amígdala e hipocampo, induzindo a apoptose celular (137,148).

Em abelhas cujo sistema imunológico foi parcialmente inibido, observou-se a diminuição da associação de odor com a recompensa de açúcar, concluindo-se que efeitos sobre a resposta imune podem afetar o olfato e posteriormente a formação da memória (149) e a bulbectomia olfatória bilateral em camundongos resultou em inúmeras alterações imunológicas, incluindo a redução da fagocitose por neutrófilos, mitogênese de linfócitos, aumento da adesividade de leucócitos, da fagocitose de monócitos, de proteínas da fase aguda positivas, dentre outras (150).

Em doenças autoimunes, o olfato é frequentemente prejudicado e pode ser correlacionado com a gravidade do comprometimento neurológico (151-154). Em estudos clínicos envolvendo outras doenças como doença de Alzheimer, Parkinson, esclerose múltipla e esquizofrenia foi demonstrado que a habilidade de identificar odores envolve as estruturas do lobo temporal medial (155-159).

Em pacientes com LES, foi observado uma diminuição do olfato quando comparados a indivíduos saudáveis e sem histórico de doença autoimune na família (46% vs 25%). A alteração do olfato nesses pacientes foi correlacionada com índice de dano e manifestações do sistema nervoso central, sugerindo um mecanismo autoimune na patogênese do distúrbio

olfatório (143). Na tabela 3 estão resumidos os principais estudos e achados de alterações olfatórias em doenças autoimunes.

Tabela 3. Alteração olfatória em doenças autoimunes: principais estudos

Doenças	Autores	Nº Pacientes / Nº Controles	Testes de olfato utilizados	Resultados	Correlações, associações e conclusões
SSc	Amital (193)	20/21 ♀	Sniffin' Sticks TDI	3 de 20 (15 %) SSc hiposmia TDI SSc < controles	TDI correlacionou inversamente com BDI-II
SSj	Su (194)	15♀/32	Sniffin' Sticks TDI	SSj = BMS	
	Midilli (195)	70♀ e 7♂/77	5 componentes do smell D	SSj=controles	Disordens de olfato foram associadas com polipose nasal
	Kamel (196)	25♀ e 3♂/37	UPSIT	UPST SSj < UPST Controles	Tempo e idade. Paladar e olfato foram correlacionados
	Weiffenbach (197)	30♀/ 60♀	UPSIT	UPSIT SSj <controles	
	Rasmussen(198)	36♀/36	Elsberg's olfactomer	Sem diferenças entre os grupos	Nenhuma correlação com a depuração mucociliar
	Jones (198)	14♀	T:diluições	Todos SSj	Hiposmia,

		e7♂/16	de piridina, nitrobenzeno e tiofeno	tinham hiposmia	alterações inflamatórias na mucosa nasal e acúmulo nasal de $^{99m}\text{TcO}_4$ em SSj
	Henkin (199)	29♀	T:diluições de piridina, nitrobenzeno e tiofeno	45% tinham hiposmia.	Ciclofosfamida melhorou a função do olfato
Mikulicz's disease	Takano (200)	17♂ e 27♀	T&T olfactometer	45% dos pacientes tinham anormalidades olfatórias	Placócitos positivos para IgG4 na mucosa nasal com anormalidades olfatórias
RA	Steinbach (201)	75♀ e 26♂	Sniffin' Sticks TDI	TDI e THR RA < controles.	Idade, atividade da doença e gravidade
SLE	Cavaco, (169)	81♀ e 4♂/85	BSIT	BSIT LES e NPLES < BSIT controles	LES com MNP tinham mais disfunções olfatórias que pacientes com LES sem MNP
	Shoenfeld (113)	41♀ e 9♂/50	Sniffin' Sticks TDI	TDI LES < controles	TDI com SLEDAI e MNP
MS	Uecker (204)	15♀ e 5♂	Sniffin' Sticks TDI	50% dos pacientes com hiposmia não	D correlacionou inversamente com o número

				tiveram alterações significativas durante o segmento	de recidivas; VAS correlacionou com a pontuação de TDI nos pacientes testados longitudinalmente
	Good (205)	52♀ e 21♂/52♀ e 21♂	UPSIT, ODT	UPSIT MS < Controles 37% tiveram diminuição do olfato	ODT correlacionou com volume das lesões
	Jordy (206)	72♀ e 28♂/ 55♀ e 45♂	CCCRC	Alteração de olfato em MS (32%) < controles (3%).	Idade e EDSS
	Kandemir (207)	14♀ e 6♂/20	BSIT	Pontuação total do olfato em MS < controles	Nenhuma diferença nos escores totais de cheiros e duração da doença
	Caglayan (208)	21♀ e 8♂/30	Sniffin' Sticks TDI	T pacientes < controles	T, I, TDI correlacionou com idade. I e TDI com MMSE e EDSS.
	Samkoff (209)	11♀ e 5♂/14	UPSIT	Pacientes = controles	Correlação inversa entre pontuação de

					UPSITe EDSS
	Caminiti (210)	19♀ e 11♂/ 18♀ e 12♂	OERPs	7/ 30 pacientes não tinham OERP. 16/ 23 pacientes tiveram amplitude significativamen te menor do que o grupo controle	Duração da doença, EDSS e OERPs
	Erb (211)	24♀ e 6♂/ 30	Sniffin' Sticks TDI	TH e DIS MS = controles.	Nenhuma correlação entre a redução da FA nas lesões e o EDSS ou o escore TDI. I: Correlação com valores de FA de lesões nas regiões cerebrais analisadas
	Dahlslett (212)	20♀ e 10♂/30	OERP, Sniffin' Sticks TDI	OERP 23,8% hiposmia. TDI 40% hiposmia. TDI MS<controles	Escore TDI inversamente correlacionado com o escore EDSS; I: inversamente correlacionada com a duração da doença e EDSS
	Silva (213)	153/ 165	B-SIT	B-SIT MS < controles.	Idade, duração da doença, educação,

					EDSS, depressão e MMSE.
	Goektas (214)	25♀ e11♂/36	Sniffin' Sticks TDI	44% com alterações olfatórias	Volume de OB correlacionado com a função olfativa. I: correlacionado com escores neurológicos.
	Erb-Eigner (215)	30/12	Sniffin' Sticks TDI	TDI, TH, ID MS < Controles	TDI, TH, ID MS <Controles
	Lutterotti (216)	35♀ e15♂ /30	Sniffin' Sticks TDI	TDI, TH, ID MS < controle ID de hiposmia de 38% MS 8% MS hiposmia DIS 48% MS hiposmia TH 26% de hiposmia TDI	TDI e atividade da doença e duração da doença menor que 2 anos. TH e doença ativa e inflamação. ID e correlação negativa com a duração da doença.
	Fleiner (217)	11♀ e5♂/16	Sniffin' Sticks TDI	MS: 50% com hiposmia	O escore EDSS correlacionou- se inversamente com o subteste de identificação
	Zorzon (218)	25♀ e15♂ 40/40	CC-SIT	12,5% tinham anormalidades no olfato. Pontuação CC- SIT MS <controles	sexo, idade, duração da doença, incapacidade, ansiedade, depressão, carga

				de lesão. Correlação entre escore CC-SIT e carga olfatória de lesão cerebral e correlação negativa EDSS.
Zivadinov (151)	25♀ e 15♂ /40	CC-SIT	CCSIT MS <controles	Escore CC-SIT com sintomas de ansiedade, depressão e gravidade do comprometimen to neurológico
Doty (219)	3♀ e 2♂	UPSIT	3 de 5 pacientes apresentavam microsmia moderada.	Perda olfativa associada a flutuações no número de placas nos lobos frontais e temporais inferiores.
Doty (220)	17♀ e 9♂	UPSIT	38,5% of MS com diminuição do olfato	Correlação inversa com acumulo de lesão
Hawkes (221)	43♀ e 29♂ /96	UPSIT, OEP	15% pacientes tinham anormalidades de UPSIT. 25% pacientes tinham anormalidades de	UPSIT correlacionou com EDSS. UPSIT com o H2S-evoked response.

			OEP.	
Constantinescu (222)	2♀ caso reporter	UPSIT	Ambos os pacientes com sintomas olfativos.	A flutuação do olfato ocorreu paralelamente com a atividade da doença
Ansari (223)	40♀/24	T: diluições binárias seriadas de acetato de amila e nitrobenzeno	Limiar MS = controles	T: com grau de incapacidade, tratamento.
Li (224)	11♀ e 15♂/26	T&T olfactometer test kit	42,3% déficits da função olfatória Limiar olfatório MS = controle	T & T correlacionado com o EDSS. Bulbo olfatório foi menor em disfunção olfatória
Holinski (225)	13 ♀ e 7♂	OM 2/S olfactometer	25% pacientes com hiposmia.	Correlação negativa do volume de OB e latências de H2S. Paciente hiposmático apresentou menor volume de OB e maior volume de lesões em OB.
Rolet	36♀ e 14♂	Sniffin'	disfunção	I: correlação

	(226)		Sticks TDI	olfatória em 40% TH, 18% DIS e 10% ID.	positividade com EDSS e negativamente com registro médico. O IDT foi inversamente correlacionado com a progressão da doença
Churg-Strauss syndrome (CSS)	Tallab (227)	One ♂ Case Reports	UPSIT, Memória do odor; PEA – TH	UPSIT= total anosmia. Memória do odor = anosmia total. PEA –TH = anosmia.	
Neuromyelitis optica	Zhang (228)	49 /26	T&T olfactometer	NMOSDs: 53% dos pacientes com disfunção olfativa com disfunção olfatória apresentaram menor volume de OB que os pacientes sem ela ou com controles.	TH foram positivamente correlacionados com anticorpos séricos de aquaporina-4. Ambos detecção e os limiares de reconhecimento para o olfato foram negativamente correlacionados com o volume de OB
Myasthenia Gravis (MG)	Tekeli (229)	8♀ e 22♂ /30	Sniffin' sticks test	Pacientes com MG mostraram	Diminuição olfatória

			TDI	significativamente menor e pontuações gustativas do que controles.	correlacionou com severidade da doença.
	Leon-Sarmiento (230)	27MG, 11 polimiositiss/ 27	UPSIT	MG UPSIT < controles; polimiositiss UPSIT < controles	
BD	Akyol (231)	50/46	Sniffin' Sticks TDI	ID, TDI < controles.	
	Veyselle (232)	17♀ e 13♂ /30	CCRC	CCRC BD < controles	
GPA	Fasunla (233)	9♂, 7♀/16	Sniffin' Sticks TDI	T, D, I, TDI < controles.	
	Goktas (234)	5 ♀, 4♂	Sniffin' Sticks TDI	Um paciente com anosmia (11%), 4 pacientes com hiposmia (44%) e 4 pacientes com olfato normal (45%).	
	Zycinska (235)	31♀ e 12♂	Sniffin' Sticks TDI	74% com disfunção olfatória, TDI, T, I, D pacientes <	T e idade. Inflamação nasal e SST

				controles	
	Laudien (236)	44♀ e 32♂	sniffin' sticks TDI	14 (18.4%) disfunção olfatória	
	Proft (237)	17♀ e 27♂ /44	Sniffin' Sticks' TDI	T, D, I, TDI < controles 75% hiposmia	TDI e D com CRP; D: baixas pontuações com azatioprina

♀: Mulher; ♂: Homem; BD: Doença de Behçet; BSIT: Teste curto de identificação de odor; CC-SIT: Teste de identificação de odor Cultural; CRP: Proteína C reativa; D: Discriminação; FA: Anisotropia fracionada; GPA: Granulomatose com poliangiite; I: Identificação; MD: Difusão média; MMSE: Exame de estado mental Mini; MS: Esclerose Múltipla; OB: Bulbo olfatório; ODT: Limiar de detecção de odor; OEP: Potenciais olfativos evocados; OERPs: Olfatômetro OM2S; PEA – TH: Limiar de detecção com álcool fenil etílico; RA: Artrite reumatóide; RD: Difusividade radial; SLE: Lúpus eritematoso sistêmico; SSj: Síndrome de Sjogren; 99mTcO₄: pertecnetato de tecnécio 99m; T: Limiar; TDI: Pontuação Total do teste de avaliação olfatória Siffin Sticks; UPSIT: Teste de identificação olfatória da Universidade da Pensilvânia.

2. JUSTIFICATIVA

Durante a dissertação de mestrado, observamos que alterações olfatórias são frequentes no LES. Porém até o presente momento, nenhum estudo avaliou se a função olfatória flutua ao longo do tempo no LES e sua associação com alterações estruturais à ressonância magnética (RM). A determinação desta associação pode contribuir na elucidação da fisiopatologia do envolvimento do SNC no LES.

3. OBJETIVO GERAL

Avaliar a alteração olfatória no LES comparando esses pacientes com indivíduos saudáveis durante o período de 2 anos de seguimento, e determinar o papel da presença do anticorpo Anti-P e da redução de volume das estruturas límbicas (hipocampo e amígdala) na alteração do olfato.

3.1. Objetivos Específicos

- 3.1.1. Analisar a progressão de distúrbios olfatórios nos pacientes com LES durante um período de dois anos através do teste de olfato Sniffin`Sticks kit;
- 3.1.2. Determinar se a presença do anticorpo anti-P, atividade e dano de doença, sintomas de ansiedade e depressão, volume da amígdala e do hipocampo estão associadas com os distúrbios olfatórios durante o período de seguimento;

4. HIPÓTESES

4.1. Manifestações olfatórias flutuam ao longo da doença no LES.

4.2. Os níveis do anticorpo anti-P, atividade da doença, sintomas de ansiedade e depressão e volume da amígdala e do hipocampo estão associados a alterações olfatórias no LES.

5. PACIENTES E MÉTODOS

5.1. Delineamento do Estudo

Trata-se de um estudo observacional, longitudinal, aberto com grupo controle. Avaliamos a função olfatória, o volume das estruturas do sistema límbico (amígdala e hipocampo), e coletamos sangue para dosagem do anticorpo anti-P na entrada do estudo (T0) e anualmente durante o acompanhamento (2 anos) (T1 e T2) para todos os pacientes. Os controles incluídos foram submetidos aos mesmos exames e testes em duas avaliações (T0 e T1).

5.2. Seleção dos Pacientes

Foram selecionados pacientes consecutivos com LES (29), acompanhados no ambulatório de Reumatologia do Hospital de Clínicas/UNICAMP cujas manifestações clínicas e laboratoriais foram rotineiramente estudadas de acordo com protocolo já estabelecido.

5.2.1 Critérios de inclusão

- Foram incluídos pacientes com diagnóstico de LES segundo os critérios estabelecidos pelo ACR (29) e acompanhados rotineiramente no Ambulatório de Reumatologia do Hospital de Clínicas/UNICAMP

5.2.2 Critérios de exclusão

- Pacientes que não concordaram em participar da pesquisa.
- Pacientes que apresentavam alterações estruturais de vias aéreas superiores, que relataram algum tipo de resposta alérgica a odores presentes no teste do olfato, com infecções de vias respiratórias, acidente vascular cerebral (AVC) ou outras doenças que pudessem levar a um pior desempenho na avaliação olfatória.
- Pacientes que apresentaram contraindicações para realização dos exames de RM como presença de marca passo, cliques metálicos, aparelho ortodôntico, claustrofobia.

5.3 Seleção do Grupo Controle

O grupo controle foi constituído por voluntários sadios com idade e gênero semelhante ao grupo de pacientes com LES, que não apresentavam histórico de doenças autoimunes ou alérgicas, sem alterações de vias aéreas superiores e sem histórico de uso de drogas inalantes.

Esses indivíduos sadios pertenciam à mesma região geográfica (Campinas e região), sendo estes amigos de paciente, pesquisadores e profissionais do hospital de clínicas da UNICAMP. Foram excluídos indivíduos com doenças autoimunes e com antecedentes familiares com doença autoimune, indivíduos que apresentaram contraindicações para realização dos exames de RM, como presença de marca passo, cliques metálicos ou aparelho ortodôntico, indivíduos com claustrofobia, com hipertensão arterial sistêmica (HAS), diabetes mellitus e AVC prévio.

5.4 Termo de consentimento livre e esclarecido

Todos os pacientes e voluntários foram previamente informados e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE), aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas (FCM) - UNICAMP (nº920/2007) (Anexo 1).

5.5 Análise Clínico e Laboratorial

As variáveis clínicas e laboratoriais foram analisadas anualmente nos pacientes com LES em diferentes tempos: ao entrar no estudo (T0), e anualmente após (T1 e T2). Manifestações pregressas foram analisadas através da revisão do prontuário médico. Foram analisadas as seguintes manifestações clínicas, laboratoriais e de tratamento conforme os critérios do ACR (29).

5.6 Análise de Indicadores de doença

Definiu-se como atividade todas as manifestações reversíveis que resultaram diretamente do processo inflamatório. A atividade da doença foi avaliada pelo Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index (SLEDAI) (160), composto por vinte e quatro manifestações incluindo sinais, sintomas e testes laboratoriais. O índice utiliza uma pontuação ponderada com escores variando de 0-105. A doença foi considerada ativa se o somatório de pontos do SLEDAI fosse ≥ 3 (161).

Definiu-se como dano as alterações persistentes (anatômicas, fisiológicas ou patológicas) que resultam da atividade inflamatória prévias causando atrofia, cicatrizes ou fibrose, assim como as complicações do tratamento e outros eventos (162). As alterações eram irreversíveis e cumulativas e/ou presentes por pelo menos seis meses. O dano cumulativo foi avaliado pelo Systemic Lupus International Collaborating Clinics/American College of Rheumatology- damage index (SLICC/ACR-DI) no dia

dos exames laboratoriais (163). Os escores variam de 0 a 47 e a presença de dano foi confirmada se escore ≥ 1 .

5.7 Avaliação Neurológica

As manifestações NP foram determinadas através da revisão de prontuários médicos, seguindo os critérios para manifestações NP estabelecidos pelo ACR (29).

Todos os indivíduos completaram os Inventários de Ansiedade (BAI) (164-165) e Depressão de Beck (BDI) (165-166). Estas escalas consistem em vinte e um itens, cada um descrevendo um sintoma comum de ansiedade/depressão. Foram excluídas causas secundárias para garantir que os sintomas de ansiedade e depressão fossem primários ao LES. O participante ranqueou o quanto ele ou ela tem sido incomodado por cada sintoma na última semana em uma escala variando de 0 a 3. Os itens foram somados. A pontuação total pode variar de 0 a 63 pontos. Os limiares utilizados para o BDI foram: 0 a 13 sem sintomas de depressão ou sintomas depressão mínima; de 14 a 19 sintomas de depressão leve; de 20 a 28 sintomas de depressão moderada; e de 29 a 63 sintomas de depressão grave (165-167). Para o BAI, os limiares utilizados foram: de 0 a 7 sem sintomas de ansiedade ou nível mínimo de sintomas de ansiedade; de 8 a 15 sintomas de ansiedade leve; de 16 a 25 sintomas de ansiedade moderada; e de 26 a 63 sintomas de ansiedade grave (164-166, 168).

5.8 Investigação com Ressonância Magnética:

As imagens estruturais de RM foram obtidas no período de 2011 a 2015 em um aparelho de 3 Tesla (Philips Achieva System). Aquisições em 3D obtidas no plano sagital “gradient echo” T1 ponderadas com espessura de 1mm, ângulo de excitação de 35° TR=22, TE=9, matriz de 256x220, FOV=230x250 cm, pixel 1x1 foram utilizadas neste estudo.

A segmentação automática dos hipocampus e das amígdalas foi realizada através do software FreeSurfer 5.3.0 (<http://surfer.nmr.mgh.harvard.edu/fswiki>), segundo procedimentos previamente descritos (169,170). Este software consiste em um conjunto de ferramentas automáticas desenvolvido pelo Laboratório de Neuroimagem Computacional do Centro de Imaginologia Biomédica Athinoula A. Martinos em Massachusetts – EUA (<http://martinos.org/lab/lcn>).

Para determinação de atrofia utilizamos o Z-Score ≤ 2 .

5.9 Avaliação olfatória

Avaliamos a função olfatória pelos três estágios do teste Sniffin'Sticks kit (SST) (Burghart Medizintechnik, Wedel, Germany). O teste é baseado em um dispositivo em forma de caneta que dispensa diversos odores. É avaliado o limiar olfatório, a capacidade de discriminação entre dois odores diferentes e a capacidade de identificação de odores. No primeiro estágio, o limiar olfatório foi avaliado pelo n-butanol, apresentado em conjunto com duas canetas contendo substâncias indolores. Era solicitado que o indivíduo, após ser apresentado as três canetas, informasse qual caneta continha o odor do n-butanol que se apresentava em diferentes concentrações. No segundo estágio era avaliada a capacidade de discriminação entre dois odores diferentes. O indivíduo era apresentado a três canetas, duas contendo o mesmo odor e uma terceira contendo um odor diferente devendo diferenciar entre as canetas. No terceiro estágio era apresentada uma caneta com odor conhecido e quatro opções de resposta para o odor apresentado. O escore máximo em cada estágio é de 16 pontos, totalizando um escore total de 48 pontos. Indivíduos com escore total >30 são considerados normais, escores entre 15-30 hiposmia e com escore <15 anosmia.

5.10 Investigação laboratorial

Foi coletado 10 ml de sangue periférico dos participantes da pesquisa. Estas amostras permaneciam 30 minutos em temperatura ambiente para coagular, sendo em seguida centrifugadas a 3000 rpm por 15 minutos. Após centrifugação, o soro é imediatamente separado do precipitado de células vermelhas e aliquoteado em tubos de Eppendorf. Estes tubos contendo o soro são armazenados em freezer -80° C para posterior dosagem dos anticorpos anti-P ribossomal por técnica de Enzyme-Linked Immunoabsorbent Assay (ELISA). Foi utilizado um kit comercial Anova® com amostras em duplicata.

Primeiramente todos os reagentes e amostras foram homogeneizados em temperatura ambiente (20-26°C). A solução de lavagem Horseradish Peroxidase (HRP) foi diluída em 1:40, adicionando o conteúdo do frasco de solução de lavagem HRP a 975ml de água destilada ou deionizada. A amostra de cada paciente foi diluída em 1:100, misturando 5 microlitros de amostra para 500 microlitros do diluente das amostras HRP.

Foram adicionados à placa 100 microlitros de Positivo Baixo, Positivo Alto, Controle Negativo ELISA pré-diluídos, e as amostras diluídas aos respectivos micropoços da

placa. Em seguida, a placa foi incubada durante 30 minutos em temperatura ambiente, em uma superfície nivelada.

Para a lavagem, os conteúdos de cada cavidade foram aspirados completamente e adicionados 200-300 microlitros de solução de lavagem HRP a todos os poços, seguida por uma nova aspiração. Este procedimento foi repetido mais duas vezes, totalizando um total de três lavagens. Depois da última lavagem, a placa foi invertida e colocada sobre um papel absorvente para retirar qualquer líquido residual. Após, foram adicionados 100 microlitros do conjugado IgG HRP em cada micropoço da placa permanecendo incubada por 30 min. A lavagem se repetiu depois da incubação e 100 microlitros do cromógeno tetrametilbenzina (TMB) foi adicionado em cada micropoço. A placa foi incubada por 30 minutos no escuro em temperatura ambiente. Ao término da incubação foram adicionados 100 microlitros de solução de parada HRP em cada micropoço. A leitura de absorbância (DO) de cada poço foi feita a 450nm em até 1 hora após a última incubação.

O Positivo Baixo ELISA, Positivo Alto ELISA e o Controle Negativo ELISA pré-diluídos foram introduzidos em todos os ensaios, servindo de padrão para análise das DO.

Para que os resultados dos testes realizados fossem considerados válidos, todos os critérios listados abaixo deveriam ser cumpridos:

- a) A absorbância do Positivo Alto ELISA pré-diluído teve que ser maior que a absorbância do Positivo Baixo ELISA pré-diluído, que por sua vez teve que ser maior que a absorbância do Controle Negativo ELISA.
- b) O Positivo Alto ELISA pré-diluído para os diferentes anticorpos pesquisados teve que apresentar uma absorbância maior que 1,0 enquanto que a absorbância do Controle Negativo ELISA não poderia ultrapassar 0,2.
- c) O Positivo Baixo ELISA deveria ter absorbância duas vezes maior que o Controle Negativo ELISA e/ou ter oscilado entre 0,25 e 0,6 unidades de DO. O Controle Negativo ELISA e o Positivo Alto ELISA serviram para monitorar falhas substanciais nos reagentes.

5.11 Análise Estatística

Para a determinação dos resultados foi utilizado o teste de normalidade de Shapiro-Wilk. Para as variáveis de distribuição normal utilizamos o teste Te teste T pareado. Para as variáveis não-normais foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis, o teste de Mann-Whitney

para comparar as variáveis categóricas e as correlações de Pearson e Spearman para correlacionar as variáveis contínuas. Regressão linear foi utilizada para comparação dos diferentes tempos. Para todas as análises, $p < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo.

6. RESULTADOS

6.1 *Descrição demográfica*

Incluimos 95 [87 (91,6%) mulheres; com média de idade = 40,05 (DP $\pm$ 11,16)] pacientes consecutivos com LES. A duração média da doença foi de 155 meses (DP $\pm$ 105,6).

O grupo de controle foi constituído de 64 controles [53 (82,8%) mulheres; $p = 0,134$] com média de idade = 40,09 anos (DP $\pm$ 6,61) ($p = 0,97$) (tabela 9).

6.2 *Manifestações clínicas na inclusão do estudo*

Quarenta e seis (48,2%) pacientes possuíam doença ativa (SLEDAI ≥ 3) [SLEDAI = 4,25 (DP = 4,18)] e 70 (73,7%) possuíam danos cumulativos (SDI ≥ 1). As manifestações clínicas e laboratoriais estão apresentadas na Tabela 4.

Na entrada no estudo, manifestações neuropsiquiátricas foram observadas em 70 (73,7%) pacientes. Em 62 (65,2%) pacientes com LES observamos sintomas de ansiedade [pontuação média de BAI = 16,02 (DP = 13,38)], em comparação com 18 (28,1%) controles ($p < 0,001$) [pontuação média de BAI = 8,94 (DP = 6,13)]. Sintomas de depressão foram observados em 48 (50,5%) pacientes com LES [pontuação média de BDI = 14,07 (DP = 6,23) e em 14 controles (21,8%) ($p = 0,001$) [pontuação média de BDI = 8,75 (DP = 8,9) ; $p < 0,001$]. O grupo de pacientes apresentou-se significativamente mais depressivos ($p = 0,001$) e ansiosos que o grupo de controles ($p = 0,001$) na entrada do estudo e manteve-se durante as avaliações longitudinais [(T1- Ansiedade $p < 0,001$; Depressão $p = 0,001$); (T2- Ansiedade $p < 0,001$; Depressão $p = 0,001$)].

As manifestações neuropsiquiátricas dos pacientes com LES estão apresentadas na Tabela 5.

Tabela 4. Manifestações clínicas e laboratoriais na inclusão do estudo

Manifestação	N=95 (%)
Clínica	
Alopécia	4 (4,2)
Artrite	10 (10,5)
Fotosensibilidade	20 (21,0)
Lesão discóide	10 (10,5)
Nefrite	25 (26,3)
<i>Rash</i> malar	34 (35,8)
Úlcera oral	20 (21,0)
Laboratorial	
Leucopenia	18 (18,9)
Linfopenia	12 (12,6)
Plaquetopenia	10 (10,2)
Anemia hemolítica	3 (3,2)
Redução de complemento	20 (21,0)
Imunológico (cumulativo)	
FAN	93 (97,9)
Anti-DNA	29 (30,5)
Anti-Ro/SSa	19 (20,0)
Anti-Sm	14 (14,7)
Anti-La/SSb	12 (12,6)

Tabela 5. LES: Manifestações neuropsiquiátricas no T0

Manifestações do SNC	N=95 N (%)
Cefaleia	37 (38,9)
Convulsão	7 (7,4)
Sintomas de ansiedade	62 (65,2)
Sintomas de humor	48 (50,5)
Desordens de movimento	3 (3,2)
Distúrbio cognitivo	63 (66,3)
Doença cerebrovascular	0 (0,0)
Estado confusional agudo	0 (0,0)
Meningite asséptica	2 (2,1)
Mielopatia	2 (2,1)
Psicose	3 (3,2)
Síndromes desmielinizantes	2 (2,1)
Manifestações do SNP	
Desordem autonômica	0 (0,0)
Miastenia grave	0 (0,0)
Mononeuropatia	0 (0,0)
Neuropatia craniana	2 (2,1)
Plexopatia	0 (0,0)
Polineuropatia	3 (3,2)
Polirradiculopatia inflamatória	1 (1,0)
desmielinizante aguda	

6.3 Anti-P

Os anticorpos anti-P foram observados em 16 (16,8%) pacientes com LES e em nenhum dos controles ($p=0,002$) no tempo 0 e 1 e em 17 (17,9%) pacientes no tempo 3 ($p<0,001$). O anticorpo anti-P foi associado com menor média de idade ($34,93 \pm 8,24$ anos versus $41,08 \pm 11,43$ anos) ($p=0,049$), e associou-se com maiores pontuações de SLEDAI em todas avaliações. Não encontramos outras associações do anticorpo com nenhuma manifestação clínica, laboratorial e imunológica. (Tabela 6 e 7). Treze (81,2%) pacientes com anticorpo anti-P positivo apresentavam atividade de doença comparado com 33 pacientes sem o anticorpo anti-P positivo e com atividade de doença (41,8%) ($p=0,005$). Não observamos associações ou correlações entre a presença do anticorpo anti-P e disfunção olfatória ou menores pontuações de TDI em nenhum dos tempos avaliados (tabela 8), no entanto no T0, observamos 6 (37,5%) dos pacientes com anticorpo anti-P positivo tinham hiposmia, no T1, 6 (37,5%) pacientes com hiposmia e 1 (0,06%) paciente com anosmia, e no T2, hiposmia foi encontrada em 9 (56,2%) dos pacientes com anticorpo anti-P positivo.

Tabela 6. LES. Manifestações clínicas e laboratoriais em pacientes com o anticorpo anti-P positivo e negativo

Manifestação	Anti-P positivo N=16 N (%)	Anti-P negativo N=79 N (%)	P
Clínica			
Alopécia	1 (6,2)	2 (2,5)	0,429
Artrite	8 (50)	35 (44,3)	0,440
Fotosensibilidade	12 (75)	37 (46,8)	0,055
Lesão discóide	0 (0,0)	0 (0,0)	- -
Nefrite	6 (37,5)	19 (24,1)	0,208
<i>Rash</i> malar	5 (31,2)	29 (36,7%)	0,456
Serosite	4 (25)	12 (15,2)	0,266
Úlcera oral	2 (12,5)	8 (10,1)	0,532
Laboratorial			
Leucopenia	4 (25)	14 (17,7)	0,369
Linfopenia	6 (37,5)	27 (34,2)	0,505
Plaquetopenia	2 (12,5)	8 (10,1)	0,532
Anemia hemolítica	0 (0,0)	3 (3,8)	0,571
Imunológico (cumulativo)			
FAN	14 (86,5)	60 (75,6)	0,255
Anti-DNA	7 (43,8)	22 (27,8)	0,167
Anti-Ro/SSa	4 (25)	15 (19)	0,401
Anti-Sm	4 (25)	10 (12,5)	0,184
Anti-La/SSb	0 (0,0)	12 (15,2)	0,094
Anti-RNP	6 (37,5)	12 (15,2)	0,073

Tabela 7. Manifestações NP em pacientes com anticorpo anti-P positivo e negativo

Manifestações NP	Anti-P positivo N=16 N (%)	Anti-P negativo N=79 N (%)	P
Cefaleia	7 (43,8)	30 (38,0)	0,780
Convulsão	1 (6,1)	6 (7,6)	1,000
Sintomas de ansiedade	13 (81,2)	48 (60,8)	0,157
Sintomas de depressão	9 (56,2)	34 (43,2)	0,413
Desordens de movimento	0 (0,0)	3 (3,8)	1,000
Distúrbio cognitivo	11 (68,7)	52 (65,8)	0,821
Meningite asséptica	1 (6,25)	1 (1,2)	0,312
Mielopatia	1 (6,25)	1 (1,2)	0,314
Psicose	2 (12,5)	1 (1,2)	0,073
Síndromes desmielinizantes	2 (12,5)	0 (0,0)	0,421
Polineuropatia	2 (12,5)	1 (1,2)	0,073
Polirradiculopatia inflamatória desmielinizante aguda	1 (1,0)	0 (0,0)	0,354
Neuropatia craniana	1 (6,25)	1 (1,2)	0,652

Tabela 8. Avaliações longitudinais em pacientes com anticorpo anti-P positivo e negativo

	Anti-P (+) N=16 (T0 e T1) N= 17 (T2)	Anti-P (-) N=79 (T0 e T1) N= 78 (T2)	p
Idade	34,93 ± 8,24	41,08 ± 11,43	0,049
Função olfatória TO (média ± DP)			
Threshold	7,97 ± 3,41	6,60 ± 3,26	0,178
Discriminação	11,18 ± 2,81	11,03 ± 2,37	0,817
Identificação	11,06 ± 2,82	10,90 ± 2,06	0,475
Total (TDI)	30,22 ± 6,18	28,54 ± 5,14	0,105
Função olfatória T1 (média ± DP)			
Threshold	6,68 ± 2,97	6,44 ± 2,54	0,345
Discriminação	10,87 ± 2,3	10,51 ± 2,41	0,534
Identificação	11,31 ± 2,09	11,48 ± 1,97	0,731
Total (TDI)	28,87 ± 5,89	28,42 ± 5,07	0,432
Função olfatória T2 (média ± DP)			
Threshold	6,73 ± 3,15	5,73 ± 1,96	0,083
Discriminação	10,35 ± 2,06	10,74 ± 2,35	0,322
Identificação	11,12 ± 1,73	11,13 ± 1,96	0,918
Total (TDI)	28,20 ± 4,25	27,64 ± 4,61	0,730
SLEDAI T0 (média ± DP)	7,00 ± 4,05	3,27 ± 3,81	0,001
SLEDAI T1 (média ± DP)	7,18 ± 3,65	3,68 ± 3,35	0,001
SLEDAI T2 (média ± DP)	7,25 ± 3,77	3,51 ± 2,76	<0,001
BAI T0	17,37 ± 15,74	15,20 ± 12,72	0,716

(média ± DP)			
BAI T1 (média ± DP)	21,12 ± 13,08	12,74 ± 13,08	0,05
BAI T2 (média ± DP)	14,29 ± 14,50	12,32 ± 12,96	0,386
BDI T0 (média ± DP)	16,44 ± 17,12	13,85 ± 9,50	0,944
BDI T1 (média ± DP)	14,12 ± 10,68	11,53 ± 10,34	0,236
BDI T2 (média ± DP)	11,06 ± 9,61	11,47 ± 11,01	0,946

6.4 Disfunção olfatória

A disfunção olfatória foi observada em 42 (44,2%) dos pacientes com LES no início do estudo e em 9 (14,45%) dos controles ($p < 0,001$). Além de pontuações TDI mais baixas [pontuações LES significativas = 28,79 ($DP \pm 4,98$) versus valores médios dos controles = 34,31 ($DP \pm 3,50$); $p < 0,001$], os pacientes com LES tiveram pontuações significativamente menores em todos os três sub-testes de SST quando comparados aos controles (Tabela 9).

A pontuação total (TDI) do SST dos pacientes foi associada com o histórico de manifestação NP nos tempos T0 [(TDI= 30,98 $\pm$ 4,16 pontos para os pacientes sem histórico de manifestação NP versus 28,06 $\pm$ 5,51 pontos para pacientes com histórico de manifestação NP) ($p=0,038$)], T1 [(TDI= 30,13 $\pm$ 4,55 pontos para os pacientes sem histórico de manifestação NP versus 27,85 $\pm$ 5,28 pontos para pacientes com histórico de manifestação NP) ($p=0,046$)], e T2 (TDI= 29,61 $\pm$ 3,67 pontos para os pacientes sem histórico de manifestação NP versus 27,07 $\pm$ 4,65 pontos para pacientes com histórico de manifestação NP) ($p=0,025$).

Observamos ainda que o TDI foi correlacionado com a pontuação de BAI ($p=0,012$; $r= -0,257$), BDI ($p= 0,003$; $r= -0,300$) e SLICC ($p=0,005$; $r= -0,284$) no T0. No T1, o TDI foi correlacionado com BDI ($p= 0,032$; $r= -0,020$) e não se correlacionou com BAI e SLICC ($p>0,05$). E no T2, o TDI foi correlacionado com BAI ($p=0,037$; $r= -0,214$) e não se correlacionou com BDI e SLICC ($p>0,05$).

Tabela 9. Função olfatória LES e controles

Olfato	LES T0 N=95	LES T1 N=95	LES T2 N=95	Controle T0 N=64	Controle T1 N=64
Nº de indivíduos com alteração olfatória N (%)	42 (44,2)*	44 (46,31)*	45 (47,36)*	9 (14,06)	9 (14,06)
Anosmia	2 (2,10)	3 (3,15)	3 (3,15)	0 (0,0)	0 (0,0)
Hiposmia	40 (42,10)	41 (43,16)	41 (43,16)	9 (14,06)	9 (14,06)
Função olfatória (média ± DP)					
Threshold	6,74 (3,31)*	6,48 (2,60)*	5,91 (2,23)*	8,61 (3,65)	8,27(3,42)
Discriminação	10,14 (11,06)*	10,56 (2,38)	10,67 (2,29)	11,60 (2,00)	11,63 (2,13)
Identificação	10,84 (2,15)*	11,45 (1,98)	11,12 (1,91)	12,07 (2,28)	11,85 (2,1)
Total (TDI)	28,79 (5,46)*	28,50 (5,19)*	27,73 (4,53)*	32,38 (5,28)	32,64 (4,71)
SLEDAI (média ± DP)	3,8 ± 4,0***	4,2 ± 4,0	4,1 ± 3,2		
SLICC (média ± DP)	1,5 ± 1,3	1,6 ± 1,3**	1,7 ± 1,3		
BAI (média ± DP)	15,5 ± 13,2*	14,21 ± 14,2*	12,6 ± 13,2*	8,9 ± 11,1	8,5 ± 10,0
BDI (média ± DP)	14,3 ± 11,8*	11,9 ± 11,3*	11,4 ± 10,7*	8,7 ± 8,9	8,3 ± 8,1

*Comparação entre LES e grupo controle no T0 e T1. $p < 0,05$

**Comparação entre o primeiro e segundo ano de avaliação nos pacientes. $p < 0,05$

*** Comparação entre o primeiro e segundo ano de avaliação nos pacientes. $p < 0,05$

6.5 Achados de RM

Observamos volumes de hipocampo esquerdo ($p < 0,001$) e amígdala esquerda ($p < 0,013$) significativamente menores no LES quando comparados a controles no início do estudo. Não observamos diferença no hipocampo e amígdala direita entre os dois grupos (Tabela 9).

Na primeira avaliação (T0), observamos atrofia apenas de amígdala esquerda e estava presente em 5 (5,26%) pacientes. Na segunda avaliação, encontramos atrofia de hipocampo direito e esquerdo em 1 (1,05%) paciente e atrofia de amígdala esquerda em 7 (7,37%) pacientes. Na última avaliação, atrofia de amígdala esquerda foi observada em 9 (9,47%) pacientes, atrofia de hipocampo esquerdo em 4 (4,21%) pacientes e atrofia de hipocampo direito em 3 (3,16%) pacientes. Não observamos atrofia de amígdala direita em nenhuma das 3 avaliações.

Quando avaliamos a função olfatória e a volumetria, não encontramos associações ou correlações entre TDI e a volumetria das estruturas analisadas no T0 ($p > 0,05$). No T1, observamos uma correlação entre menor pontuação do TDI e a menor volume de amígdala esquerda ($p = 0,004$; $r = 0,292$) e entre menor pontuação do TDI e a menor volume de amígdala direita ($p = 0,02$; $r = 0,318$), e no T2 observamos correlação entre menor pontuação do TDI e a menor volume de amígdala esquerda ($p = 0,039$; $r = 0,212$) e menor pontuação do TDI e a menor volume de hipocampo direito ($p = 0,033$; $r = 0,314$).

Não observamos associações entre atrofias ou diminuição do volume das estruturas analisadas e histórico de manifestação NP ($p > 0,05$).

Tabela 10. Comparação de volumes de hipocampo e amígdala entre pacientes e controles

Volumetria	LES T0 N=95	LES T1 N=95	LES T2 N=95	Controle T0 N=64	Controle T1 N=64
Hipocampo Direito(mm3) (média ±DP)	4016,55 (470,67)	3949,32 (505,05)	3875,58 (549,44)	4139,52 (567,69)	4201,21 (532,69)
Hipocampo esquerdo (mm3) (média ±DP)	3684,85* (527,63)	3777,51 (494,77)	3788,47 (635,91)	3995,88 (552,12)	3901,23 (532,12)
Amígdala direita (mm3) (média ±DP)	1684,86 (247,11)	1862,33 (290,11)	1834,81 (281,71)	1919,12 (316,37)	1899,19 (256,70)
Amígdala esquerda (mm3) (média ±DP)	1620,43* (235,07)	1587,50 (266,84)	1587,83 (271,79)	1720,66 (292,67)	1851,56 (282,67)

*Comparação entre LES e grupo controle no T0 e T1. $p < 0,05$

6.6 Associação da disfunção olfatória com manifestações clínicas, anticorpo anti-P e volumetria de amígdala e hipocampo

Os pacientes com LES, com disfunção olfatória, são significativamente mais velhos [idade média = 42,77 (DP $\pm$ 11,81) vs 36,61 (DP $\pm$ 11,12) anos; $p = 0,017$], e apresentam atividades da doença mais intensas [pontuação média de SLEDAI = 5,73 (DP $\pm$ 5,68) versus 1,766 (DP $\pm$ 1,65); $p < 0,001$], maiores pontuações de BAI [pontuação BAI média 15,85 (DP $\pm$ 14,98) versus 8,22 (DP $\pm$ 9,50); $p < 0,001$, maiores valores de BDI [pontuação BDI média 14,43 (DP $\pm$ 11,74) vs 7,63 (DP $\pm$ 8,52); $p < 0,001$], volume inferior do hipocampo esquerdo [volume médio 3795,36 mm³ (DP $\pm$ 451,87) versus 3926,73 mm³ (DP $\pm$ 492,92); $p = 0,045$], volume inferior da amígdala esquerda [volume médio 1583,91 mm³ (DP $\pm$ 232,28) versus 1711,65 mm³ (DP $\pm$ 332,51); $p = 0,002$], volume de amígdala inferior direita [volume médio 1798,73 mm³ (DP $\pm$ 296,01) versus 1891,22 mm³ (DP $\pm$ 298,13); $p = 0,024$] em comparação com pacientes com LES sem comprometimento olfativo.

Os pacientes com LES com anticorpos anti-P não apresentaram diminuição do olfato no início e no acompanhamento do estudo ($p > 0,05$). Observamos ainda que os pacientes com anticorpos anti-P positivos apresentavam idade significativamente menor do que os pacientes sem os anticorpos anti-P ($34,93 \pm 8,24$ anos versus $41,08 \pm 11,43$ anos) ($p = 0,049$) e apresentavam mais atividade de doença quando comparados aos pacientes com LES sem anticorpos anti-P ($p = 0,005$). Não foram observadas diferenças entre sexo, duração da doença, volumes das estruturas analisadas, uso de medicação imunossupressora e frequência de anticorpos antifosfolipídicos entre pacientes com LES com e sem disfunção olfatória ($p > 0,005$).

6.7 Avaliação longitudinal da coorte SLE

O desempenho olfativo manteve-se estável ao longo do período de 3 anos em 95 pacientes (Tabela 9) tais como o BAI médio, as pontuações de BDI e os volumes de hipocampo e amígdala (Tabela 9 e 10). O SLEDAI aumentou significativamente entre o primeiro e segundo anos, e manteve-se estável entre o segundo e terceiro anos. As pontuações médias do SLICC aumentaram significativamente entre o primeiro e segundo anos. O anticorpo anti-P manteve-se positivo nos pacientes ao longo do período de avaliação e tornou-se positivo em apenas um paciente no decorrer do estudo, associou-se com menor

idade e com a pontuação do SLEDAI nas três avaliações (Tabela 8) e associou-se apenas com atrofia de amígdala esquerda na ultima avaliação (T2).

7. DISCUSSÃO

Em nosso estudo, observamos que o comprometimento olfatório foi significativamente mais comum nos pacientes com LES que nos controles. Além disso, observamos uma redução significativa em todos os três estágios do teste SST no LES quando comparados aos controles.

Estudos anteriores relataram frequências mais altas de disfunção olfatória em pacientes com LES quando comparados aos controles, no entanto, não foram observadas diferenças nos três estágios entre pacientes e controles (143, 169). Essa diferença pode ser devido ao maior tamanho da amostra de pacientes e controles neste estudo, quando comparado a estudos anteriores (143, 169). Observamos maiores valores de ansiedade e depressão em pacientes com LES que apresentaram disfunção olfatória.

Em modelos animais, a depressão foi associada a uma diminuição significativa no número de neurônios no sistema olfativo e região periventricular (170-173). A redução do sentido do olfato e da depressão poderia ser induzida em modelos animais por transferência passiva de anticorpos anti-P para o SNC de camundongos (174, 175). Além disso, a imunossupressão, alterou o sentido do olfato em camundongos e a infusão intracerebroventricular de líquido cefalorraquidiano de pacientes e camundongos propensos ao lúpus pode induzir a disfunção no aprendizado olfatório e espacial / memória (137). No nosso estudo, não observamos uma associação entre comprometimento olfatório e anticorpos anti-P.

Assim, tanto estudos realizados em humanos quanto em animais relatam a interação entre inflamação, autoanticorpos, depressão e comprometimento olfativo. Em nosso estudo observamos associação entre insuficiência olfatória e atividade da doença, o que pode resultar indiretamente num aumento nos níveis de citocinas no LES. A associação de anormalidades olfatórias e atividade da doença foram relatadas em casos anteriores de LES (137).

A associação de depressão e deficiência olfatória pode ser explicada pelo fato de áreas cerebrais ligadas ao olfato estarem envolvidas em distúrbios neuropsiquiátricos. Em nosso estudo, observamos redução significativa nos volumes de hipocampo e amígdala de pacientes com LES que apresentam insuficiência olfatória. Na esclerose múltipla vários estudos mostraram associação de disfunção olfatória com carga de lesão e anormalidades estruturais em ressonância magnética (176-179). No entanto, este é o primeiro estudo a analisar volumes de hipocampo e amígdala em pacientes com LES com e sem disfunção olfatória.

O sistema olfativo pode ser avaliado através de vários métodos, no entanto, o teste quantitativo é essencial para determinar a validade e a natureza da queixa de um paciente a fim de monitorar com precisão as mudanças na função ao longo do tempo (36). Sensibilidade e praticidade são questões importantes a serem consideradas ao escolher um teste olfativo (143). A literatura relata desde testes breves de identificação de odor até olfatômetros sofisticados e registro eletrofisiológico de alterações induzidas pelo odor ao nível do epitélio olfativo (o eletro-olfactograma, EOG) e córtex (potenciais relacionados a eventos de odor, OERPs) (180-187). Os testes psicofísicos são mais práticos e menos onerosos para uso em prática clínica e pesquisa (182, 183). A utilidade de um teste olfativo clínico depende da sua confiabilidade (consistência, estabilidade), validade (precisão na disfunção de medição) e praticidade (tempo e esforço de administração) (186,189). O teste mais curto geralmente tem menor sensibilidade e confiabilidade (186,189). Além disso, poucos testes realizaram adaptação transcultural, uma vez que o reconhecimento do cheiro tem um importante aspecto cultural (189).

As principais diferenças incluem o tempo do teste e a avaliação dos aspectos periféricos e centrais do olfato. Processo "periférico" (capacidade de detectar um odor, limiar), envolvimento do epitélio nasal; O processo "central" (identificação e discriminação) requer habilidades complexas, incluindo processos cognitivos e verbais (189-190).

A presença de volumes de amígdala e de área de hipocampo menores nos pacientes com LES, quando comparados aos controles, com comprometimento olfatório, corrobora esses resultados e enfatiza a importância de usar um método para avaliar o cheiro que teste os processos centrais e periféricos. Infelizmente, os testes cognitivos não estavam disponíveis para todos os participantes dos estudos e nenhum resultado conclusivo poderia ser desenhado.

Escolhemos usar o teste SST devido à sua capacidade de identificar diferentes aspectos da disfunção do cheiro, como limiar, identificação e discriminação, além de poder comparar nossos resultados com estudos anteriores em doenças reumáticas autoimunes (143).

Observamos que a função olfatória se manteve estável ao longo de um período de 2 anos em pacientes com LES e controles. Este é o primeiro estudo a avaliar a função olfatória durante um período de 2 anos em doenças reumáticas autoimunes. Estudos iniciais de coorte são necessários para determinar os fatores de risco para anormalidades do cheiro, como duração da doença, título de anticorpo, ou alterações cerebrais progressivas, por exemplo.

Observamos os pacientes com LES com disfunção olfatória eram mais velhos que os pacientes sem disfunção olfatória. Alterações relacionadas à idade também foram

observadas em outras coortes e em população saudável (22,37,143,191). Contrariamente aos resultados da literatura que observaram diferenças entre homens e mulheres, nós não observamos diferenças entre sexo em nossa coorte quanto a anormalidades no cheiro (151,153,154,155,176,177,179). No entanto, apenas uma pequena quantidade de homens foi incluída em nosso estudo.

A disfunção olfatória foi observada em 14,5% do nosso grupo de controle saudável. Em um grande estudo transversal dos EUA, incluindo 3519 indivíduos, o comprometimento olfativo estimado foi de 13,5% (192). Embora tenham sido utilizados diferentes métodos de identificação do cheiro, podemos assumir que a prevalência de anormalidades no cheiro em nosso grupo de coortes é comparável a outros indivíduos saudáveis.

8. CONCLUSÃO

8.1. Manifestações olfatórias permanecem estáveis ao longo de três anos no LES.

8.2. Atividade da doença, sintomas de ansiedade e depressão e volume da amígdala e do hipocampo estão associados a alterações olfatórias no LES e o anticorpo anti-P não é associado com manifestações NP ou com alterações olfatórias.

9. REFERÊNCIAS

1. Dubois EL, Tuffanelli DL. Clinical manifestations of systemic lupus erythematosus. Computer analysis of 520 cases. *JAMA*. 1964; 190:104-11
2. West SG. Neuropsychiatric lupus. *Rheum Dis Clin North Am*. 1994; 20:129-58
3. Ruiz-Irastorza G, Khamashta MA, Castellino G, Hughes GR. Systemic lupus erythematosus. *Lancet*. 2001; 357:1027-32
4. Habibi S, Saleem MA, Ramanan AV. Juvenile systemic lupus erythematosus: Review of clinical features and management. *Indian Pediatr*. 2011;48:879-87
5. O'Neill S, Cervera R. Systemic lupus erythematosus. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. 2010; 6:841-55
6. Rahman A, Isenberg DA. Systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med*. 2008;358:929-939
7. Chiu YM, Lai CH. Nationwide population-based epidemiologic study of systemic lupus erythematosus in Taiwan. *Lupus*. 2010;19:1250-1255
8. Silva CA, Avcin T, Brunner HI. Taxonomy for systemic lupus erythematosus with onset before adulthood. *Arthritis Care Res*. 2012;64:1787-1793
9. Feldman CH, Hiraki LT, Liu J, Fischer MA, Solomon DH, Alarcón GS, et al. Epidemiology and sociodemographics of systemic lupus erythematosus and lupus nephritis among US adults with Medicaid coverage, 2000-2004. *Arthritis Rheum*. 2013;65:753-763
10. Lim SS, Bayakly AR, Helmick CG, Gordon C, Easley K, Drenkard C. The Incidence and Prevalence of Systemic Lupus Erythematosus, 2002-2004: The Georgia Lupus Registry. *Arthritis Rheum*. 2014; 66:357-368
12. O'Neill S, Cervera R. Systemic lupus erythematosus. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. 2010; 6:841-855
13. Siegel M and Lee SL. The epidemiology of systemic lupus erythematosus. *Seminars in Arthritis and Rheumatism*. 1973; 3:1-54
14. Petri M. Epidemiology of systemic lupus erythematosus. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. 2002; 16:847-858
15. Shim JS, Sung YK, Joo YB, Lee HS, Bae SC. Prevalence and incidence of systemic lupus erythematosus in South Korea. *Rheumatol Int*. 2013; 34:909-917
16. Nasonov E, Soloviev S, Davidson J, Lila A, Ivanova R, Togizbayev G, et al. The prevalence and incidence of Systemic Lupus Erythematosus (SLE) in selected cities 66 from three Commonwealth of Independent States countries (the Russian Federation, Ukraine and Kazakhstan). *Lupus*. 2014; 23:213-219

17. Villar MJ, Sato EL. Estimating the incidence of systemic lupus erythematosus in a tropical region. *Lupus*. 2002;11:528-532
18. Chahade WH, Sato EI, Moura JE Jr, Costallat LT, Andrade LE. Systemic lupus erythematosus in Sao Paulo/Brazil: a clinical and laboratory overview. *Lupus*. 1995; 4:100-103
19. Borba EF, Araujo DB, Bonfá E, Shinjo SK. Clinical and immunological features of 888 Brazilian systemic lupus patients from a monocentric cohort: comparison with other populations. *Lupus*. 2013. 22:744-749
20. Tan EM, Cohen AS, Fries JF, Masi AT, McShane DJ, Rothfield NF, et al. The 1982 revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*. 1982; 25:1271-1277
21. Hochberg MC. Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*. 1997;40:1725
22. Uppal SS, Hayat SJ, Raghupathy R. Efficacy and safety of infliximab in active SLE: a pilot study. *Lupus*. 2009; 18:690-697.
24. Johnson RT, Richardson EP. The neurological manifestations of systemic lupus erythematosus. *Medicine (Baltimore)*. 1968;47: 337-369
25. Estes D, Christian, CL. The natural history of systemic lupus erythematosus studied by prospective analysis. *Medicine*. 1971;50:85-95
26. Feinglass EJ, Arnett FC, Dorsh CA, Zizic TM, Stevens MB: Neuropsychiatric manifestations of systemic lupus erythematosus: diagnosis, clinical spectrum and relationship to the other features of the disease. *Medicine*. 1976; 55:323-339
27. Adelman DC , Saltiel E, Klinenberg JR. The neuropsychiatric manifestations of SLE:an overview. *Semin Arthr Rheum*. 1986;15:185-199.
28. McCune WJ, Golbus I. Neuropsychiatric lupus. *Rheum Dis Clin North Amer*. 1988; 14:149-166
29. Hochberg MC. Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*. 1997; 40:1725
30. Bruns A, Meyer O. Neuropsychiatric manifestations of systemic lupus erythematosus. *Joint Bone Spine*. 2006;73:639-45.
31. Hanly JG. New insights into central nervous system lupus: a clinical perspective. *Curr Rheumatol Rep*. 2007;9:116-24
32. Joseph FG, Lammie GA, Scolding NJ. CNS lupus: a study of 41 patients. *Neurology*. 2007;69:644-54.

34. Hanly, JG. Neuropsychiatric lupus. *Rheum Dis Clin North Am.* 2005; 31:273-298
35. Hanly JG, Harrison MJ. Management of neuropsychiatric lupus. *Best Pract Res Clin Rheumatol.* 2005;19:799-821
36. Postal M, Costallat LT, Appenzeller S. Neuropsychiatric manifestations in systemic lupus erythematosus: epidemiology, pathophysiology and management. *CNS Drugs.* 2011;25:721-736
37. Abdul-Sattar AB, Goda T, Negm MG. Neuropsychiatric manifestations in a consecutive cohort of systemic lupus erythematosus; a single center study. *Int J Rheum Dis.* 2013;16:715-723
38. Beltrão SM, Gigante LB, Zimmer DB, Zimmermann PR, Schmoeller D, Batistella F, Staub HL. Psychiatric symptoms in patients with systemic lupus erythematosus: frequency and association with disease activity using the Adult Psychiatric Morbidity Questionnaire. *Rev Bras Reumatol.* 2013;53:328-334
39. Hanly JG, McCurdy G, Fougere L, Douglas JA, Thompson K. Neuropsychiatric events in systemic lupus erythematosus: attribution and clinical significance. *J Rheumatol.* 2004; 32:2156-2162
40. Appenzeller S, Pike GB, Clarke AE. Magnetic resonance imaging in the evaluation of central nervous system manifestations in systemic lupus erythematosus. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2008;34:361-366
41. Avcin T, Benseler SM, Tyrrell PN, Cucnik S, Silverman ED. A follow up study of antiphospholipid antibodies and associated neuropsychiatric manifestations in 137 children with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 2008;59:206-213
42. Jung RE, Segall JM, Grazioplene RG, Qualls C, Sibbitt WL, Roldan CA. Cortical thickness and subcortical gray matter reductions in neuropsychiatric systemic lupus erythematosus. *PLoS One.* 2010;5:9302
43. Postal M, Costallat LT, Appenzeller S. Neuropsychiatric manifestations in systemic lupus erythematosus: epidemiology, pathophysiology and management. *CNS Drugs.* 2011;25:721-736
44. Seawell AH, Danoff-Burg S. Psychosocial research on systemic lupus erythematosus: aliterature review. *Lupus.* 2004; 13: 891-9
45. Palagini L, Mosca M, Tani C, Gemignani A, Mauri M, Bombardieri S. Depression and systemic lupus erythematosus: a systematic review. *Lupus.* 2013;22:409-416

46. Kohut SA, Williams TS, Jayanthikumar J, Landolt-Marticorena C, Lefebvre A, Silverman E, Levy DM. Depressive symptoms are prevalent in childhood-onset systemic lupus erythematosus (cSLE). *Lupus*. 2013;22:712-720
47. Bachen EA, Chesney MA, Criswell LA. Prevalence of mood and anxiety disorders in women with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*. 2009;61:822-829
48. Feng PH, Cheah PS, Lee YK. Mortality in systemic lupus erythematosus: a 10-year review. *Br Med J*. 1973; 4:772-774
49. Cheatum DE, Hurd ER, Strunk SW, Ziff M. Renal histology and clinical course of systemic lupus erythematosus. A prospective study. *Arthritis Rheum*. 1973;16:670-676
50. Sergeant JS, Lockshin MD, Klempner MS, Lipsky BA. Central nervous system disease in systemic lupus erythematosus. Therapy and prognosis. *Am J Med*. 1975;58:644-654
51. Lee P, Urowitz MB, Bookman AA, Koehler BE, Smythe HA, Gordon DA, Ogryzlo MA. Systemic lupus erythematosus. A review of 110 cases with reference to nephritis, the nervous system, infections, aseptic necrosis and prognosis. *Q J Med*. 1977;46:1-32
52. Ginzler EM, Diamond HS, Weiner M, Schlesinger M, Fries JF, Wasner C, et al. Juvenile systemic lupus erythematosus: Review of clinical features and management. *Indian Pediatr*. 2011;48:879-887
53. Sibley JT, Olszynski WP, Decoteau WE, Sundaram MB.. The incidence and prognosis of central nervous system disease in systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol*. 1992;19: 47-52
54. Kovacs JA, Urowitz MB, Gladman DD. Dilemmas in neuropsychiatric lupus. *Rheum Dis Clin North Am*. 1993;19:795-814
55. Carlomagno S, Migliaresi S, Ambrosone L, Sannino M, Sanges G, Di Iorio G. Cognitive impairment in systemic lupus erythematosus: a follow-up study. *J Neurol*. 2000;247:273-279
57. Mikdashi J, Handwerker B. Predictors of neuropsychiatric damage in systemic lupus erythematosus: data from the Maryland lupus cohort. *Rheumatology (Oxford)*. 2004; 43:1555-1560
58. Daly D. Central nervous system in acute disseminate lupus erythematosus. *J Nerv Ment Dis*. 1945; 102:461-5.
59. Clark EC, Bailey AA. Neurological and psychiatric signs associated with systemic lupus erythematosus. *J Am Med Assoc*. 1956; 160:455-7.
60. Dubois EL, Tuffanelli DL. Clinical manifestations of systemic lupus erythematosus. Computer analysis of 520 cases. *JAMA*. 1964; 190:104-11.

61. Johnson RT, Richardson EP. The neurological manifestations of systemic lupus erythematosus. *Medicine (Baltimore)*. 1968; 47:337-69.
63. Sergeant JS, Lockshin MD, Klemmner MS, Lipsky BA. Central nervous system disease in systemic lupus erythematosus. Therapy and prognosis. *Am J Med*. 1975;58:644-654
64. Feinglass EJ, Arnett FC, Dorsh CA, Zizic TM, Stevens MB: Neuropsychiatric manifestations of systemic lupus erythematosus: diagnosis, clinical spectrum and relationship to the other features of the disease. *Medicine*. 1976; 55:323-339
65. Ellis SG, Verity MA. Central nervous system involvement in systemic lupus erythematosus: a review of neuropathologic findings in 57 cases, 1955--1977. *Semin Arthritis Rheum*. 1979; 8:212-21.
66. Kaell AT, Shetty M, Lee BC, Lockshin MD. The diversity of neurologic events in systemic lupus erythematosus. Prospective clinical and computed tomographic classification of 82 events in 71 patients. *Arch Neurol*. 1986; 43:273-6.
67. Pistiner M, Wallace DJ, Nessim S, Metzger AL, Klinenberg JR. Lupus erythematosus in the 1980s: a survey of 570 patients. *Semin Arthritis Rheum*. 1991; 21:55-64.
68. Tan EM, Cohen AS, Fries JF, Masi AT, McShane DJ, Rothfield NF, et al. The 1982 revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*. 1982; 25:1271-7.
69. Kassan SS, Lockshin MD. Central nervous system lupus erythematosus. The need for classification. *Arthritis Rheum*. 1979; 22:1382-5.
71. Singer J, Denburg JA. Diagnostic criteria for neuropsychiatric systemic lupus erythematosus: the results of a consensus meeting. The Ad Hoc Neuropsychiatric Lupus Workshop Group. *J Rheumatol*. 1990; 17:1397-402.
72. West SG. Neuropsychiatric lupus. *Rheum Dis Clin North Am*. 1994; 20:129-158
73. Hanly JG, Urowitz MB, Siannis F, Farewell V, Gordon C, Bae SC, et al. Autoantibodies and neuropsychiatric events at the time of systemic lupus erythematosus diagnosis: results from an international inception cohort study. *Arthritis Rheum*. 2008; 58:843-53.
74. Ainiala H, Loukkola J, Peltola J, Korpela M, Hiertahaju A. The prevalence of neuropsychiatric syndromes in systemic lupus erythematosus. *Neurology*. 2001;57:496-500
75. Elkon K, Parnassa A, Foster C. Lupus autoantibodies target ribosomal P proteins. *J Exp Med*. 1985;162:459-71.
76. Golombek SJ, Graus F, Elkon KB. Autoantibodies in the cerebrospinal fluid of patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*. 1986;29:1090-1097.

77. Mahler M, Kessenbrock K, Szmyrka M, Takasaki Y, Garcia-De La Torre I, Shoenfeld Y, et al. International multicenter evaluation of autoantibodies to ribosomal P proteins. *Clin Vaccine Immunol.* 2006;13:77-83
78. Haddouk S, Marzouk S, Jallouli M, Fourati H, Frigui M, Hmida YB, et al. Clinical and diagnostic value of ribosomal P autoantibodies in systemic lupus erythematosus. *Rheumatology (Oxford).* 2009;48:953-7
80. Arnett FC, Reveille JD, Moutsopoulos HM, Georgescu L, Elkon KB. Ribosomal P autoantibodies in systemic lupus erythematosus. Frequencies in different ethnic groups and clinical and immunogenetic associations. *Arthritis and Rheumatism.* 1996;39:1833–1839
81. Bonfa E, Golombek SJ, Kaufman LD, Skelly S, Weissabach H, Brot N, Elkon KB. Association between lupus psychosis and anti-ribosomal P protein antibodies. *N Engl J Med.* 1987;317:265–271
82. Sato EI, Natour J, Martineli VPL, Assis LSS, Farão SR, Medeiros EL, et al: Seguimento clínico e laboratorial de 132 pacientes com lúpus eritematoso sistêmico. *Rev Bras Reumatol.* 1991; 31:57-62.
83. Koscec M, Koren E, Wolfson-Reichlin M, Fugate RD, Trieu E, Targoff IN, et al. Autoantibodies to ribosomal P proteins penetrate into live hepatocytes and cause cellular dysfunction in culture. *J Immunol.* 1997;159:2033-2041
84. Tzioufas AG, Tzortzakis NG, Panou-Pomonis E, Boki KA, Sakarellos-Daitsiotis M, Sakarellos C, et al. The clinical relevance of antibodies to ribosomal-P common epitope in two targeted systemic lupus erythematosus populations: a large cohort of consecutive patients and patients with active central nervous system disease. *Ann Rheum Dis.* 2000;59:99-104
85. Sun KH, Tang SJ, Lin ML, Wang YS, Sun GH, Liu WT. Monoclonal antibodies against human ribosomal P proteins penetrate into living cells and cause apoptosis of Jurkat T cells in culture. *Rheumatology (Oxford).* 2001; 40:750–6.
86. Gerli R, Caponi L, Tincani A, Scorza R, Sabbadini MG, Danieli MG, et al. Clinical and serological Associations of ribosomal P autoantibodies in systemic lupus erythematosus: prospective evaluation in a large cohort of Italian patients. *Rheumatology.* 2002; 41: 1357-1366.
87. Mahler M, Kessenbrock K, Szmyrka M, Takasaki Y, Garcia-De La Torre I, Shoenfeld Y, et al. International multicenter evaluation of autoantibodies to ribosomal P proteins. *Clin Vaccine Immunol.* 2006;13:77-83

88. Olesińska M, Chwalińska-Sadowska H, Więsik-Szewczyk E, Mielnik P, Ząbek J. Clinical manifestation of systemic lupus erythematosus in patients with antiribosomal P protein antibodies. *Pol Arch Med Wewn.* 2010;120;76-81
89. Aldar H, Lapa AT, Bellini B, Sinicato NA, Postal M, Fernandes PT, et al. Prevalence and significance of anti-ribosomal P antibody in childhood-onset systemic lupus erythematosus. *Lupus.* 2012;11:1225-1131
90. Calich AL, Viana VS, Cancado E, Tustumi F, Terrabuio DR, Leon EP, Silva CA, Borba EF, Bonfa E. Anti-ribosomal P protein: a novel antibody in autoimmune hepatitis. *Liver Int.* 2013;33:909-913
91. Press J, Palayew K, Laxer RM, Elkon K, Eddy A, Rakoff D, et al. Antiribosomal P antibodies in pediatric patients with systemic lupus erythematosus and psychosis. *Arthritis Rheum.* 1996; 39: 671–6
92. Nancy Agmon-Levin, Boris Gilburd, Shaye Kivity, Bat Sheva Porat Katz, Iveta Flitman-Katzevman, Netta Shoenfeld, Daphna Paran, Pnina Langevitz and Yehuda Shoenfeld. Anti-Ribosomal-P Antibodies in Lupus Patients and Healthy Controls: Evaluation of Three ELISA Assays. *Imaj.* 2009;11:403-406.
93. Moscovitch SD, Szyper-Kravitz M, Shoenfeld Y. Autoimmune pathology accounts for common manifestations in a wide range of neuro-psychiatric disorders: the olfactory and immune system interrelationship. *Clin Immunol.* 2009;130:235-243
94. Arnett FC, Reveille JD, Moutsopoulos HM, Georgescu L, Elkon KB. Ribosomal P autoantibodies in systemic lupus erythematosus. Frequencies in different ethnic groups and clinical and immunogenetic associations. *Arthritis and Rheumatism.* 1996;39:1833–1839
95. Gerli R, Caponi L, Tincani A, Scorza R, Sabbadini MG, Danieli MG, et al. Clinical and serological Associations of ribosomal P autoantibodies in systemic lupus erythematosus: prospective evaluation in a large cohort of Italian patients. *Rheumatology.* 2002; 41: 1357-1366.
96. Mahler M, Kessenbrock K, Szmyrka M, Takasaki Y, Garcia-De La Torre I, Shoenfeld Y, et al. International multicenter evaluation of autoantibodies to ribosomal P proteins. *Clin Vaccine Immunol.* 2006;13:77–83.
97. Mahler M, Ngo JT, Schulte-Pelkum J, Luetlich T, Fritzler MJ. Limited reliability of the indirect immunofluorescence technique for the detection of anti-Rib-P antibodies. *Arthritis Res Ther.* 2008;10:131
98. Toubi E, Shoenfeld Y. Clinical and biological aspects of anti-P-ribosomal protein autoantibodies. *Autoimmun Rev.* 2007; 6:119-125

99. Olesińska M, Chwalińska-Sadowska H, Więsik-Szewczyk E, Mielnik P, Ząbek J. Clinical manifestation of systemic lupus erythematosus in patients with antiribosomal P protein antibodies. *Pol Arch Med Wewn.* 2010;120;76-81
100. Heinlen LD, Ritterhouse LL, McClain MT, Keith MP, Neas BR, Harley JB, James JA. Ribosomal P autoantibodies are present before SLE onset and are directed against non-C-terminal peptides. *J Mol Med.* 2010;88:719-727
101. Doria A, Zen M, Canova M, Bettio S, Bassi N, Nalotto L, Rampudda M, Ghirardello A, Iaccarino L. SLE diagnosis and treatment: when early is early. *Autoimmun Rev.* 2010;10:55-60
102. Matus S, Burgos PV, Bravo-Zehnder M, Kraft R, Porras OH, Farías P, Barros LF, Torrealba F, Massardo L, Jacobelli S, González A. Antiribosomal-P autoantibodies from psychiatric lupus target a novel neuronal surface protein causing calcium influx and apoptosis. *J Exp Med.* 2007. 24;3221-34
103. Nojima Y, Minota S, Yamada A, Takaku F, Aotsuka S, Yokohari R. Correlation of antibodies to ribosomal P protein with psychosis in patients with systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis.* 1992;5:1053-1055.
104. Press J, Palayew K, Laxer RM, Elkon K, Eddy A, Rakoff D, Silverman ED. Antiribosomal P antibodies in pediatric patients with systemic lupus erythematosus and psychosis. *Arthritis Rheum.* 1996; 39:671-676.
105. Chan EY, Ko OK, Lawton JW, Lau CS. The use of anti-ribosomal P antibodies in the diagnosis of cerebral lupus---superiority of western blotting over enzyme-linked immunosorbent assay. *Hong Kong Med J.* 1998;4:145-150
106. Isshi K, Hirohata S. Association of antiribosomal P protein antibodies with neuropsychiatric systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 1996; 39: 1483-1490
107. Kao CH, Ho YJ, Lan JL, Changlai SP, Liao KK, Chieng PU. Discrepancy between regional cerebral blood flow and glucose metabolism of the brain in systemic lupus erythematosus patients with normal brain magnetic resonance imaging findings. *Arthritis Rheum.* 1999;42:61-8.
108. Tzioufas AG, Tzortzakis NG, Panou-Pomonis E, Boki KA, Sakarellos-Daitsiotis M, Sakarellos C, Moutsopoulos HM. The clinical relevance of antibodies to ribosomal-P common epitope in two targeted systemic lupus erythematosus populations: a large cohort of consecutive patients and patients with active central nervous system disease. *Ann Rheum Dis.* 2000; 59:99-104.

110. Yoshio T, Hirata D, Onda K, Nara H, Minota S. Antiribosomal P protein antibodies in cerebrospinal fluid are associated with neuropsychiatric systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol*. 2005;32:34-39
111. Mahler M, Ngo JT, Schulte-Pelkum J, Luettich T, Fritzler MJ. Limited reliability of the indirect immunofluorescence technique for the detection of anti-Rib-P antibodies. *Arthritis Res Ther*. 2008;10:131
112. Hirohata S1, Arinuma Y, Takayama M, Yoshio T. Association of cerebrospinal fluid anti-ribosomal p protein antibodies with diffuse psychiatric/neuropsychological syndromes in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Res Ther*. 2007;9:R44.
113. Shoenfeld Y. To smell autoimmunity: anti-P-ribosomal autoantibodies, depression, and the olfactory system. *J Autoimmun*. 2007; 28:165-169.
114. Abdel-Nasser AM, Ghaleb RM, Mahmoud JA, Khairy W, Mahmoud RM. Association of anti -ribosomal P protein antibodies with neuropsychiatric and other manifestations of systemic lupus erythematosus. *Clin Rheumatol*. 2008; 27:1377–1385
115. Hanly JG, Urowitz MB, Siannis F, Farewell V, Gordon C, Bae SC, et al. Autoantibodies and neuropsychiatric events at the time of systemic lupus erythematosus diagnosis: results from an international inception cohort study. *Arthritis Rheum*. 2008; 58:843-53.
116. Briani C, Lucchetta M, Ghirardello A, Toffanin E, Zampieri S, Ruggero S, et al. Neurolupus is associated with anti-ribosomal P protein antibodies: an inception cohort study. *J Autoimmun*. 2009;32:79-84.
117. Hanly JG, Urowitz MB, Su L, Bae SC, Gordon C, Clarke A, et al. Autoantibodies as biomarkers for the prediction of neuropsychiatric events in systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis*. 2011; 70:1726-32.
118. Schneebaum AB, Singleton JD, West SG, Blodgett JK, Allen LG, Cheronis JC, Kotzin BL. Association of psychiatric manifestations with antibodies to ribosomal P proteins in systemic lupus erythematosus. *Am J Med*. 1991; 90:54-62.
119. West SG. Neuropsychiatric lupus. *Rheum Dis Clin North Am*. 1994; 20:129-158
120. Watanabe T, Sato T, Uchiumi T, Arakawa M. Neuropsychiatric manifestations in patients with systemic lupus erythematosus: diagnostic and predictive value of longitudinal examination of anti-ribosomal P antibody. *Lupus*. 1996; 5:178-183

121. Yoshio T, Hirata D, Onda K, Nara H, Minota S. Antiribosomal P protein antibodies in cerebrospinal fluid are associated with neuropsychiatric systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol*. 2005;32:34-39
122. Derksen RH, van Dam AP, Gmelig Meyling FH, Bijlsma JW, Smeenk RJ. A prospective study on antiribosomal P proteins in two cases of familial lupus and recurrent psychosis. *Ann Rheum Dis*. 1990; 49:779-82.
123. Van Dam AP. Diagnosis and pathogenesis of CNS lupus. *Rheumatol Int*. 1991; 11:1-11.
124. Teh LS, Bedwell AE, Isenberg DA, Gordon C, Emery P, Charles PJ, et al. Antibodies to protein P in systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis*. 1992; 51:489-94.
125. Teh LS, Isenberg DA. Antiribosomal P protein antibodies in systemic lupus erythematosus: a reappraisal. *Arthritis Rheum*. 1994;37:307-15.
126. Almeida D, Antolín J, Amérigo MJ, Cantabrana A, Roces A, Hayeck M. Anti-ribosomal antibodies as activity markers in systemic lupus erythematosus. *An Med Interna*. 2002; 19:73-5
127. Nery FG, Borba EF, Viana VS, Hatch JP, Soares JC, Bonfá E, et al. Prevalence of depressive and anxiety disorders in systemic lupus erythematosus and their association with anti-ribosomal P antibodies. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2008;32:695-700.
128. Fragoso-Loyo H, Cabiedes J, Orozco-Narváez A, Dávila-Maldonado L, Atisha-Fregoso Y, Diamond B, et al. Serum and cerebrospinal fluid autoantibodies in patients with neuropsychiatric lupus erythematosus. Implications for diagnosis and pathogenesis. *PLoS One*. 2008; 3:3347.
129. Haddouk S, Marzouk S, Jallouli M, Fourati H, Frigui M, Hmida YB, et al. Clinical and Diagnostic value of ribosomal P autoantibodies in systemic lupus erythematosus. *Rheumatology*. 2009; 48:953-7.
130. Conti F, Alessandri C, Bompane D, Bombardieri M, Spinelli FR, Rusconi AC, et al. Autoantibody profile in systemic lupus erythematosus with psychiatric manifestations: a role for antiendothelial-cell Abs. *Arthritis Res Ther*. 2004; 6:366-72.
131. Karassa FB, Afeltra A, Ambrozic A, Chang DM, De Keyser F, Doria A, et al. Accuracy of anti-ribosomal P protein antibody testing for the diagnosis of neuropsychiatric systemic lupus erythematosus: an international meta-analysis. *Arthritis Rheum*. 2006;54:312-324
132. Mahler M, Agmon-Levin N, van Liempt M, Shoenfeld Y, Waka A, Hiepe F, et al. Multi-center evaluation of autoantibodies to the major ribosomal P C22 epitope.

Rheumatol Int. 2012;32:691-698

133. Carmona-Fernandes D, Santos MJ, Canhão H, Fonseca JE. Anti-ribosomal P protein IgG autoantibodies in patients with systemic lupus erythematosus: diagnostic performance and clinical profile. *BMC Med.* 2013;11:98

134. Reichlin M. Cellular dysfunction induced by penetration of autoantibodies into living cells: Cellular damage and dysfunction mediated by antibodies to dsDNA and ribosomal P proteins. *J Autoimmun.* 1998;11:557-561.

135. Matus S, Burgos PV, Bravo-Zehnder M, Kraft R, Porras OH, Farías P, et al. Antiribosomal-P autoantibodies from psychiatric lupus target a novel neuronal surface protein causing calcium influx and apoptosis. *J Exp Med.* 2007;204: 3221-3234

136. Katzav A, Solodeev I, Brodsky O, Chapman J, Pick CG, Blank M, et al. Induction of autoimmune depression in mice by anti-ribosomal P antibodies via the limbic system. *Arthritis Rheum.* 2007;56:938-48.

137. Katzav A, Ben-Ziv T, Chapman J, Blank M, Reichlin M, Shoenfeld Y. Anti-P ribosomal antibodies induce defect in smell capability in a model of CNS -SLE (depression). *J Autoimmun.* 2008; 31:393-398

138. Edmund T. Rolls. Brain mechanisms of emotion and decision-making. *Intern Congress Series.* 2006; 1291: 3-13.

139. Fox NC1, Jenkins R, Leary SM, Stevenson VL, Losseff NA, Crum WR, Harvey RJ, Rossor MN, Miller DH, Thompson AJ. Progressive cerebral atrophy in MS: a serial study using registered, volumetric MRI. *Neurology.* 2000;54:807-812.

143. Shoenfeld N1, Agmon-Levin N, Flitman-Katzevman I, Paran D, Katz BS, Kivity S, Langevitz P, Zandman-Goddard G, Shoenfeld Y. The sense of smell in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 2009; 60:1484-1487.

144. Kowal C, Degiorgio LA, Lee JY, Edgar MA, Huerta PT, Volpe BT, Diamond B. Human lupus autoantibodies against NMDA receptors mediate cognitive impairment. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2006;103:19854-9.

145. Diamond B, Volpe BT. Antibodies and brain disease: a convergence of immunology and physiology. *PLoS Med.* 2006;3:e498.

146. Nishimura K, Harigai M, Omori M, Sato E, Hara M. Blood-brain barrier damage as a risk factor for corticosteroid-induced psychiatric disorders in systemic lupus erythematosus. *Psychoneuroendocrinology.* 2008;33:395-403.

147. Rothermundt M, Peters M, Prehn JH, Arolt V. S100B in brain damage and neurodegeneration. *Microsc Res Tech.* 2003;60:614–32.

148. Strous RD, Shoenfeld Y. To smell the immune system: olfaction, autoimmunity and brain involvement. *Autoimmun Rev.* 2006;6:54-60
150. Kelly JP, Wrynn AS, Leonard BE. The olfactory bulbectomized rat as a model of depression: an update. *Pharmacol Ther.* 1997;74:299-316.
151. Zivadinov R, Zorzon M, Monti Bragadin L, Pagliaro G, Cazzato G. Olfactory loss in multiple sclerosis. *J Neurol Sci.* 1999;15:127-130
153. Doty RL. Olfactory dysfunction in Parkinson disease. *Nat Rev Neurol.* 2012;8:329-339
154. Moberg PJ, Arnold SE, Doty RL, Gur RE, Balderston CC, Roalf DR, et al. Olfactory functioning in schizophrenia: relationship to clinical, neuropsychological, and volumetric MRI measures. *J Clin Exp Neuropsychol.* 2006;28:1444–1461
155. Scinska A1, Wrobel E, Korkosz A, Zatorski P, Sienkiewicz-Jarosz H, Lojkowska W, Swiecicki L, Kukwa W. Depressive symptoms and olfactory function in older adults. *Psychiatry Clin Neurosci.* 2008; 62:450-456
156. Scalco MZ1, Streiner DL, Rewilak D, Castel S, Van Reekum R. Smell test predicts performance on delayed recall memory test in elderly with depression. *Int J Geriatr Psychiatry.* 2009; 24:376-81
157. Eibenstein A1, Fioretti AB, Simaskou MN, Sucapane P, Mearelli S, Mina C, Amabile G, Fusetti M. Olfactory screening test in mild cognitive impairment. *Neurol Sci.* 2005; 26:156-160.
159. Moscovitch SD, Szyper-Kravitz M, Shoenfeld Y. Autoimmune pathology accounts for common manifestations in a wide range of neuro-psychiatric disorders: the olfactory and immune system interrelationship. *Clin Immunol.* 2009; 130:235-43.
160. Bombardier C, Gladman DD, Urowitz MB, Caron D, Chang CH. Derivation of the SLEDAI. A disease activity index for lupus patients. The Committee on Prognosis Studies in SLE. *Arthritis Rheum.* 1992; 35: 630–40
161. Yee CS, Farewell VT, Isenberg DA, Griffiths B, Teh LS, Bruce IN, et al. The use of Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index-2000 to define active disease and minimal clinically meaningful change based on data from a large cohort of systemic lupus erythematosus patients. *Rheumatology (Oxford).* 2011;50:982-8
162. Machado C, Ruperto N. Consenso em reumatologia pediátrica parte II – definição de melhora clínica para o lúpus eritematoso sistêmico e dermatomiosite juvenil. *Rev Bras Reumatol.* 2005;45:14-9
163. Gladman DD, Urowitz MB, Goldsmith CH, Fortin P, Ginzler E, Gordon C, et al. The reliability of the Systemic Lupus International Collaborating Clinics/American College of

Rheumatology Damage Index in patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 1997;40:809–13

164. Beck AT, Epstein N, Brown G, Steer RA. An inventory for measuring clinical anxiety: Psychometric properties. *J Consult Clin Psychol.* 1988;56:893-7

165. Cunha, JA Manual da versão em português das Escalas Beck. São Paulo: *Casa do Psicólogo*, 2001

166. Beck AT, Ward CH, Mendelson M, Mock J, Erbaugh J. An inventory for measuring depression. *Arch Gen Psychiatry.* 1961;4:561-71

167. Kovacs M. The Children's Depression, Inventory (CDI). *Psychopharmacol Bull.* 1985;21:995-8

168. Lindsay W, Skene D. The Beck Depression Inventory II and the Beck Anxiety Inventory in people with intellectual disabilities: factor analyses and group data. *Journal of Applied Research in Intellectual Disabilities.* 2007;20:401–408

169. Cavaco S, Martins da Silva A, Santos E, Coutinho E, Marinho A, Moreira I, et al. Are cognitive and olfactory dysfunctions in neuropsychiatric lupus erythematosus dependent on anxiety or depression? *The Journal of rheumatology.* 2012;39(4):770-6.

170. Guo S, Wang C, Dong S, Cong L, Liu G. [Treatment of transplantation of NT-3 gene modified olfactory ensheathing cells on experimental autoimmune encephalomyelitis in rats]. *Zhonghua yi xue za zhi.* 2015;95(27):2219-23.

171. Rattazzi L, Cariboni A, Poojara R, Shoenfeld Y, D'Acquisto F. Impaired sense of smell and altered olfactory system in RAG-1(--) immunodeficient mice. *Frontiers in neuroscience.* 2015;9:318.

172. Fischl B. FreeSurfer. *NeuroImage.* 2012;62(2):774-81.

173. Kapadia M, Stanojcic M, Earls AM, Pulpaka S, Lee J, Sakic B. Altered olfactory function in the MRL model of CNS lupus. *Behavioural brain research.* 2012;234(2):303-11.

174. Li Q, Yang D, Wang J, Liu L, Feng G, Li J, et al. Reduced amount of olfactory receptor neurons in the rat model of depression. *Neuroscience letters.* 2015;603:48-54.

175. Kivity S, Tsarfaty G, Agmon-Levin N, Blank M, Manor D, Konen E, et al. Abnormal olfactory function demonstrated by manganese-enhanced MRI in mice with experimental neuropsychiatric lupus. *Annals of the New York Academy of Sciences.* 2010;1193:70-7.

176. Jordy SS, Starzewski AJ, Macedo FA, Manica GR, Tilbery CP, Carabetta EG. Olfactory alterations in patients with multiple sclerosis. *Arquivos de neuro-psiquiatria*. 2016;74(9):697-700.
177. Silva AM, Santos E, Moreira I, Bettencourt A, Coutinho E, Goncalves A, et al. Olfactory dysfunction in multiple sclerosis: association with secondary progression. *Multiple sclerosis*. 2012;18(5):616-21.
178. Doty RL, Li C, Mannon LJ, Yousem DM. Olfactory dysfunction in multiple sclerosis. Relation to plaque load in inferior frontal and temporal lobes. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1998;855:781-6.
179. Constantinescu CS, Raps EC, Cohen JA, West SE, Doty RL. Olfactory disturbances as the initial or most prominent symptom of multiple sclerosis. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry*. 1994;57(8):1011-2.
180. Doty RL. Olfactory dysfunction and its measurement in the clinic and workplace. *International archives of occupational and environmental health*. 2006;79(4):268-82.
181. Duff K, McCaffrey RJ, Solomon GS. The Pocket Smell Test: successfully discriminating probable Alzheimer's dementia from vascular dementia and major depression. *The Journal of neuropsychiatry and clinical neurosciences*. 2002;14(2):197-201.
182. Doty RL, Shaman P, Dann M. Development of the University of Pennsylvania Smell Identification Test: a standardized microencapsulated test of olfactory function. *Physiology & behavior*. 1984;32(3):489-502.
183. Doty RL, Marcus A, Lee WW. Development of the 12-item Cross-Cultural Smell Identification Test (CC-SIT). *The Laryngoscope*. 1996;106(3 Pt 1):353-6.
184. Bromley SM, Doty RL. Odor recognition memory is better under bilateral than unilateral test conditions. *Cortex; a journal devoted to the study of the nervous system and behavior*. 1995;31(1):25-40.
185. Cain WS, Gent J, Catalanotto FA, Goodspeed RB. *Clinical evaluation of olfaction*. *American journal of otolaryngology*. 1983;4(4):252-6.
186. Amoore JE, Ollman BG. Practical test kits for quantitatively evaluating the sense of smell. *Rhinology*. 1983;21(1):49-54.
187. Lorig TS. The application of electroencephalographic techniques to the study of human olfaction: a review and tutorial. *International journal of psychophysiology : official journal of the International Organization of Psychophysiology*. 2000;36(2):91-188. Wetter S, Murphy C. A paradigm for measuring the olfactory event-related potential in the clinic.

International journal of psychophysiology : official journal of the International Organization of Psychophysiology. 2003;49(1):57-65.

189. Rawal S, Hoffman HJ, Honda M, Huedo-Medin TB, Duffy VB. The Taste and Smell Protocol in the 2011-2014 US National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES): Test-Retest Reliability and Validity Testing. *Chemosensory perception.* 2015;8(3):138-48.

190. Boesveldt S, Verbaan D, Knol DL, Visser M, van Rooden SM, van Hilten JJ, et al. A comparative study of odor identification and odor discrimination deficits in Parkinson's disease. *Movement disorders: official journal of the Movement Disorder Society.* 2008;23(14):1984-90.

191. Midilli R, Gode S, Oder G, Kabasakal Y, Karci B. Nasal and paranasal involvement in primary Sjogren's syndrome. *Rhinology.* 2013;51(3):265-7.

192. Hedner M, Larsson M, Arnold N, Zucco GM, Hummel T. Cognitive factors in odor detection, odor discrimination, and odor identification tasks. *Journal of clinical and experimental neuropsychology.* 2010;32(10):1062-7.

193. Amital H, Agmon-Levin N, Shoenfeld N, Arnson Y, Amital D, Langevitz P, et al. Olfactory impairment in patients with the fibromyalgia syndrome and systemic sclerosis. *Immunol Res* 2014;60(2-3):201-7.

194. Su N, Poon R, Grushka M. Does Sjogren's syndrome affect odor identification abilities? *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2015;272(3):773-4.

195. Midilli R, Gode S, Oder G, Kabasakal Y, Karci B. Nasal and paranasal involvement in primary Sjogren's syndrome. *Rhinology* 2013;51(3):265-7

196. Kamel UF, Maddison P, Whitaker R. Impact of primary Sjogren's syndrome on smell and taste: effect on quality of life. *Rheumatology* 2009;48(12):1512-4.

197. Weiffenbach JM, Fox PC. Odor identification ability among patients with Sjogren's syndrome. *Arthritis Rheum* 1993;36(12):1752-4.

198. Rasmussen N, Brofeldt S, Manthorpe R. Smell and nasal findings in patients with primary Sjogren's syndrome. *Scand J Rheumatol Suppl* 1986;61:142-5.

199. Jones AE, Larson AL, Powell RD, Johnston GS, Henkin RI. Localization of ^{99m}technetium in the region of the nose in Sjogren's syndrome. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1974;83(3):370-8.

200. Henkin RI, Talal N, Larson AL, Mattern CF. Abnormalities of taste and smell in Sjogren's syndrome. *Ann Intern Med* 1972;76(3):375–83.
201. Takano K, Yamamoto M, Kondo A, Takahashi H, Himi T. A clinical study of olfactory dysfunction in patients with Mikulicz's disease. *Auris Nasus Larynx* 2011;38(3):347–51.
202. Steinbach S, Proft F, Schulze-Koops H, Hundt W, Heinrich P, Schulz S, et al. Gustatory and olfactory function in rheumatoid arthritis. *Scand J Rheumatol* 2011;40(3):169–77.
203. Cavaco S, Martins da Silva A, Santos E, Coutinho E, Marinho A, Moreira I, et al. Are cognitive and olfactory dysfunctions in neuropsychiatric lupus erythematosus dependent on anxiety or depression? *J Rheumatol* 2012;39(4):770–6.
204. Uecker FC, Olze H, Kunte H, Gerz C, Goktas O, Harms L, et al. Longitudinal testing of olfactory and gustatory function in patients with multiple sclerosis. *PLoS One* 2017;12(1):e0170492.
205. Good KP, Tourbier IA, Moberg P, Cuzzocreo JL, Geckle RJ, Yousem DM, et al. Unilateral olfactory sensitivity in multiple sclerosis. *Physiol Behav* 2017;168:24–30.
206. Jordy SS, Starzewski AJ, Macedo FA, Manica GR, Tilbery CP, Carabetta EG. Olfactory alterations in patients with multiple sclerosis. *Arq Neuropsiquiatr* 2016;74(9):697–700.
207. Kandemir S, Muluk NB, Melikoglu B, Dag E, Inal M, Sahin O. Smell functions in patients with multiple sclerosis: a prospective case-control study. *B-ENT* 2016;12(4):323–31.
208. Caglayan HZB, Irkeç C, Nazlıel B, Gurses AA, Capraz I. Olfactory functioning in early multiple sclerosis: Sniffin' sticks test study. *Neuropsychiatr Dis Treat* 2016;12:2143–7.
209. Samkoff LM, Tuchman AJ, Daras M, Koppel BS. A quantitative study of olfaction in multiple sclerosis. *J Neuroeng Rehabil* 1996;10(2):97–9.
210. Caminiti F, De Salvo S, De Cola MC, Russo M, Bramanti P, Marino S, et al. Detection of olfactory dysfunction using olfactory event related potentials in young patients with multiple sclerosis. *PLoS One* 2014;9(7):e103151.

211. Erb K, Bohner G, Harms L, Goektas O, Fleiner F, Dommes E, et al. Olfactory function in patients with multiple sclerosis: a diffusion tensor imaging study. *J Neurol Sci* 2012;316(1–2):56–60.
212. Dahlslett SB, Goektas O, Schmidt F, Harms L, Olze H, Fleiner F. Psychophysiological and electrophysiological testing of olfactory and gustatory function in patients with multiple sclerosis. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2012;269(4):1163–9.
213. Silva AM, Santos E, Moreira I, Bettencourt A, Coutinho E, Goncalves A, et al. Olfactory dysfunction in multiple sclerosis: association with secondary progression. *Mult Scler* 2012;18(5):616–21.
214. Goektas O, Schmidt F, Bohner G, Erb K, Ludemann L, Dahlslett B, et al. Olfactory bulb volume and olfactory function in patients with multiple sclerosis. *Rhinology* 2011;49(2):221–6.
215. Erb-Eigner K, Bohner G, Goektas O, Harms L, Holinski F, Schmidt FA, et al. Tract-based spatial statistics of the olfactory brain in patients with multiple sclerosis. *J Neurol Sci* 2014;346(1–2):235–40.
216. Lutterotti A, Vedovello M, Reindl M, Ehling R, DiPauli F, Kuenz B, et al. Olfactory threshold is impaired in early, active multiple sclerosis. *Mult Scler* 2011;17(8):964–9.
217. Fleiner F, Dahlslett SB, Schmidt F, Harms L, Goektas O. Olfactory and gustatory function in patients with multiple sclerosis. *Am J Rhinol Allergy* 2010;24(5):e93–.
218. Zorzon M, Ukmar M, Bragadin LM, Zanier F, Antonello RM, Cazzato G, et al. Olfactory dysfunction and extent of white matter abnormalities in multiple sclerosis: a clinical and MR study. *Mult Scler* 2000;6(6):386–90.
219. Doty RL, Li C, Mannon LJ, Yousem DM. Olfactory dysfunction in multiple sclerosis: relation to longitudinal changes in plaque numbers in central olfactory structures. *Neurology* 1999;53(4):880–2.
220. Doty RL, Li C, Mannon LJ, Yousem DM. Olfactory dysfunction in multiple sclerosis. Relation to plaque load in inferior frontal and temporal lobes. *Ann N Y Acad Sci* 1998;855:781–6.

221. Hawkes CH, Shephard BC, Kobal G. Assessment of olfaction in multiple sclerosis:evidence of dysfunction by olfactory evoked response and identification tests. *JNeurolNeurosurg Psychiatry* 1997;63(2):145–51.
222. Constantinescu CS, Raps EC, Cohen JA, West SE, Doty RL. Olfactory disturbances as the initial or most prominent symptom of multiple sclerosis. *J Neurol NeurosurgPsychiatry* 1994;57(8):1011–2.
223. Ansari KA. Olfaction in multiple sclerosis.With a note on the discrepancy betweenoptic and olfactory involvement. *Eur Neurol* 1976;14(2):138–45.
224. Li LM, Yang LN, Zhang LJ, Fu Y, Li T, Qi Y, et al. Olfactory dysfunction in patients with multiple sclerosis. *J Neurol Sci* 2016;365:34–9.
225. Holinski F, Schmidt F, Dahlslett SB, Harms L, Bohner G, Olze H. MRI study: objective olfactory function and CNS pathologies in patients with multiple sclerosis. *Eur Neurol* 2014;72(3–4):157–62.
226. Rolet A, Magnin E, Millot JL, Berger E, Vidal C, Sileman G, et al. Olfactory dysfunctionin multiple sclerosis: evidence of a decrease in different aspects of olfactory function. *Eur Neurol* 2013;69(3):166–70.
227. Tallab HF, Doty RL. Anosmia and hypogeusia in Churg-Strauss syndrome. *BMJ Case Rep* 2014;2014.
228. Zhang LJ, Zhao N, Fu Y, Zhang DQ, Wang J, Qin W, et al. Olfactory dysfunction in neuromyelitis optica spectrum disorders. *J Neurol* 2015;262(8):1890–8.
229. Tekeli H, Senol MG, Altundag A, Yalcinkaya E, Kendirli MT, Yasar H, et al. Olfactory and gustatory dysfunction in Myasthenia gravis: a study in Turkish patients. *J Neurol Sci* 2015;356(1–2):188–92.
230. Leon-Sarmiento FE, Bayona EA, Bayona-Prieto J, Osman A, Doty RL. Profound olfactory dysfunction in myasthenia gravis. *PLoS One* 2012;7(10):e45544.
231. Akyol L, Gunbey E, Karli R, Onem S, Ozgen M, Sayarlioglu M. Evaluation of olfactory function in Behcet's disease. *Eur J Rheumatol* 2016;3(4):153–6.
232. Veyseller B, Dogan R, Ozucer B, Aksoy F, Meric A, Su O, et al. Olfactory function and

nasal manifestations of Behcet's disease. *Auris Nasus Larynx* 2014;41(2):185–9.

233. Fasunla JA, Hundt W, Lutz J, Forger F, Thurmel K, Steinbach S. Evaluation of smell and taste in patients with Wegener's granulomatosis. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2012;269(1):179–86.

234. Goktas O, Cao Van H, Fleiner F, Lacroix JS, Landis BN. Chemosensory function in Wegener's granulomatosis: a preliminary report. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2010;267(7):1089–93.

235. Zycinska K, Straburzynski M, Nitsch-Osuch A, Krupa R, Hadzik-Blaszczyk M, Cieplak M, et al. Prevalence of olfactory impairment in granulomatosis with polyangiitis. *Adv Exp Med Biol* 2016;878:1–7.

236. Laudien M, Lamprecht P, Hedderich J, Holle J, Ambrosch P. Olfactory dysfunction in Wegener's granulomatosis. *Rhinology* 2009;47(3):254–9.

237. Proft F, Steinbach S, Dechant C, Witt M, Reindl C, Schulz S, et al. Gustatory and olfactory function in patients with granulomatosis with polyangiitis (Wegener's). *Scand J Rheumatol* 2014;43(6):512–8.

10. Anexo 1. Termo de consentimento livre e esclarecido

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Título da pesquisa: Determinação de marcadores séricos e do líquido associados a alterações estruturais e funcionais do sistema nervoso central no lúpus eritematoso sistêmico

Nome do(s) responsável: Prof Dra Simone Appenzeller

Você está sendo convidado a participar como voluntário de uma pesquisa sobre Lúpus eritematoso sistêmico. Este documento, chamado Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, visa assegurar seus direitos como participante e é elaborado em duas vias, uma que deverá ficar com você e outra com o pesquisador.

Por favor, leia com atenção e calma, aproveitando para esclarecer suas dúvidas. Se houver perguntas antes ou mesmo depois de assiná-lo, você poderá esclarecê-las com o pesquisador. Se preferir, pode levar este Termo para casa e consultar seus familiares ou outras pessoas antes de decidir participar. Não haverá nenhum tipo de penalização ou prejuízo se você não aceitar participar ou retirar sua autorização em qualquer momento.

Justificativa e objetivos:

O objetivo geral do estudo é o de determinar a utilidade de exames específicos e de correlacionar as alterações encontradas no sangue à atividade da doença, a manifestações clínicas diversas como dor de cabeça e problemas de memória. A identificação e quantificação desses biomarcadores encontrados no sangue, pode eventualmente melhorar o diagnóstico e levar a um melhor tratamento desta doença. O sigilo será mantido em todos os estudos colaborativos através da utilização de um número de código para a identificação dos indivíduos participantes.

Procedimentos:

Participando do estudo você está sendo convidado a:

- Responder a perguntas a respeito dos meus antecedentes médicos e de minha família.
- Realizar um exame de ressonância magnética (exame indolor, sem necessidade de preparo prévio ou uso de contraste) no mesmo dia da consulta. Hospitalização não será necessária.
- Colher amostras de sangue venoso (total de 68 mL) nas visitas (4 visitas, a cada 6 meses) ao ambulatório de reumatologia. O sangue será identificado por um código numérico e será congelado. Os exames poderão ser feitos durante um período máximo de 4 anos após a coleta. A coleta de sangue será realizada em um dos braços no dia da sua coleta de sangue no centro de coleta.
- Realizar um teste olfatório (indolor e não invasivo).

Desconfortos e riscos:

Os riscos associados à coleta de sangue são mínimos, podendo ocorrer dor e manchas roxas (equimoses) no local da coleta do sangue. O desconforto será mínimo, pois se trata de uma coleta de sangue geralmente da veia do braço que será realizada por profissional treinado e devidamente habilitado para realizar esse procedimento. Caso você sinta dor e observe o surgimento de manchas roxas você pode realizar uma compressa fria no local. O exame de ressonância magnética é indolor. O exame de ressonância magnética é contraindicado nos casos de claustrofobia e uso de marca-passo cardíaco e/ou qualquer outro objeto metálico, que tenha sido implantado durante cirurgia. O teste olfatório é indolor e não gera desconfortos.

Benefícios:

Você não terá nenhuma vantagem direta com a participação nesse estudo e o seu diagnóstico e tratamento provavelmente não serão modificados. Contudo, os resultados desse estudo podem, em longo prazo, oferecer vantagens para os indivíduos com Lúpus Eritematoso Sistêmico, possibilitando um melhor diagnóstico e um tratamento mais adequado. Os resultados do seu exame de sangue ficarão à disposição dos médicos responsáveis pelo seu tratamento, e poderão ser úteis no futuro.

Acompanhamento e assistência:

Você pode requisitar informações adicionais relativas ao estudo a qualquer momento. A Dra Simone Appenzeller, tel (019) 3521-7886 estará disponível para responder a suas questões e preocupações.

Sigilo e privacidade:

Você tem a garantia de que sua identidade será mantida em sigilo e nenhuma informação será dada a outras pessoas que não façam parte da equipe de pesquisadores. Na divulgação dos resultados desse estudo, seu nome não será citado. Todas as informações médicas decorrentes desse projeto de pesquisa farão parte do seu prontuário médico e serão submetidos aos regulamentos do HC- UNICAMP referentes ao sigilo da informação médica.

Ressarcimento e indenização:

Não vai haver nenhuma forma de reembolso em dinheiro, já que a participação na pesquisa não terá nenhum gasto.

Armazenamento de MATERIAL BIOLÓGICO:

Serão armazenadas as amostras de DNA de acordo com a resolução 441/2011 CNS/MS.

Toda nova pesquisa a ser realizada com o material armazenado será submetida para aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) e, quando for o caso, da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP).

() concordo em participar do presente estudo, porém NÃO AUTORIZO o armazenamento do meu material biológico, devendo o mesmo ser descartado ao final desta pesquisa.

() concordo em participar do presente estudo e AUTORIZO o armazenamento do meu material biológico, sendo necessário meu consentimento a cada nova pesquisa, que deverá ser aprovada pelo CEP institucional e, se for o caso, pela CONEP.

Você, ou seu representante legal, a qualquer tempo e sem quaisquer ônus ou prejuízos, pode retirar o consentimento da guarda e utilização do seu material biológico armazenado. O descarte do material armazenado será autorizado nas seguintes situações: (detalhar).

Em caso de falecimento ou condição incapacitante, os direitos sobre o material armazenado deverão ser dados a: _____. (pedir para o participante indicar o nome de uma pessoa a ser contatada).

Contato:

Em caso de dúvidas sobre a pesquisa, você poderá entrar em contato com a pesquisadora Dra Simone Appenzeller, Rua Alexander Fleming, Hospital de Clínicas da UNICAMP. Ambulatório de Reumatologia Adulto e Pediátrica. 3º andar.

Em caso de denúncias ou reclamações sobre sua participação e sobre questões éticas do estudo, você poderá entrar em contato com a secretaria do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da UNICAMP das 08:30hs às 11:30hs e das 13:00hs às 17:00hs na Rua: Tessália Vieira de Camargo, 126; CEP 13083-887 Campinas – SP; telefone (19) 3521-8936 ou (19) 3521-7187; e-mail: cep@fcm.unicamp.br.

O Comitê de Ética em Pesquisa (CEP).

O papel do CEP é avaliar e acompanhar os aspectos éticos de todas as pesquisas envolvendo seres humanos. A Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP), tem por objetivo desenvolver a regulamentação sobre proteção dos seres humanos envolvidos nas pesquisas. Desempenha um papel coordenador da rede de Comitês de Ética em Pesquisa (CEPs) das instituições, além de assumir a função de órgão consultor na área de ética em pesquisas

Consentimento livre e esclarecido:

Após ter recebido esclarecimentos sobre a natureza da pesquisa, seus objetivos, métodos, benefícios previstos, potenciais riscos e o incômodo que esta possa acarretar, aceito participar e declaro estar recebendo uma via original deste documento assinada pelo pesquisador e por mim, tendo todas as folhas por nós rubricadas:

Nome do(a) participante: _____

Contato telefônico: _____

e-mail (opcional): _____

Data: ____/____/____.
(Assinatura do participante ou nome e assinatura do seu RESPONSÁVEL LEGAL)

Responsabilidade do Pesquisador:

Asseguro ter cumprido as exigências da resolução 466/2012 CNS/MS e complementares na elaboração do protocolo e na obtenção deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Asseguro, também, ter explicado e fornecido uma via deste documento ao participante. Informo que o estudo foi aprovado pelo CEP perante o qual o projeto foi apresentado e pela CONEP, quando pertinente. Comprometo-me a utilizar o material e os dados obtidos nesta pesquisa exclusivamente para as finalidades previstas neste documento ou conforme o consentimento dado pelo participante.

Data: ____/____/____.
(Assinatura do pesquisador)