Evaluación de neuroplasticidad en pacientes con disfunción olfatoria post-quirúrgica después de entrenamiento olfatorio utilizando resonancia magnética funcional. Estudio piloto.

Nombre: Francisco García-Huidobro N.
Grado: Magister en Investigación en Ciencias de la Salud
Profesor guía: Dra. Claudia González Gallardo.
Año: 2020

Evaluación de neuroplasticidad en pacientes con disfuncion olfatoria post-quirúrgica después de entrenamiento olfatorio utilizando resonancia magnetica funcional. Estudio piloto.

Francisco García-Huidobro[1], Cristian Montalba[2,3], Andrés Rosenbaum[1], David Jofré[1], Marcelo E Andia[2,3], Pablo Villanueva[4], Claudio Callejas[1], Claudia González[1]

[1] Departmento de Otorrinolaringologia, Escuela de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile.

[2] Centro de Imágenes Biomedicas, Escuela de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile.

[3] Nucleo Milenio Resonancia Magnetica Cardiovascular, Santiago, Chile.

[4] Departmento de Neurocirugia, Escuela de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile.

Abstract

Introducción: La disfunción olfatoria es definida como la incapacidad de percibir aromas, y su tratamiento aun es desafiante para los otorrinolaringologos dada la escasa variedad de opciones terapeuticas. El entrenamiento olfatorio ha mostrado ser efectivo en mejorar tanto la identificación, discriminación y umbral de detección de aromas en pacientes con disfunción olfatoria de etiología post infecciosa. El presente estudio evalua el efecto del entrenamiento olfatorio en pacientes con disfuncion olfatoria secundaria a un abordaje transesfenoidal de hipófisis utilizando Resonancia Magnética funcional (fMRI).

Materiales y Métodos: Fueron reclutados seis pacientes con disfunción olfatoria post-quirúrgica y tres sujetos sanos. El presente estudio incluyó evaluaciones olfatorias utilizando el “Sniffing screening test” y fMRI mientras los pacientes eran sometidos a estímulos olfatorios. Todos los pacientes fueron evaluados de la misma manera y se seleccionó en forma aleatoria a tres de ellos, a los cuales se les indicó entrenamiento olfatorio durante 12 semanas. Posterior a las 12 semanas de entrenamiento, los sujetos fueron evaluados nuevamente con una olfatometría y fMRI.

Resultados: Los pacientes en el grupo entrenado mostraron una mejora significativa en sus olfatometrías posterior al entrenamiento olfatorio al compararlos con el grupo que no recibió entrenamiento ($P < 0.05$). El análisis de fMRI del grupo que recibió entrenamiento olfatorio mostró una mayor cantidad de áreas cerebrales activadas al compararlo con su medición basal, siendo esto estadísticamente significativo ($P < 0.05$). Además, se observó un mayor número de áreas activadas en el grupo entrenado al compararlo con el que no recibió entrenamiento, sin embargo esta diferencia no fue estadisticamente significativa. Por otro lado, el análisis de conectividad mostró un mayor número de áreas contectadas con la corteza piriforme posterior al tratamiento en grupo entrenado.

Conclusión: Los pacientes que recibieron entrenamiento olfatorio mostraron una mejoría significativa en sus evaluaciones olfatorias. Los resultados de la fMRI mostraron un mayor número de áreas activadas en el grupo que recibió entrenamiento olfatorio, lo cual puede ser compatible con fenómenos de neuroplasticidad.

Palabras clave: Disfunción olfatoria, Mucosa olfatoria, Neoplasias de base de craneo, Cavidad nasal.

Introducción

La disfunción olfatoria post quirúrgica debido a abordajes endoscopicos endonasales ha sido reportada en múltiples publicaciones, pudiendo variar entre un 0% a un 10,9%[1,2]. Esta complicacion se atribuye a la resección quirúrgica o la instrumentalización excesiva de la pared nasal lateral, especialmente el cornete superior y la mitad superior del cornete medio, áreas donde se concentra el epitelio olfatorio[3].

Si bien la disfunción olfatoria post quirúrgica no es una condición poco frecuente, su tratamiento sigue siendo un desafío dada la escasa variedad de opciones terapéuticas[4–6]. Actualmente se han planteado algunos tratamientos como la administración de Ginkgo biloba, zinc, ácido retinoico, ácido alfa-lipoico, teofilina endonasal y el uso de corticoesteroides, sin embargo no existe evidencia que apoye la efectividad de estas terapias[4,7,8].

Recientemente, el entrenamiento olfatorio ha demostrado ser una opcion de tratamiento exitosa de acuerdo a grandes estudios multicéntricos. En estos se ha visto que mejora la capacidad de identificación, discriminación y en menor medida pero también en forma significativa, el umbral de detección de olores, especialmente en pacientes con disfunción olfatoria post infecciosa[5,9–11]. Ademas, una revisión sistemática y metanálisis publicado por Pekala et al. 2016, sugiere que podría ser una alternativa terapéutica para la disfunción olfatoria secundaria a múltiples etiologías[8].

Por otro lado, se ha reportado que en pacientes con disfunción olfatoria post infecciosa, el entrenamiento olfatorio puede inducir una reorganización en redes de conectividad funcional en áreas olfatorias[10,12,13]. Sin embargo, actualmente no existen estudios que evalúen el efecto del entrenamiento olfatorio en pacientes con disfuncion olfatoria post quirúrgica.

El objetivo del presente estudio es evaluar el efecto del entrenamiento olfatorio en pacientes con disfunción olfatoria post quirúrgica utilizando fMRI mientras los pacientes son sometidos a un protocolo de estimulación olfatoria.

Materiales y Métodos

El presente estudio fue aprobado por el “Comité de Ética de la Pontificia Universidad Católica de Chile”, obteniendo consentimiento informado de todos los participantes.

Se incluyeron dos cohortes de sujetos, participantes sanos y pacientes con disfunción olfatoria post quirúrgica. Tres sujetos sanos participaron en el estudio, 2 de sexo masculino y uno de sexo femenino con una edad promedio de 47 años (rango 27 – 60). Los participantes tenían una función olfatoria normal, y no presentaban antecedentes de de patologia neurológica ni psiquiátrica. La segunda cohorte incluyó doce pacientes, 4 de sexo masculino con una edad promedio de 62 años (rango 50 – 70) y 8 de sexo femenino con una edad promedio de 45 años (rango 36 – 64). Los pacientes incluidos debían

presentar una disfunción olfatoria confirmada de al menos un año de evolución, iniciada posterior a una cirugía por abordaje transesfenoidal de hipófisis. Ningún paciente presentaba antecedentes de patologías psiquiátricas ni neurodegenerativas. Además, los protocolos quirúrgicos de todos los pacientes fueron revisados y se objetivó que a todos se les realizó una turbinectomia parcial del cornete superior (dos tercios inferiores) sin confección de colgajo nasoseptal.

Al final del estudio, 9 pacientes completaron el protocolo (6 pacientes con disfunción olfatoria y 3 controles sanos). Seis pacientes fueron excluidos del estudio por retiro voluntario.

Los sujetos sanos solo completaron la primera evaluación y los pacientes con disfunción olfatoria completaron 2 evaluaciones. En la primera de ellas todos los participantes fueron sometidos a una olfatometría para objetivar la disfunción olfatoria. Además, se les realizó un examen otorrinolaringológico completo que incluyó la realización de una nasofibroscopia, objeto poder excluir a pacientes que pudieran presenter otras condiciones que expliquen su trastorno olfatorio. Vale la pena mencionar que ningún paciente con disfuncion olfatoria post quirúrgica presentaba sinequias entre los cornetes medios y el tabique que pudieran obstruir la hendidura olfatoria. Posterior a la realización del examen clínico, los participantes fueron evaluados mediante una fMRI utilizando un paradigma olfatorio y un paradigma de activación trigeminal. A continuación, los seis sujetos del grupo disfuncion olfatoria fueron aleatorizados en dos grupos de 3 personas. El primer grupo recibió entrenamiento olfatorio por un periodo de doce semanas y el segundo no recibió tratamiento en forma inicial. Al completar el periodo de doce semanas, ambos grupos fueron evaluados nuevamente con una olfatometria y una fMRI utilizando el mismo protocolo descrito anteriormente.

La disfunción olfatoria fue evaluada utilizando el “Sniffing Screening test”[14]. Esta herramienta diagnóstica está compuesta por 12 lápices aromáticos los cuales son presentados al paciente para que el pueda identificarlos utilizando una pauta de selección

múltiple que presenta cuatro opciones posibles[15]. El examen clasifica a los pacientes de acuerdo a su grado de disfuncion olfatoria utlizando una escala numerica de 0 – 12 puntos en: normosmia (8 – 12), hiposmia (5 – 7) y anosmia (< 5). Esta herramienta diagnóstica ha sido utilizada en varios paises y actualmente es el único examen de evaluación olfatoria que ha sido validado en Chile[15–19].

El entrenamiento olfatorio fue realizado utilizando cuatro aceites escenciales: Limón (Limonene 67,08% y b-pinen 12,52%), Eucaliptus glovus (1-8-cineole 60%), Clavo de olor (eugenol 75,49% y acetato de eugenol 13,59%) y Lavanda (linalool 36,53% y acetato de linalyl 32,80%). Se les indicó a los pacientes que debían exponerse a cada aroma dos veces al día, realizando una inhalación profunda durante 30 segundos con intervalos de 10 segundos de descanso entre cada aceite escencial. Además, se les indicó que durante la exposición debian evocar algun recuerdo o sentimiento que asociaran al aroma que estuvieran percibiendo. Los pacientes que recibieron entrenamiento olfatorio, fueron contactados telefónicamente una vez al mes para asegurar el cumplimiento de las indicaciones y mantener la motivación durante este periodo. De acuerdo al seguimiento realizado, los pacientes del grupo tratamiento cumplieron el entrenamiento según lo indicado. Al finalizar el periodo de entrenamiento de doce semanas, ambos grupos fueron evaluados con una nueva olfatometria y fMRI. Posterior a la segunda evaluacion, el grupo que no se le indicó entrenamiento olfatorio, recibió tratamiento, sin embargo no fueron evaluados con una nueva fMRI.

Para realizar el paradigma olfatorio durante las sesiones de fMRI se utilizó un sistema de infusión de aromas conectado a una cánula nasal (Figura 1). Este paradigma consistía en cuatro bloques aromaticos con infusión de aceite escencial de eucalyptus (1-8-cineole 60% at 5Lt/hr.) para conseguir activacion cerebral, y cuatro bloques infusión de aire comprimido inodoro (5Lt/hr.) para evaluar funcionalidad cerebral en reposo. Cada bloque aromatico consistía en 20 ciclos de 40 segundos de duración y cada bloque de infusión inodora consistia en 30 ciclos de 60 segundos. Además se realizó un paradigma de activación trigeminal para evaluar la indemnidad de esta vía. Este experimento estuvo

compuesto de cinco bloques de estimulación y cinco bloques de descanso que consistían en 10 ciclos de 10 segundos de duración. Los bloques de estimulación se caracterizaron por la infusión de CO2 inodoro a través de la cánula nasal.

La comparación de los puntajes obtenidos mediante olfatometrias entre cada grupo fue realizado mediante rangos signados de Wilcoxon. El análisis estadístico fue realizado utilizando la version 24.0 (IBM software) del Statistical Package for the Social Sciences (SPSS). El alfa de todos los test estadisticos fue fijado en $\alpha = 0.05$.

Las imágenes fueron adquiridas en un resonador Philips 1,5T (Philips Achieva, Best, The Netherlands) con una bobina de cabeza de 8 elementos. Para la referencia anatómica se adquirió una imagen T1-3D Turbo Spin Eco. 300 cortes, resolución espacial de 0,9 x 0,9 x 0,6 mm3 con un Field of View (FOV) de 230 x 253 mm. Tiempo de repetición (TR) / Tiempo de eco (TE) 7,4 / 3,4 ms, respectivamente con un tiempo de inversión de 876 ms. Las imágenes de resonancia functional (fMRI) fueron adquiridas con secuencias 2D single-shot, eco-planar imaging (EPI), eco de gradientes. 25 cortes, orientados en relación al eje de la comisura blanca anterior y la comisura blanca posterior. Resolución especial de 3,28 x 3,28 x 5,0 mm3 con un FOV de 210 x 210 mm. TR / TE de 2000 / 45 ms, respectivamente.

El preprocesamiento de las imágenes fMRI consistió en un realineamiento espacial y temporal, co-registro con las imágenes T1, normalización con el espacio del Instituto Neurológico de Montréal (MNI) y un suavizado gaussiano de 8 x 8 x 8 mm3 , mediante el uso de la toolbox SPM12 (https://www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm/ Wellcome Centre for Human Neuroimaging, London, UK), implementado en MATLAB 2018a (The MathWorks, Natick, MA). Las imágenes resultantes fueron procesadas con la toolbox CONN, también implementado en MATLAB[20]. La conectividad functional se realizó mediante el análisis ROI-to-ROI. Para las semillas se utilizaron las regiones de la corteza piriforme izquierda y derecha, mediante el uso de una Máscara de región de interés esférica, mediante el programa WFU PickAtlas[21,22]. Estas regiones fueron preseleccionadas, debido a que

poseen centros del procesamiento olfatorio[22–24]. Además se realizaron otros preprocesamientos. Se eliminaron los parámetros Nuiscance, obtenidos a partir del proceso de la corrección de movimiento. Además el curso del tiempo promedio de las regiones de las semillas, fueron correlacionadas con el curso del tiempo promedio de todas las regiones del cerebro. Se obtuvieron imágenes de mapas de conectividad espacial, preseleccionado con las semillas y el resto de las regiones del cerebro[20].

Resultados

Olfatometría

Los sujetos sanos fueron categorizados como normosmicos obteniendo 12 puntos en la evaluación olfatoria. En contraste, los pacientes del grupo disfunción olfatoria obtuvieron puntajes entre 1 y 7 lo que los categorizó como hipósmicos y anósmicos[25].

El grupo de pacientes con disfunción olfatoria fue evaluado con el “Sniffing Screening Test”, no observando diferencias estadísticamente significativas entre el subgrupo tratamiento y sin tratamiento antes de iniciar el periodo de entrenamiento olfatorio. Todos los pacientes del grupo tratamiento mejoraron a la categoría normosmia, en contraste con los pacientes que no fueron tratados que mantuvieron su estado de anosmia. Al comparar los resultados obtenidos en la olfatometría posterior al entrenamiento olfatorio, se observó una mejoria signficativa en el grupo tratamiento ($p < 0.05$) como se muestra en la Tabla 1. Al completar 3 meses de entrenamiento olfatorio, solo un paciente del grupo sin tratamiento se presentó a la tercera evaluación olfatoria que mostró una mejoría hasta la categoria de normosmia. Los dos pacientes restantes del grupo sin tratamiento decidieron retirarse en forma voluntaria del estudio en esta etapa.

Resultados de Resonancia Magnética funcional

Los datos obtenidos a través de la evaluación con fMRI del paradigma olfatorio fueron sometidos a un análisis de primer y segundo nivel utilizando la SPM MATLAB toolbox tanto para el grupo de sujetos sanos como para los pacientes del grupo con disfunción olfatoria. El análisis de fMRI de los controles sanos mostró un significativo número de

áreas activadas durante la estimulación olfatoria (verTabla 2). Además, se observaron diferencias significativas en las áreas de activación entre el grupo de sujetos sanos y el grupo de pacientes con disfunción olfatoria tras realizar una t de student para muestras pareadas (Figure 2).

Los análisis de conectividad funcional fueron realizados utilizando como semilla a la corteza piriforme tanto para los controles sanos como el grupo de pacientes con disfunción olfatoria (grupo tratado y no tratado). Se observaron diferencias en la conectividad funcional entre el grupo control y el grupo disfunción olfatoria. Los pacientes del grupo con disfunción olfatoria presentaron un menor numero de áreas conectadas a la region semilla en comparación con los sujetos sanos (Figura 3). Se observaron siete conexiones en el grupo de sujetos sanos, en contraste, solo se objetivaron 2 conexiones tanto en el grupo tratamiento como en el que no recibió tratamiento previo a la realización del entrenamiento olfatorio.

Al comparar los resultados del análisis funcional utilizando una T de student para muestras independientes entre el grupo tratamiento y el grupo sin tratamiento no se observaron diferencias significativas en las áreas de activación antes del entrenamiento olfativo. Posterior a la intervención, los resultados de la fMRI mostraron una mayor cantidad de áreas de activación en el grupo tratamiento en comparación con el grupo sin tratamiento, sin embargo estas resultaron no ser estadisticamente significativas. Aun cuando no se encontraron diferencias en el análisis previo, se observaron diferencias estadisticamente significativas al comparar las áreas de activación posterior al entrenamiento olfativo con las áreas de activación previo a la intervención utilizando a cada paciente como su propio control. Antes del entrenamiento, solo se activaron cuatro áreas, no obstante, posterior al entrenamiento, nueve áreas se activaron en el grupo de tratamiento destacando una gran área de activación en el cerebelo (Tabla 3).

El análisis de conectividad funcional reveló diferencias entre el grupo tratamiento y el grupo sin tratamiento posterior al entrenamiento olfativo. Los sujetos del grupo de

tratamiento mostraron un mayor número de conexiones a la región semilla en comparación con el grupo sin tratamiento. Se obtuvieron seis conexiones nuevas, y una conexión se mantuvo en el grupo de tratamiento, en contraste, en el grupo sin tratamiento se observó un cambio en las dos conexiones anteriores por dos nuevas (ver Figura 4 y Tabla 4).

Todos los pacientes presentaron activación de áreas relacionadas con el trigémino en la primera resonancia magnética funcional como el giro precentral, el tronco encefálico, la ínsula y la pars triangularis. La activación de las áreas anteriormente descritas sugeriría que la vía del trigéminal se encontraría indemne. No obstante, no fue posible evaluar la conectividad funcional en la vía trigéminal debido a la incomodidad nasal del paciente mientras se sometía al paradigma de activación del trigémino.

Discusión

El principal objetivo del presente estudio fue evaluar la activación neural en pacientes con disfunción olfatoria posterior a la realización de una cirugía hipofisaria antes y después del recibir entrenamiento olfatorio. Sin embargo, no solo se comparó la activación de áreas cerebrales durante la estimulación quimiosensorial, sino también se evaluó cómo estas áreas interactúan con los centros olfatorios. Ademas, se observó que en comparación con los controles sanos, el grupo con disfunción olfatoria presentaba una menor cantidad de áreas de activación y una red de conectividad funcional alterada. Posterior a 12 semanas de entrenamiento olfatorio el grupo tratamiento, no solo logró una mejora significativa en la prueba de identificación olfatoria, sino que también mostraron un aumento en las áreas de activación y una conectividad funcional mayor en comparación con el grupo sin tratamiento.

Múltiples publicaciones han demostrado que la técnica endoscópica transesfenoidal tiene menores tasas de esta complicación al compararlo con el abordaje microscópico[3,26,27]. Ademas, es posible disminuir aun mas las tasas de disfunción olfatoria evitando la resección excesiva del cornete superior y medio, y la realización de un colgajo

nasoseptal[3]. En el presente estudio todos los pacientes fueron sometidos a una resección parcial de ambos cornetes superiores y ninguno de ellos requirió un colgajo nasoseptal o resección de cornete medio.

La neuroplasticidad de otros sentidos como el visual y auditivo han sido ampliamente estudiados en los últimos años, reportando procesos de reorganización neuronal posterior una pérdida funcional[13,28]. El el caso del olfato, estudios recientes han mostrado un fenómeno similar que se traduce en alteraciones estructurales y funcionales de ciertas estructuras cerebrales[13,29]. Múltiples estudios de resonancia magnética (RM) han mostrado una disminución volumétrica del bulbo olfatorio, ya sea después de una pérdida olfativa posinfecciosa, traumatismo encefalocraneano e inflamación rinosinusal, entre otras causas de disfunción olfatoria[30–33]. Adicionalmente, se ha observado que el volumen del bulbo olfatorio aumenta tras el entrenamiento olfatorio y que se asocia a una recuperación parcial de la función olfatoria[34,35]. Aun cuado el mecanismo que explica la plasticidad y la neurogénesis del sentido del olfato todavía no está claro, tanto la investigación clínica como la proveniende desde las ciencias básicas han demostrado que es un sistema plástico que podría inducir una neurogénesis continua[36].

Varios estudios han demostrado que el entrenamiento olfatorio puede restaurar al menos parcialmente la pérdida de la función olfatoria[8,9,37]. Nuestros resultados también muestran una mejora en la identificación de aromas y una reorganización neural de la conectividad funcional en la corteza piriforme en pacientes de etiología posquirúrgica. El grupo de tratamiento mostró una mayor conectividad funcional luego del entrenamiento olfativo, recuperando algunas conexiones que también están presentes en sujetos sanos, como la corteza frontoparietal y algunas áreas del cerebelo. Aun cuando estas no son consideradas áreas olfatorias clásicas, ambas han sido reportadas por múltiples autores, especialmente el cerebelo. Estudios neuroimagenológicos han demostrado que existe activación de áreas cerebelosas inducidas por aromas y que esta podría ser importante en el reconocimiento y la discriminación de olores[29,38]. Es posible inferir que el trauma quirúrgico daña el epitelio olfatorio lo cual provocaría una pérdida de información

sensorial aferente que posteriormente produciría una reorganización a nivel de la red olfatoria. Esto podría estar asociado con la disminución en el número de áreas de activación y la escasa conectividad de otras áreas de procesamiento olfatorio con la corteza piriforme, lo cual fue descrito por Kollndorfer et al[10,13].

Los efectos terapéuticos del entrenamiento olfatorio pueden ser atribuidos a varios factores. Uno de ellos puede ser una modulación de abajo hacia arriba, que consiste en una exposición repetida del epitelio olfativo a diferentes aceites esenciales produciendo un aumento de las entradas olfatorias aferentes. Además, cuando combinamos esto con una tarea de modulación de arriba hacia abajo, como pedirle al paciente que asocie el aroma con un recuerdo o sentimiento es posible evocar y activar otras áreas del cerebro vinculadas al sentido del olfato[36,39]. Otro factor a considerar es la indemnidad de la vía del trigeminal. La percepción de estimulos trigeminales es independiente del procesamiento olfatorio dado que se debe a una interacción específica de las sustancias químicas con los quimiorreceptores nervio trigémino[40,41]. Sin embargo, la mayor parte de los aromas son capaces de estimular tanto al sistema trigeminal como el olfatorio en altas concentraciones[42]. Sobre la base de lo anterior es posible afirmar que ambos sistemas interactúan íntimamente y permiten en forma conjunta la percepción de distintos aromas[41]. Esta asociación ha sido ampliamente reportada, mostrando que ante un estímulo combinado tanto gustatorio, olfatorio y / o trigeminal activan una mayor cantidad de áreas cerebrales que cada uno de sus componentes en forma aislada[43]. Adicionalmente, Kollndorfer et al., ha sugerido que la indemnidad de la vía trigeminal podría estar asociada a la recuperación de la función olfatoria en pacientes que son sometidos a entrenamiento olfatorio. En nuestro estudio, todos nuestros pacientes mostraron activación de áreas relacionadas con el trigémino como el giro precentral, el tronco encefálico, la ínsula y la pars triangularis, lo que podría sugerir la indemnidad de esta vía[12].

El análisis de conectividad en el grupo tratamiento y en el sin tratamiento mostró cambios en las áreas de conexión posterior a las 12 semanas de entrenamiento. Se observó un

aumento en el número de conexiones con la región semilla después del entrenamiento olfativo, lo que es concordante con los resultados presentados por Kolldorfer et al[10]. A pesar de las áreas de conexión en nuestro estudio son diferentes a las publicadas en trabajos publicados con anterioridad, algunos de ellos como la corteza fusiforme y el cerebelo han mostrado una tener una asociación con procesos de identificación de aromas[44]. Futuros estudios deberían abordar este tema para lograr una mejor comprensión de cómo funcionan los procesos de adaptación neuronal y si sus vías de reorganización cambian según la etiología de la disfunción olfativa.

Si bien otras publicaciones indican que es esperable que ocurra una reorganización de las redes de conectividad neural posterior a la realizacion de entrenamiento olfatorio[10,13]; este es el primero que ha evaluado cómo las redes olfativas cambian con el tiempo en pacientes con disfunción olfativa sin tratamiento. En nuestra cohorte, los pacientes sin tratamiento también mostraron cambios en la conectividad funcional, pero el número de áreas conectadas a la región de la semilla permaneció igual (dos áreas). Es necesario realizar estudios adicionales con diferentes períodos de seguimiento para definir cómo estas redes cambian en los pacientes con alteraciones del olfato.

Una de las limitaciones del presente estudio es el tamaño muestral, ya que solo seis pacientes con disfunción olfatoria completaron todas las mediciones. Esto podría explicar el que no se hayan encontrado diferencias estadísticamente significativas al comparar el grupo tratamiento con el grupo sin tratamiento posterior al entrenamiento olfatorio. Otra limitación es la falta de un grupo placebo, ya que en nuestro estudio uno de los grupos no recibió ninguna intervención. Este problema ha sido reportado por otros autores, quienes refieren que la utilización de frascos sin aromas para entrenamiento olfatorio suelen ser detectados por los pacientes o familiares resultando en el abandono de la intervención[8]. Damm et al. enfrentó esta problemática realizando entrenamiento olfatorio con frascos de aromas de alta intensidad y baja intensidad en distintos grupos para controlar de mejor manera el efecto placebo[9]. No obstante, la estimulación de baja

intensidad tambien podría haber desencadenado procesos de reorganización neuronal; por lo tanto, no esta no fue utilizada. Por otro lado, el uso del “Sniffing Screening Test” podría considerarse como una limitación, debido a que solo podemos evaluar la identificación de olores con este instrumento. Sin embargo, hasta la fecha esta es la única prueba de evaluación psicofisica olfatoria validada en nuestro país. No obstante, otros estudios también han evaluado la función olfatoria utilizando la misma[15–17,19]. Dado que no disponemos de una prueba psicofísica ampliada ni validada en nuestro país, solo podemos evaluar si los cambios de conectividad funcional están asociados con la mejora de la identificación de aromas.

Este estudio fue diseñado con un período de entrenamiento de 12 semanas al igual que en otras publicaciones[5,37], no obstante, un estudio multinivel reveló en forma reciente que es posible obtener una mayor mejoría si este se extiende por un período de 32 semanas[9]. Por lo tanto, nuevos estudios que evalúen el efecto del entrenamiento olfatorio en pacientes con disfunción olfatoria posquirúrgica deben ser realizados para evaluar el resultado de paradigmas terapeuticos más extensos en la conectividad funcional.

Conclusión

Nuestros resultados sugieren el entrenamiento olfatorio puede ser una opción terapéutica para pacientes con disfunción olfatoria post-quirúrgica. Además, los resultados muestran que la mejoría observada en la olfatometria se asocia con procesos de reorganización neuronal en áreas olfatorias lo cual es compatible con fenómenos de nueroplasticidad.

Agradecimientos:

El presente estudio fue realizado gracias al apoyo del Departamento de Otorrinolaringología de la Pontificia Universidad Católica de Chile. El estudio recibió

financiamiento por parte del Nucleo Milenio para Resonancia Magnetica Cardiovascular. FONDECYT 1180525.

Conflictos de interés:

Los autores declaran no tener conflictos de interés.

Bibliografía

1. Magro E, Graillon T, Lassave J, et al. Complications Related to the Endoscopic Endonasal Transsphenoidal Approach for Nonfunctioning Pituitary Macroadenomas in 300 Consecutive Patients. *World Neurosurg*. 2016;89:442-453. doi:10.1016/j.wneu.2016.02.059
2. Cheng Y, Xue F, Wang T-Y, et al. Analyses and treatments of postoperative nasal complications after endonasal transsphenoidal resection of pituitary neoplasms. *Medicine (Baltimore)*. 2017;96(15):e6614. doi:10.1097/MD.0000000000006614
3. Berker M, Hazer DB, Yü cel T, et al. Complications of endoscopic surgery of the pituitary adenomas: Analysis of 570 patients and review of the literature. *Pituitary*. 2012;15(3):288-300. doi:10.1007/s11102-011-0368-2
4. Kim DH, Kim SW, Hwang SH, et al. Prognosis of Olfactory Dysfunction according to Etiology and Timing of Treatment. *Otolaryngol Neck Surg*. 2017;156(2):371-377. doi:10.1177/0194599816679952
5. Sorokowska A, Drechsler E, Karwowski M. Effects of olfactory training: a meta-analysis. *Rhinology*. 2016.
6. Dusick JR, Esposito F, Mattozo CA, Chaloner C, McArthur DL, Kelly DF. Endonasal transsphenoidal surgery: The patient's perspective - Survey results from 259 patients. *Surg Neurol*. 2006;65(4):332-341. doi:10.1016/j.surneu.2005.12.010
7. Scangas GA, Bleier BS. Anosmia: Differential diagnosis, evaluation, and management. *Am J Rhinol Allergy*. 2017;31(1):e3-e7. doi:10.2500/ajra.2017.31.4403

8. Pekala K, Chandra RK, Turner JH. Efficacy of olfactory training in patients with olfactory loss: A systematic review and meta-analysis. *Int Forum Allergy Rhinol*. 2016;6(3):299-307. doi:10.1002/alr.21669
9. Damm M, Pikart LK, Reimann H, et al. Olfactory training is helpful in postinfectious olfactory loss: A randomized, controlled, multicenter study. *Laryngoscope*. 2014;124(4):826-831. doi:10.1002/lary.24340
10. Kollndorfer K, Fischmeister FPS, Kowalczyk K, et al. Olfactory training induces changes in regional functional connectivity in patients with long-term smell loss. *NeuroImage Clin*. 2015;9:401-410. doi:10.1016/j.nicl.2015.09.004
11. Konstantinidis I, Tsakiropoulou E, Constantinidis J. Long term effects of olfactory training in patients with post-infectious olfactory loss. *Rhinology*. 2016;54(2):170-175. doi:10.4193/Rhin15.264
12. Iannilli E, Del Gratta C, Gerber JC, Romani GL, Hummel T. Trigeminal activation using chemical, electrical, and mechanical stimuli. *Pain*. 2008;139(2):376-388. doi:10.1016/j.pain.2008.05.007
13. Kollndorfer K, Kowalczyk K, Hoche E, et al. Recovery of olfactory function induces neuroplasticity effects in patients with smell loss. *Neural Plast*. 2014;2014. doi:10.1155/2014/140419
14. Kobal G, Hummel T, Sekinger B, Barz S, Roscher S, Wolf S. “Sniffin’’ sticks": screening of olfactory performance.” *Rhinology*. 1996;34(4):222-226.
15. Hinz A, Luck T, Riedel-Heller SG, et al. Olfactory dysfunction: properties of the Sniffin’ Sticks Screening 12 test and associations with quality of life. *Eur Arch Oto-Rhino-Laryngology*. 2019;276(2):389-395. doi:10.1007/s00405-018-5210-2
16. Hummel T, Kobal G, Gudziol H, Mackay-Sim A. Normative data for the “Sniffin’’ Sticks" including tests of odor identification, odor discrimination, and olfactory thresholds: An upgrade based on a group of more than 3,000 subjects.” *Eur Arch Oto-Rhino-Laryngology*. 2007;264(3):237-243. doi:10.1007/s00405-006-0173-0
17. Katotomichelakis M, Balatsouras D, Tripsianis G, Tsaroucha A, Homsioglou E, Danielides V. Normative values of olfactory function testing using the “Sniffin” Sticks’. *Laryngoscope*. 2007;117(1):114-120.

doi:10.1097/01.mlg.0000246518.79894.7e

18. Lin SH, Chu ST, Yuan BC, Shu CH. Survey of the frequency of olfactory dysfunction in Taiwan. *J Chinese Med Assoc*. 2009;72(2):68-71. doi:10.1016/S1726-4901(09)70025-5
19. Sorokowska A, Schriever VA, Gudziol V, et al. Changes of olfactory abilities in relation to age: odor identification in more than 1400 people aged 4 to 80 years. *Eur Arch Oto-Rhino-Laryngology*. 2015;272(8):1937-1944. doi:10.1007/s00405-014-3263-4
20. Whitfield-Gabrieli S, Nieto-Castanon A. Conn : A Functional Connectivity Toolbox for Correlated and Anticorrelated Brain Networks. *Brain Connect*. 2012;2(3):125-141. doi:10.1089/brain.2012.0073
21. Mainland JD, Bremner EA, Young N, et al. One nostril knows what the other learns. *Nature*. 2002;419(6909):802-802. doi:10.1038/419802a
22. Wilson DA, Best AR, Sullivan RM. Plasticity in the olfactory system: Lessons for the neurobiology of memory. *Neuroscientist*. 2004;10(6):513-524. doi:10.1177/1073858404267048
23. Sobel N, Prabhakaran V, Desmond JE, et al. Sniffing and smelling: separate subsystems in the human olfactory cortex. *Nature*. 1998;392(6673):282-286. doi:10.1038/32654
24. Kareken DA, Sabri M, Radnovich AJ, et al. Olfactory system activation from sniffing: Effects in piriform and orbitofrontal cortex. *Neuroimage*. 2004;22(1):456-465. doi:10.1016/j.neuroimage.2004.01.008
25. Hudson L, Silva MC, Núñez JC, Gómez R, Venegas-Francke P. [Evaluation of olfaction in healthy subjects using the Sniffing Sticks battery]. *Rev Med Chil*. 2012;140(4):442-446. doi:10.4067/S0034-98872012000400004
26. Oruçkaptan HH, Senmevsim Ö, Özcan OE, Özgen T. Pituitary adenomas: Results of 684 surgically treated patients and review of the literature. *Surg Neurol*. 2000;53(3):211-219. doi:10.1016/S0090-3019(00)00171-3
27. Rotenberg B, Tam S, Ryu WHA, Duggal N. Microscopic versus endoscopic pituitary surgery: A systematic review. *Laryngoscope*. 2010;120(7):1292-1297.

doi:10.1002/lary.20949

28. Reichert JL, Schöpf V. Olfactory Loss and Regain: Lessons for Neuroplasticity. *Neurosci*. 2017:107385841770391. doi:10.1177/1073858417703910
29. Vedaei F, Ali Oghabian M, Firouznia K, Harirchian MH, Lotfi Y, Fakhri M. The human olfactory system: Cortical brain mapping using fMRI. *Iran J Radiol*. 2017;14(2). doi:10.5812/iranjradiol.16250
30. Bitter T, Gudziol H, Burmeister HP, Mentzel HJ, Guntinas-Lichius O, Gaser C. Anosmia leads to a loss of gray matter in cortical brain areas. *Chem Senses*. 2010;35(5):407-415. doi:10.1093/chemse/bjq028
31. Rombaux P, Mouraux A, Bertrand B, Nicolas G, Duprez T, Hummel T. Olfactory function and olfactory bulb volume in patients with postinfectious olfactory loss. *Laryngoscope*. 2006;116(3):436-439. doi:10.1097/01.MLG.0000195291.36641.1E
32. Rombaux P, Mouraux A, Bertrand B, Nicolas G, Duprez T, Hummel T. Retronasal and orthonasal olfactory function in relation to olfactory bulb volume in patients with posttraumatic loss of smell. *Laryngoscope*. 2006;116(6):901-905. doi:10.1097/01.mlg.0000217533.60311.e7
33. Mueller A, Reden J, Hummel T, Rodewald A, Gerber J, Von Kummer R. Reduced olfactory bulb volume in post-traumatic and post-infectious olfactory dysfunction. *Neuroreport*. 2005;16(5):475-478. doi:10.1097/00001756-200504040-00011
34. Gudziol V, Buschhüter D, Abolmaali N, Gerber J, Rombaux P, Hummel T. Increasing olfactory bulb volume due to treatment of chronic rhinosinusitis-a longitudinal study. *Brain*. 2009;132(11):3096-3101. doi:10.1093/brain/awp243
35. Haehner A, Rodewald A, Gerber JC, Hummel T. Correlation of olfactory function with changes in the volume of the human olfactory bulb. *Arch Otolaryngol - Head Neck Surg*. 2008;134(6):621-624. doi:10.1001/archotol.134.6.621
36. Huart C, Rombaux P, Hummel T. Neural plasticity in developing and adult olfactory pathways – focus on the human olfactory bulb. *J Bioenerg Biomembr*. 2019;51(1):77-87. doi:10.1007/s10863-018-9780-x
37. Hummel T, Reden KRJ, Hähner A, Weidenbecher M, Hüttenbrink KB. Effects of olfactory Training in patients with olfactory loss. *Laryngoscope*. 2009;119(3):496-

499. doi:10.1002/lary.20101

38. Qureshy A, Kawashima R, Imran MB, et al. Functional Mapping of Human Brain in Olfactory Processing: A PET Study. *J Neurophysiol*. 2017;84(3):1656-1666. doi:10.1152/jn.2000.84.3.1656

39. Soudry Y, Lemogne C, Malinvaud D, Consoli SM, Bonfils P. Olfactory system and emotion: Common substrates. *Eur Ann Otorhinolaryngol Head Neck Dis*. 2011;128(1):18-23. doi:10.1016/j.anorl.2010.09.007

40. Friedland K, Harteneck C. Spices and Odorants as TRP Channel Activators. In: *Springer Handbook of Odor*. ; 2017:85-86. doi:10.1007/978-3-319-26932-0_34

41. Tremblay C, Frasnelli J. Olfactory andtrigeminal systems interact in the periphery. *Chem Senses*. 2018;43(8):611-616. doi:10.1093/chemse/bjy049

42. Doty RL, Brugger WE, Jurs PC, Orndorff MA, Snyder PJ, Lowry LD. Intranasal trigeminal stimulation from odorous volatiles: Psychometric responses from anosmic and normal humans. *Physiol Behav*. 1978;20(2):175-185. doi:10.1016/0031-9384(78)90070-7

43. Cerf-Ducastel B. Interaction of Gustatory and Lingual Somatosensory Perceptions at the Cortical Level in the Human: a Functional Magnetic Resonance Imaging Study. *Chem Senses*. 2002;26(4):371-383. doi:10.1093/chemse/26.4.371

44. Kjelvik G, Evensmoen HR, Brezova V, Haberg AK. The human brain representation of odor identification. *J Neurophysiol*. 2012;108(2):645-657. doi:10.1152/jn.01036.2010

Corresponding author:

* Correspondence to:

Claudia Gonzalez

Otorhinolaryngology Department, School of Medicine.

Pontificia Universidad Católica de Chile. Marcoleta 352, Santiago, Chile.

Telephone and fax numbers: +56 (2) 23543484 / +56 (2) 23543351

Tablas:

Tabla 1: Resultados de olfatometria: normosmia (8-12), hiposmia (5-7) y anosmia (< 5).

	Puntaje de olfatometria			
	Antes de Entrenamiento	Despues de Entrenamiento	Mediana	Valor-p
Grupo sujetos sanos				
Paciente 1	12	-	12	< 0.05 [a]
Paciente 2	12	-		
Paciente 3	12	-		
Grupo con disfunción olfatoria				
Grupo Tratamiento				
Paciente 4	3	8	8	< 0.05 [b]
Paciente 5	5	10		
Paciente 6	4	8		
Grupo sin Tratamiento				
Paciente 7	7	7	2	
Paciente 8	1	1		
Paciente 9	5	2		

[a] U-Mann-Whitney entre grupo de sujetos sanos y grupo con disfuncion olfatoria antes de entrenamiento olfatorio.
[b] U-Mann-Whitney entre grupo tratamiento y el grupo sin tratamiento.

Tabla 2: Clusters significantivos de controles sanos.

		Coordenadas MNI			
Valor-p [a]	Tamaño del cluster [b]	X	Y	Z	Localizacion Anatómica
0.005	46	26	68	-6	Giro Temporal Inferior izquierdo
0.02	26	-42	56	-10	Giro Orbital Frontal Medio
0.001	78	-50	36	-14	Giro Orbital Frontal Inferior
0.000	464	-8	52	-20	Corteza Orbitofrontal
0.000	9015	-48	6	-6	Giro Temporal Superior izquierdo
0.000	3366	56	6	-10	Giro Temporal Superior derecho
0.000	397	-40	44	6	Pars Triangularis izquierda
0.000	476	16	4	-12	Putamen derecho
0.000	444	-30	-66	-28	Cerebelo 6 izquierdo
0.000	408	-4	-58	6	Cingulado Posterior

[a] $p < 0.05$ con corrección FWE a nivel del cluster.
[b] Cluster significativamente activado con 10 mas voxels.

Tabla 3: Clusters significativos en pacientes del grupo tratamiento antes y despues del entrenamiento olfatorio.

Antes de entrenamiento olfatorio		Despues de entrenamiento olfatorio	
Localizacion Anatómica	Tamaño del cluster	Localizacion Anatómica	Tamaño del cluster
Giro Precentral izquierdo	35	Giro Precentral izquierdo	17
Operculo Frontal Inferior izquierdo	72	Operculo Frontal Inferior izquierdo	32
Cerebelo izquierdo	32	Cerebelo izquierdo	37
Cuerpo Calloso izquierdo	12	Giro Frontal Medial izquierdo	14
Insula izquierda	28	Corteza Orbitofrontal Medial izquierda	9
		Cerebelo derecho	129
		Giro Cingulado izquierdo	40
		Giro Fusiforme derecho	18
		Corteza Orbitofrontal Inferior izquierda	36

Valor-p no corregido a 0.001

Tabla 4: Intensidad de conectividad functional con PIR en el grupo tratamiento y sin tratamiento antes y despues de las 12 semanas de entrenamiento olfatorio.

Groupo Tratamiento			
	Localizacion Anatómica	**T (2)**	**Valor-p [a]**
Antes	Giro Temporal Medial derecho	7.14	0.019
	Corteza Fusiforme Temporal derecha	6.80	0.01
Despues	Cerebelo 7b izquierdo	18.46	0.003
	Corteza Cuneal izquierda	10.61	0.009
	Cortez Supracalcarina derecha	9.97	0.01
	Giro Angular izquierdo	9.77	0.01
	Corteza Cuneal derecha	7.73	0.01
	Lobulo Frontoparietal derecho	6.97	0.02
	Corteza Temporal Fusiforme derecha	6.29	0.02
Group sin Tratamiento			
Before	Giro Precentral izquierdo	10.26	0.02
	Giro Temporal Superior derecho	7.80	0.04
After	Giro Cingulado Anterior	7.16	0.01
	Giro Cingulado Anterior	5.47	0.03

[a] Valor-p no corregido a 0.05

Figuras:

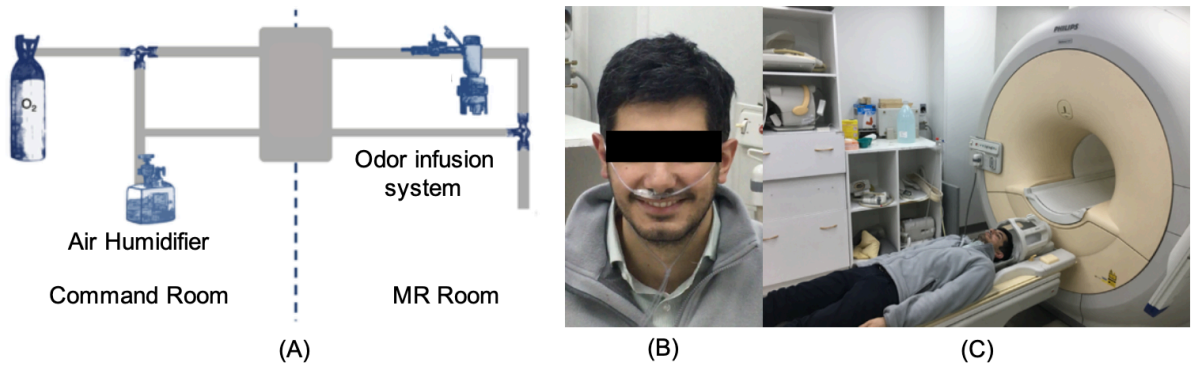

Figura 1. Diagrama del paradigma olfatorio para el experimento de fMRI (A), instalacion de canula nasal para experimento, y disposición del RM 1,5T para realización del experimento.

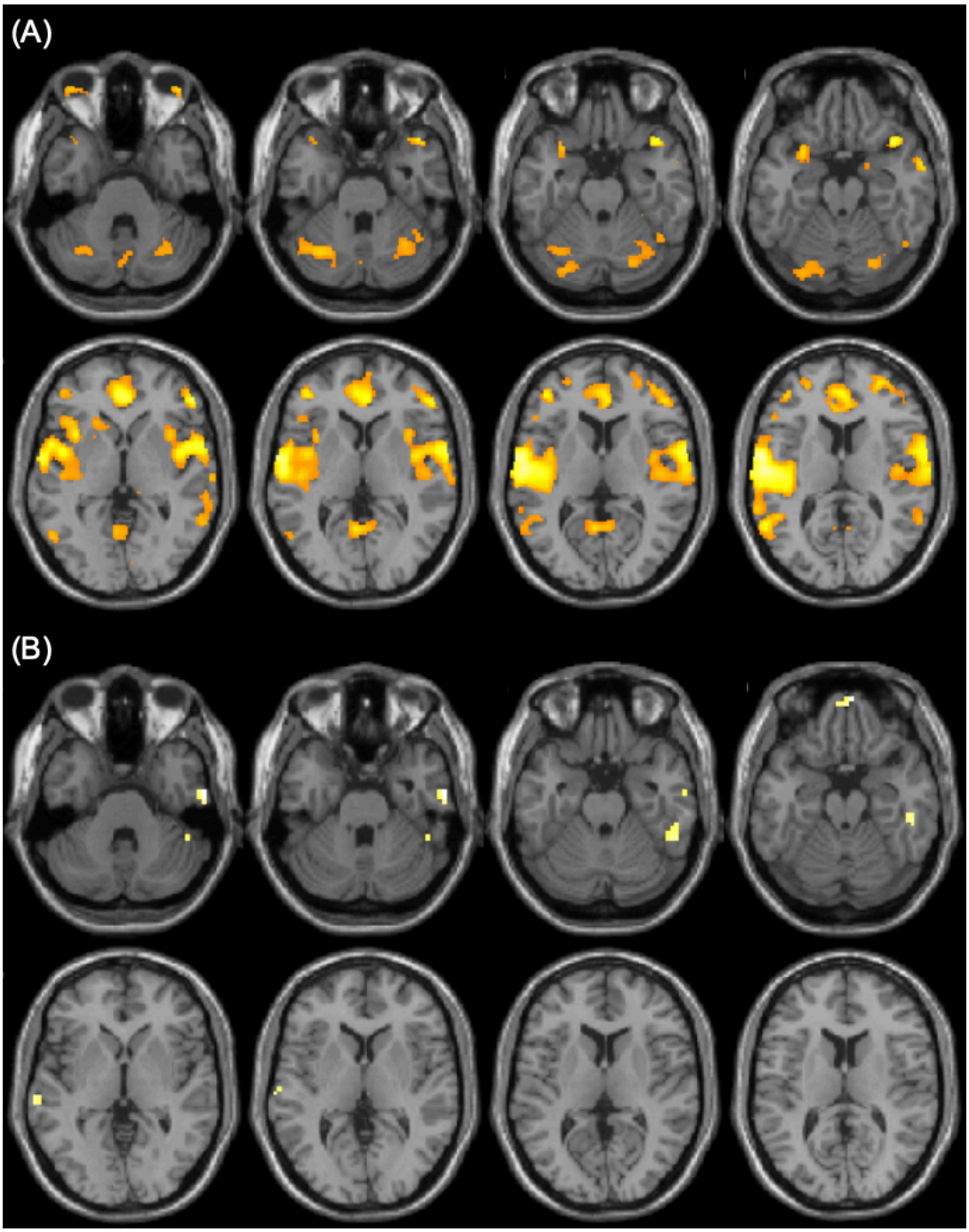

Figura 2. Cortes anatómicos axiales sobrepuestos con (A) áreas de activacion de controles sanos, y (B) áreas activadas del grupo disfunción olfatoria producto de una T de estudent para muestras pareadas (Valores p con umbrales no corregidos < 0.05)

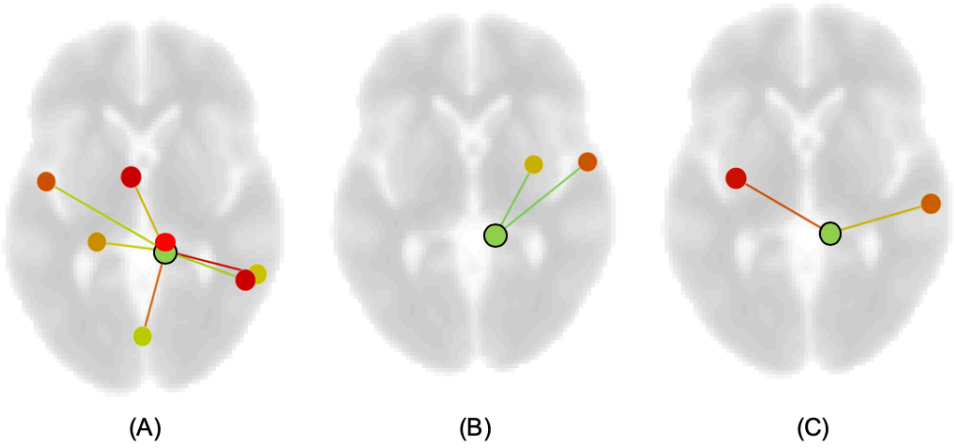

Figura 3. Conectividad funcional del grupo controles sanos en su primera evaluacion utilizando estimulacion olfatoria (A), pacientes en el grupo tratamiento (B), y pacientes en el grupo sin tratamiento (C) sobre una plantilla axial en espacio MNI ($p < 0.05$, corregido FWE). El punto verde respresenta la region de interés seleccionada (PIR); los otros puntos representan las áreas cerebrales conectadas significativamente con la región de interés (Valor p no corregido < 0.05, T de student)

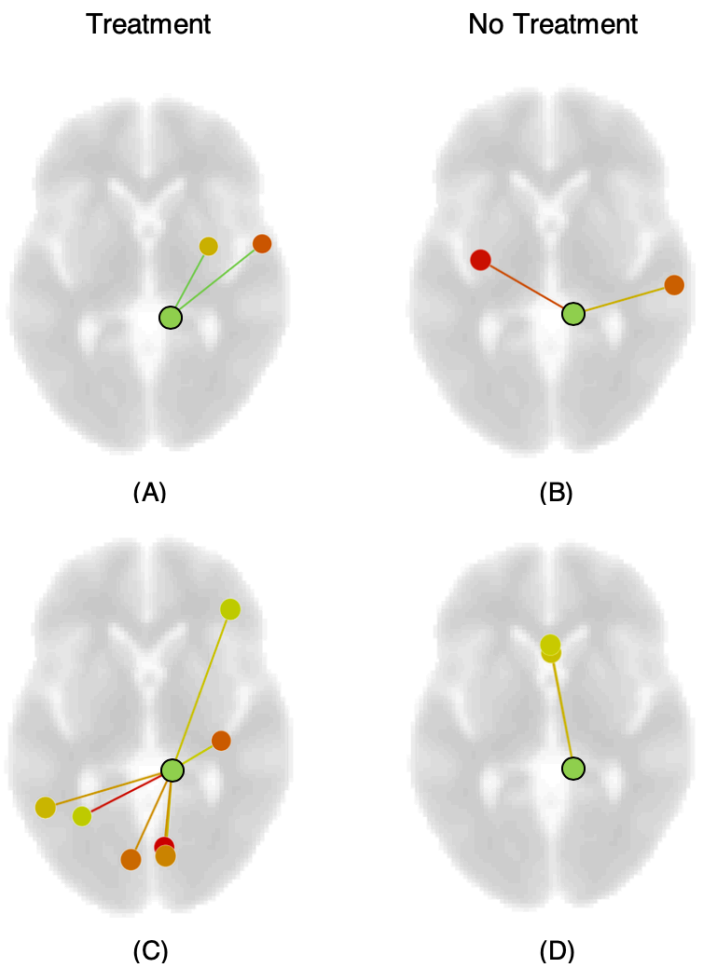

Figura 4. Conectividad funcional de la primera y segunda sesión durante estimulación olfatoria en el grupo con y sin tratamiento sobre una plantilla axial en espacio MNI ($p < 0.05$, corregido FWE). El punto verde respresenta la region de interés seleccionada (PIR), previo al entrenamiento (Fig. 4A y 4B) y posterior al entrenamiento (Fig. 4C y 4D); los otros puntos representan las áreas cerebrales conectadas significativamente con la región de interés (Valor p no corregido < 0.05, T de student)