

Localização e Distribuição da Mucosa Olfactiva Humana nas Fossas Nasais



Localization and Distribution of Human Olfactory Mucosa in the Nasal Cavities

Pedro ESCADA^{1,2}

Acta Med Port 2013 May-Jun;26(3):200-207

RESUMO

Introdução: A distribuição da mucosa olfactiva humana só pode ser determinada em estudos que avaliem a totalidade da região olfactiva. O objectivo deste trabalho é determinar a distribuição da mucosa olfactiva humana a partir do estudo histológico, por microscopia óptica, de peças anatómicas da região olfactiva obtidas do cadáver.

Material e Métodos: Utilizaram-se peças anatómicas da região olfactiva colhidas durante a autópsia de cadáveres recentes. Em cada uma das peças foi determinada a distância entre a lâmina crivosa e o limite inferior da região olfactiva em três localizações diferentes da parede septal e da parede lateral.

Resultados: das 230 peças anatómicas disponíveis, 217 foram excluídas por razões clínicas ou técnicas. Realizaram-se estudos morfométricos em 13 peças num total de 156 medições. O limite inferior da mucosa olfactiva no septo nasal estava a $15,9 \pm 3,2$ mm, a $15,3 \pm 3$ mm e a $16 \pm 2,8$ mm nas porções anterior, média e posterior da região olfactiva. O limite inferior da mucosa olfactiva na parede turbinal estava a $15,3 \pm 2,4$ mm, a $14,8 \pm 2,3$ mm e a $12,3 \pm 1,9$ mm nas mesmas localizações. O valor mínimo observado foi de 12 mm.

Conclusões: A mucosa olfactiva estende-se pelo corneto superior e médio e pelo septo nasal confrontante numa distância que nunca é inferior a 12 mm e que pode ultrapassar os 16 mm. O conhecimento da distribuição exacta da mucosa olfactiva nas fossas nasais pode ser útil para orientar a colheita em seres humanos, com propósitos diagnósticos ou terapêuticos.

Palavras-chave: Antropometria; Cadaver; Colheita de Tecidos e Órgãos; Mucosa Olfactiva/ anatomia e histologia; Neurónios Receptores Olfactivos.

ABSTRACT

Introduction: The exact distribution of the human olfactory mucosa can only be determined in studies that evaluate the entire olfactory region. The purpose of this study is to determine the distribution of human olfactory mucosa in the nasal cavities, by performing the histological analysis, by light microscopy, of anatomical specimens of the olfactory region obtained from cadavers.

Material and Methods: The specimens were taken during the autopsy of fresh cadavers. In each of the specimens, the distance between the cribiform plate and the lower limit of the olfactory region was determined in three different locations of the septal and lateral walls.

Results: Of the 230 anatomical specimens available, 217 were excluded for medical or technical reasons. Morphometric studies were performed on 13 specimens (total 156 measurements). The lower limit of the olfactory mucosa in the nasal septum was 15.9 ± 3.2 mm, 15.3 mm \pm 3 and 16 ± 2.8 mm in the anterior, middle and posterior olfactory regions. The lower limit of the olfactory mucosa in the turbinate wall was 15.3 ± 2.4 mm, 14.8 ± 2.3 mm and 12.3 ± 1.9 mm in the equivalent regions. The minimum value observed was 12 mm.

Conclusions: The olfactory mucosa extends through the upper and middle turbinates and the confronting nasal septum in a minimum distance of 12 mm and that may exceed 16 mm. Knowing the exact distribution of the olfactory mucosa can guide the collection of this tissues in humans, for diagnostic or therapeutic purposes.

Keywords: Anthropometry; Cadaver; Nasal Septum; Olfactory Mucosa/anatomy and histology; Olfactory Receptor Neurons; Tissue and Organ Harvesting

INTRODUÇÃO

Constituição da mucosa olfactiva

A mucosa olfactiva humana consiste num epitélio colunar pseudoestratificado e uma lâmina própria altamente celular (Fig. 1).¹

O epitélio tem quatro tipos celulares: as células olfactivas bipolares receptoras, as células de sustentação, as células microvilares e as células basais.^{2,3}

A célula receptora olfactiva é um neurónio bipolar, projectando um único dendrito para a superfície do neuroepitélio olfactivo e um axónio para o bulbo olfactivo. Os núcleos dos neurónios bipolares dispõem-se a todos os níveis da espessura do epitélio, com os núcleos das células mais ve-

lhas mais próximos da superfície do epitélio. A disposição variável dos núcleos das células confere-lhe o seu aspecto típico pseudo-estratificado.

O dendrito do neurónio bipolar tem uma terminação em forma de taco, conhecida como a vesícula olfactiva. A vesícula olfactiva estende-se para a superfície epitelial (Fig. 2a e 2b) e contém cílios imóveis com receptores de membrana aos quais as moléculas odoríferas se ligam (este último aspecto só é observável em microscopia electrónica). Cada um dos axónios das 6 a 20 milhões de células bipolares atravessa a membrana basal em direcção à lâmina própria, reúne-se para formar fascículos e nervos passan-

1. Serviço de Otorrinolaringologia. Hospital de Egas Moniz. Lisboa. Portugal.

2. Faculdade de Ciências Médicas. Universidade Nova de Lisboa. Lisboa. Portugal.

Recebido: 07 de Janeiro de 2013 - Aceite: 17 de Março de 2013 | Copyright © Ordem dos Médicos 2013

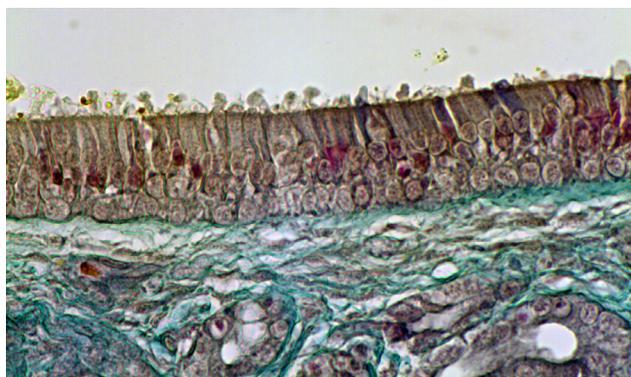


Figura 1 - Imagem original de microscopia óptica da mucosa olfactiva (amostra de cadáver, Tricrómico de Masson, ampliação original de 200X). O epitélio é pseudoestratificado. A membrana basal é fina e a lâmina própria rica em células.

do através dos 15 a 20 orifícios de cada uma das lâminas crivosas para ir formar uma sinapse no interior do bulbo olfactivo.³

As células de sustentação, que são as células predominantes, circundam as células bipolares, contribuindo para a regulação e a manutenção do meio iónico favorável à ocorrência da transdução olfactiva.⁴

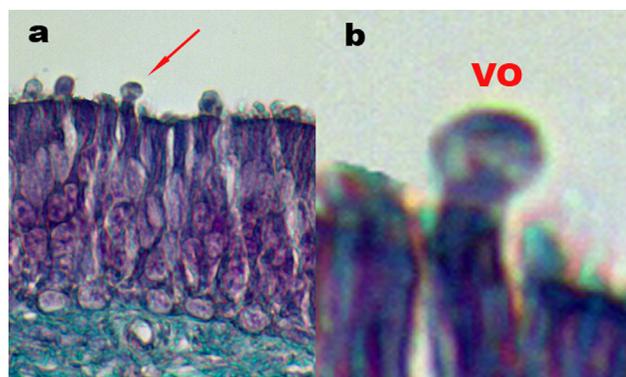
As células microvilares, apenas identificáveis por microscopia electrónica, foram descritas pela primeira vez em 1982 e admitidas como uma segunda classe, morfológica e distintamente distinta, de células receptoras da mucosa olfactiva.⁵ As células basais, o único tipo de células que não se projecta na superfície epitelial e repousa sobre a membrana basal, são reconhecidas como uma população distinta de células estaminais do epitélio olfactivo, capazes de regenerar continuamente e ao longo da vida as células olfactivas danificadas.⁶⁻⁸ Têm propriedades de auto-renovação e multipotência e são capazes de originar, experimentalmente, outras células, neurais e não neurais.^{1,9-11}

A lâmina própria contém fascículos de axónios, vasos sanguíneos, tecido conjuntivo e glândulas de Bowman.¹² Os axónios dos neurónios olfactivos são envolvidos, na sua transição do neuroepitélio olfactivo para o bulbo olfactivo, por uma linhagem única de células gliais: as células olfactivas envolventes (*olfactory ensheathing cells*).¹³

As glândulas de Bowman são glândulas tubulo-alveolares serosas, compostas por ácinos secretores dispostos em forma circular e excretando os seus produtos por um ducto que passa através do epitélio olfactivo (Fig.s 3a e 3b).¹⁴ Os produtos secretados por estas glândulas para a camada mucosa da região olfactiva são essenciais para a transdução olfactiva.

Distribuição da mucosa olfactiva nas fossas nasais

A distribuição da mucosa olfactiva humana nas fossas nasais não foi até à data documentada de forma satisfatória.^{1,15} Os estudos existentes sobre a constituição da mucosa olfactiva basearam-se na realização de biópsias da mucosa olfactiva, mas foram realizados num número muito



Figuras 2a e 2b - Imagem original de microscopia óptica do neuroepitélio olfactivo (amostra de cadáver, Tricrómico de Masson, ampliação original de 400X). A superfície do neuroepitélio olfactivo é caracterizada pela presença das projecções dendríticas dos neurónios bipolares, em forma de bulbo ou de taco de baseball, designadas de vesículas olfactivas (b = pormenor de a; VO = vesícula olfactiva).

limitado de centros e apenas com propósitos de investigação, pretendendo primariamente correlacionar as alterações estruturais histopatológicas observadas com a natureza ou grau da disfunção olfactiva.¹⁶ Mais recentemente, a mucosa olfactiva tem atraído o interesse de muitos investigadores, pois pode ser usada como um marcador precoce para as doenças neurodegenerativas e como uma fonte de células estaminais neurais multipotentes, com aplicações em medicina regenerativa.¹⁷⁻²¹ Neste tópico, destaque-se, entre outros, os trabalhos de investigação básica e de investigação clínica do investigador português Carlos Lima sobre a utilização da mucosa olfactiva no tratamento das lesões traumáticas crónicas de medula espinal, que tiveram a participação do autor deste trabalho,^{15,19-26} ou os trabalhos de investigação animal mais recente em cães, amplamente divulgados mais recentemente nos meios científicos e na comunicação social.²⁷

Em 1892, von Brunn fez medições na área olfactiva em dois casos post-mortem, revelando áreas respectivamente de 307 e 238 mm² (Caso 1: 133 mm² no septo e 174 mm² na parede lateral; Caso 2: 99 mm² no septo e 139 mm² na parede lateral).²⁸ Na figura retratada por Lang baseada nas medições de von Brunn reconhece-se que a região olfactiva se estende para uma posição inferior ao plano do ósteo do seio esfenoidal e se distribui em áreas do corneto médio,²⁹ contradizendo a assumpção por vezes referida de que a mucosa olfactiva na parede lateral apenas ocupa o corneto superior.

Muitos estudos subsequentes confirmam também que a mucosa olfactiva tem uma distribuição mais inferior e anterior do que o tradicionalmente admitido. Num desses estudos, Leopold et al usou a electro-olfactografia e biópsias localizadas, para identificar mucosa olfactiva junto à inserção anterior do corneto médio e anteriormente a essa inserção, quer na parede medial, quer na parede lateral da fossa nasal.³⁰ Restrepo et al colheram neurónios receptores olfactivos em biópsias realizadas no septo oposto à porção superior do corneto médio,³¹ e Féron et al demonstraram epitélio olfactivo distribuído em áreas do corneto médio em mais de

50% de 71 espécimes de biópsia colhidos de voluntários saudáveis.³² Resultados similares foram demonstrados por Rawson et al que obtiveram neurónios olfactivos identificáveis morfológicamente em biópsias realizadas no septo nasal oposto à porção superior do corneto médio e no corneto médio propriamente dito.³³ Os mesmos autores verificaram que, quer as biópsias obtidas eram capazes de produzir, na maior parte dos espécimes, neurónios olfactivos responsivos às substâncias odorantes.³⁴ Estudos imunoquímicos realizados por Nibu et al também confirmaram que a mucosa olfactiva está presente no epitélio de revestimento da porção mais inferior dos cornetos médios.³⁵

Exploração da mucosa olfactiva nas fossas nasais

A maior parte dos estudos realizados para estudar e identificar a mucosa olfactiva nos seres humanos basearam-se na realização de biópsias. Curiosamente, foram os próprios autores que desenvolveram a técnica da biópsia endoscópica da mucosa olfactiva que reconheceram, logo nessa altura, a sua insuficiência para concretizar estudos destinados ao mapeamento da mucosa olfactiva nas fossas nasais.³⁶ De acordo com estes autores, a distribuição exacta da mucosa olfactiva nas fossas nasais só poderia ser realizada em estudos cadavéricos, pois só assim seria possível, por motivos técnicos e por razões éticas, a análise de quantidades maiores de tecido ou de peças anatómicas que incluíssem a totalidade da região olfactiva.

Os únicos estudos publicados até à data nos quais se utilizaram peças anatómicas de cadáver constituídas por áreas mais extensas da região, foram realizados por Paik et al e por Nibu et al.^{35,37} Em ambos os estudos a colheita da peça anatómica foi realizada por abordagem intracraniana, após craniotomia e remoção do encéfalo e da dura-máter. Os espécimes incluíam a lâmina crivosa, o septo nasal e os cornetos médio e superior, e foram removidos em bloco utilizando serras circulares.

No primeiro estudo foram colhidos 12 espécimes mas só em três deles o epitélio foi mantido preservado e pôde ser analisado. Os dadores eram indivíduos sem anteceden-

tes ou presença de patologia naso-sinusal, com 34, 57 e 82 anos de idade, sendo o último do sexo feminino. A técnica utilizada para a visualização da mucosa olfactiva (neuroepitélio) foi a microscopia óptica dos cortes impregnados com prata pelo método de Bodian. Os critérios para a sua identificação foram a presença dos dendritos das células bipolares (vesículas olfactivas) e a ausência de cílios respiratórios. Os resultados foram a identificação de mucosa olfactiva em todos os três espécimes, numa extensão vertical média da região olfactiva (a partir da lâmina crivosa) de 14,3 mm. A presença de áreas de epitélio respiratório no meio do neuroepitélio olfactivo foi identificada, mas só de forma assinalável no indivíduo com 82 anos de idade.³⁷

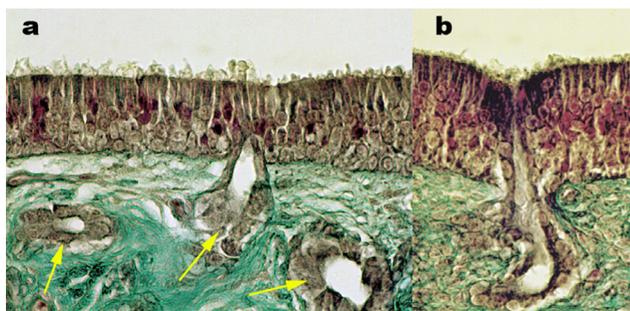
No segundo estudo os dois espécimes cadavéricos utilizados foram obtidos menos de 24 horas após o falecimento. Não foram indicados dados demográficos ou clínicos dos dadores. A identificação da mucosa olfactiva foi realizada utilizando-se técnicas de imunohistoquímica com anticorpos que marcam o neuroepitélio olfactivo. Os resultados permitiram concluir que a mucosa olfactiva se estendia mais inferiormente do que o previamente estabelecido, incluindo na sua área de distribuição a porção mais inferior do corneto médio.³⁵

Identificação da mucosa olfactiva

Os diferentes métodos que têm sido utilizados para a identificação da mucosa olfactiva humana nas amostras recolhidas por biópsia de dadores vivos incluem a microscopia óptica, a microscopia electrónica de transmissão e técnicas imunohistoquímicas.³⁸⁻⁴⁰ No cadáver, todavia, a microscopia electrónica e a imunohistoquímica são prejudicadas pela degenerescência das proteínas e do tecido neural do neuroepitélio olfactivo que ocorre desde as primeiras horas após o falecimento.^{37,41,42} O estudo de Nibu et al utilizou marcadores imunológicos mas só foram utilizados espécimes de dois indivíduos e as colheitas foram realizadas menos de 24 horas após o falecimento, condição essa que é difícil de ser cumprida na maior parte das colheitas realizadas no cadáver.

Por todas estas razões e até à data actual, a microscopia óptica convencional é a técnica mais adequada para a identificação da mucosa olfactiva nos espécimes cadavéricos. A diferenciação entre a mucosa olfactiva e a mucosa respiratória, pela microscopia óptica, foi sistematizada por Robert Kern em 2000.⁴³ De acordo com este autor, os critérios para diferenciar a mucosa olfactiva da mucosa respiratória pela microscopia óptica são os seguintes: ambas as mucosas (olfactiva e respiratória) são constituídas por epitélio pseudoestratificado; a mucosa olfactiva tem cílios irregulares, não tem células calciformes, tem a membrana basal fina e a lâmina própria é celular e com feixes nervosos grandes e numerosos; a mucosa respiratória tem cílios regulares, células calciformes numerosas, a membrana basal é espessa e a lâmina própria é vascular e tem raros feixes nervosos.

Como enunciado por Paik et al, a identificação da mucosa olfactiva normal deve ser ainda realizada pela identifica-



Figuras 3a e 3b - Imagem original de microscopia óptica do neuroepitélio olfactivo (amostra de cadáver, Tricómico de Masson, ampliação original de 100X). a) As glândulas de Bowman são esféricas, contidas por células serosas dispostas à volta de um lúmen central (porção alveolar) a) e b) as glândulas de Bowman atravessam em seguida o neuroepitélio olfactivo (porção tubular), vindo abrir num orifício localizado na sua superfície (setas = porção alveolar da glândulas de Bowman).

ção positiva das células bipolares, que pode ser verificada pela observação da vesícula olfactiva e a identificação da mucosa respiratória deve ser realizada pela identificação dos cílios longos, regulares e uniformemente distribuídos na superfície epitelial das células.³⁷

Objectivos do estudo

O objectivo deste trabalho é o de avaliar a distribuição da mucosa olfactiva humana nas fossas nasais, a partir do estudo histológico por microscopia óptica de peças anatómicas da região olfactiva obtidas do cadáver.

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção das peças anatómicas

As peças anatómicas da região olfactiva foram seleccionadas no banco de órgãos olfactivos humanos da Unidade Funcional de Neuropatologia do Hospital de Egas Moniz. Os estudos patológicos foram realizados na Unidade de Microcirurgia do Centro Hospitalar de Lisboa Ocidental.

As peças foram recolhidas durante a autópsia clínica ou médico-legal realizada em cadáveres recentes. A colheita das peças foi precedida de todas as autorizações institucionais necessárias, no cumprimento da legislação existente à data da sua realização e o estudo subsequente foi realizado após aprovação da Comissão de Ética do Centro Hospitalar de Lisboa Ocidental. A maioria das peças foi obtida por Carlos Lima no período de tempo entre 1987 e 1994.

A técnica utilizada para a colheita das peças anatómicas da região olfactiva foi a seguinte: abordagem intracraniana. A face superior do andar anterior da base do crânio foi exposta após craniotomia e remoção do encéfalo e da dura-máter e secção dos bulbos olfactivos. A peça incluiu a base do crânio e as estruturas nasais incluídas nas seguintes linhas de corte, realizadas com serras circulares: anteriormente, o corte foi realizado adiante do limite anterior da lâmina crivosa e da apófise crista gali; posteriormente, o corte foi realizado imediatamente atrás do limite posterior da lâmina crivosa no limite anterior do planum esfenoidal; lateralmente, os cortes foram realizados um centímetro para fora do limite lateral da lâmina crivosa, de forma a incluir na peça toda a inserção dos cornetos médio e superior na base do crânio.

As peças foram fixadas numa solução tamponada de aldeído fórmico a 10% e depois colocadas durante 24 horas numa solução descalcificante. Depois de desidratadas foram incluídas em parafina e guardadas. Além do arquivo constituído pelos blocos parafinados com as peças anatómicas, o banco de peças anatómicas possui ainda um registo das características dos doadores, com os respectivos dados demográficos e história clínica disponível.

Seleção das peças anatómicas

Numa primeira fase, consultaram-se os registos das características clínicas dos doadores das peças anatómicas, de forma a excluir todos aqueles em que se conhecessem afecções indutoras de alterações patológicas do neuroepitélio olfactivo. Os motivos de exclusão foram os seguintes:

perturbação conhecida do olfacto, rinite e rinosinusite, traumatismo nasal ou craniano, tumores ou cirurgias nasais, doenças neurovegetativas e idade superior a 50 anos.⁴⁴⁻⁴⁷ O critério de exclusão baseado na idade baseou-se no pressuposto e nas evidências estabelecidas de que a mucosa olfactiva é gradualmente substituída por mucosa respiratória ao longo da idade.^{1,37,48,49}

Processamento e observação das lâminas

Os blocos parafinados foram cortados em três localizações diferentes: na porção mais anterior; na porção média; e na porção mais posterior da peça. Todos os cortes tinham 3µm de espessura e foram realizados no sentido transversal do comprimento do bloco, tendo as lâminas sido coradas pela Hematoxilina-Eosina (H&E) e pelo Tricómico de Masson (TM).

As lâminas foram observadas utilizando-se um microscópio de microscopia óptica Olympus®, modelo CX40, com ampliações de 40X, 100X, 200X, 400X e 600X. Para o registo das imagens utilizou-se um microscópio Meiji®, modelo MX5300H, com uma câmara digital acoplada Deltapix® modelo Infinity X com o software Deltapix Viewer Profissional 1.7.

A primeira observação das lâminas, realizada em pequena ampliação (ampliação de 40X) destinou-se a comprovar a correcta orientação dos cortes e a integridade da peça. Foi ainda avaliada a qualidade da técnica histológica, se necessário com ampliações superiores. Todos os três cortes de cada peça anatómica foram observados.

Foram seleccionadas as lâminas que permitiram a identificação positiva da região olfactiva bilateralmente, pelo menos numa extensão de 10 a 15 mm abaixo da lâmina crivosa. A identificação da região olfactiva baseou-se na visualização dos seus acidentes anatómicos mais importantes: lâmina crivosa; septo nasal; e corneto médio ou superior. A qualidade da técnica histológica foi verificada por parâmetros como a agregação da cromatina, a redução do volume celular, a perda de contacto inter-celular e a perda de resolução tissular no microscópio.⁵⁰

Análise histológica e morfométrica da região olfactiva

A mucosa das duas regiões olfactivas (direita e esquerda) de cada lâmina foi observada microscopicamente em toda a sua extensão, e caracterizada como olfactiva ou respiratória, de acordo com os critérios anteriormente enunciados. Os critérios prevaletentes na diferenciação entre a mucosa olfactiva e a respiratória foram: a identificação dos cílios irregulares ou da extremidade dendrítica (vesícula olfactiva) das células bipolares, para a mucosa olfactiva; e a observação dos cílios de distribuição uniforme na superfície epitelial das células, para a mucosa respiratória.

Em cada observação foi determinada e registada a distância entre a lâmina crivosa e o limite inferior da mucosa olfactiva - transição da mucosa olfactiva para a mucosa respiratória (Fig. 4) nas duas paredes: medial (septo nasal) e lateral (corneto médio ou superior). As medições foram realizadas com o auxílio de uma escala milimétrica colo-

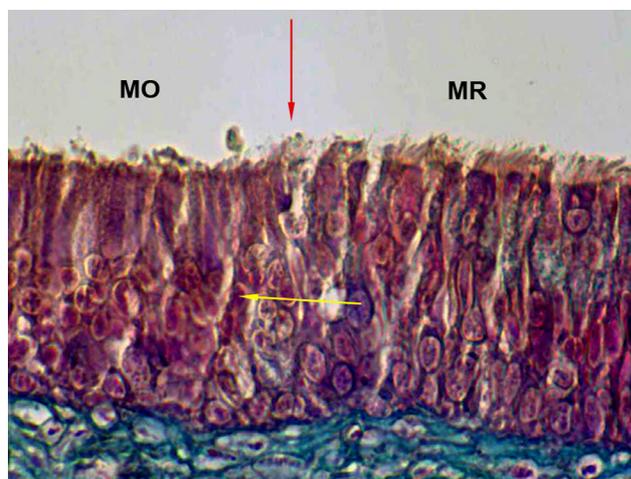


Figura 4 - Imagem original de microscopia óptica da mucosa da região olfactiva (amostra de cadáver, Tricrómico de Masson, ampliação original de 400X). Observa-se neste caso uma transição nítida entre a mucosa olfactiva e a mucosa respiratória (seta vermelha). O epitélio olfactiva é identificável pela sua característica distintiva mais importante, a presença de cílios irregulares e vesículas dendríticas, contrastando com o epitélio respiratório, que apresenta maior densidade de cílios uniformes e paralelos. Outro aspecto muito característico na diferenciação entre a mucosa olfactiva e a mucosa respiratória é a membrana basal, muito espessa na mucosa respiratória (barra amarela) e fina na mucosa olfactiva (seta amarela) (MO = mucosa olfactiva; MR = mucosa respiratória).

cada sobre a lâmina em baixa ampliação.

Deve ser mencionado que os diferentes passos do processamento histológico dos tecidos, em particular a parafinação, reduzem as dimensões que os mesmos apresentam *in vivo*.⁵⁰⁻⁵² No que diz respeito ao processamento da região olfactiva, a magnitude dessa redução já foi estimada em cerca de 30% por outros autores³⁷ pelo que o possível erro do nosso estudo será o de estimar a região olfactiva por defeito, o que é mais seguro quando os resultados do estudo se destinam a prever a localização mais correcta para a obtenção de tecido olfactivo no indivíduo vivo.

Imagens utilizadas

Todas as imagens utilizadas no trabalho foram obtidas e preparadas especificamente para o fim em questão a partir dos espécimens existentes no banco de peças anatómicas humanas mencionado.

RESULTADOS

Seleção das peças anatómicas e identificação positiva da região olfactiva

Das 230 peças anatómicas recenseadas, seleccionaram-se 52. Os motivos de exclusão das restantes 178 peças estão indicados na Tabela 1. Estão indicadas na linha correspondente à exclusão pelo critério da idade as peças que não tinham sido excluídas pelos outros critérios.

Das 52 peças anatómicas seleccionadas, cortadas e coradas, foram ainda excluídas 39 após a observação das lâminas em baixa ampliação e a repetição dos cortes para reconfirmação dos critérios de exclusão. Os resultados de-

Tabela 1 - Peças excluídas por motivos clínicos e técnicos.

Inexistência de dados demográficos ou clínicos	18
Infecções generalizadas do SNC (inclui HIV)	86
Doenças neurodegenerativas	40
Idade superior a 50 anos	21
Rinite ou sinusite	13
Peça de dimensão insuficiente	18
Corte incorrecto	16
Técnica histológica incorrecta	5
Total	217

sta fase do estudo estão indicados no quadro correspondente (Tabela 1). No final foram seleccionadas 13 peças anatómicas consideradas adequadas para o mapeamento da mucosa olfactiva em cortes histológicos seriados.

Análise histológico-morfométrica da região olfactiva

A Tabela 2 resume o conjunto de todas as observações e determinações realizadas, estando indicados o sexo e a idade do indivíduo a que correspondia o espécimen avaliado. Foram registadas separadamente as determinações realizadas na parede medial e na parede lateral. Foram feitas duas determinações por lâmina em cada uma das paredes, uma vez que a mesma lâmina incluía as regiões olfactivas de ambas as fossas nasais.

Em 59% das determinações realizadas na parede septal e em 62% das determinações realizadas na parede turbinal da região olfactiva, o limite da peça observável na lâmina era constituído por mucosa olfactiva e portanto não incluía a transição da mucosa olfactiva para a mucosa respiratória. Nesses casos registou-se o limite máximo da mucosa olfactiva incluído na peça e assinalou-se essa medição pelo respectivo valor precedido do sinal \geq .

Em 13% das determinações realizadas na parede septal e em 18% das determinações realizadas na parede turbinal da região olfactiva observaram-se alterações da mucosa, e em particular do epitélio, que não permitiram uma identificação conclusiva da mucosa de revestimento. Esses casos estão assinalados no quadro por uma célula vazia (*missing value*). Para os cálculos dos valores médios da distribuição da mucosa olfactiva foram usadas as determinações reais da verificação histológica da transição entre a mucosa olfactiva e a respiratória, nos casos em que foi possível, e o limite observável da peça que incluía mucosa olfactiva, nos restantes casos.

O limite inferior da mucosa olfactiva no septo nasal, determinado histologicamente a partir da posição da lâmina crivosa, foi encontrado em média a $15,9 \pm 3,2$ mm na porção mais anterior da região olfactiva, a $15,3 \pm 3$ mm na porção média da região olfactiva e a $16 \pm 2,8$ mm na porção mais posterior da região olfactiva. O valor mínimo observado na distância entre a base do crânio e a transição da mucosa olfactiva para a mucosa respiratória (12 mm) só foi registado em quatro observações (5% das determinações).

O limite inferior da mucosa olfactiva nos cornetos mé-

Tabela 2 - Distância entre a lâmina crivosa e o limite inferior da mucosa olfactiva

Sexo e idade	Parede medial da região (septo nasal)						Parede lateral da região (cornetos)					
	Região anterior		Região média		Região posterior		Região anterior		Região média		Região posterior	
M 29	≥ 13	≥ 13	14	≥ 15	13	≥ 17	≥ 16	≥ 13	≥ 12	≥ 15	≥ 11	≥ 9
M 45	-	-	≥ 14	≥ 14	17	15	≥ 14	≥ 16	≥ 14	≥ 13	≥ 12	≥ 11
M 27	≥ 21	≥ 21	≥ 17	-	≥ 17	≥ 17	≥ 16	≥ 17	-	≥ 14		≥ 14
M 42	≥ 13	12	≥ 11	≥ 11	≥ 16	≥ 16	-	12	14	13	≥ 12	≥ 10
M 27	≥ 21	20	17	≥ 18	≥ 13	≥ 13	≥ 14	≥ 13	17	≥ 16	-	-
M 39	13	16	-	-	12	≥ 14	15	≥ 16	-	≥ 13	12	-
F 37	15	≥ 16	≥ 18	17	≥ 17	15	≥ 14	≥ 16	≥ 15	≥ 14	≥ 11	≥ 13
M 26	19	≥ 21	≥ 20	16	≥ 18	≥ 18	19	≥ 17	≥ 17	16	≥ 12	≥ 14
F 18	-	≥ 12	-	12	≥ 12	≥ 12	≥ 13	-	15	-	-	≥ 12
M 38	≥ 13	≥ 13	≥ 11	-	≥ 18	14	15	≥ 13	-	≥ 11	≥ 18	14
M 39	≥ 16	15	12	≥ 13	-	-	-	15	12	15	≥ 12	-
M 29	≥ 14	≥ 14	≥ 16	≥ 16	≥ 18	17	≥ 18	≥ 22	≥ 14	≥ 16	-	≥ 11
M 28	16	≥ 18	≥ 21	19	≥ 22	≥ 22	≥ 12	16	≥ 21	19	≥ 13	≥ 13
n:	23		21		24		23		22		19	
Média e desvio-padrão:	15,9 ± 3,2		15,3 ± 3		16 ± 2,8		15,3 ± 2,4		14,8 ± 2,3		12,3 ± 1,9	
Mínimo:	12		≥ 11		12		12		≥ 11		≥ 9	
Máximo:	≥ 21		≥ 21		≥ 22		≥ 22		≥ 21		≥ 18	

dio e superior, determinado histologicamente a partir da posição da lâmina crivosa, foi encontrado em média a 15,3 ± 2,4 mm na porção mais anterior da região olfactiva, a 14,8 ± 2,3 mm na porção média da região olfactiva e a 12,3 ± 1,9 mm na porção mais posterior da região olfactiva.

DISCUSSÃO

Resumo geral dos resultados

Os estudos histológicos e morfométricos realizados demonstram que a extensão da mucosa olfactiva na região olfactiva das fossas nasais é a seguinte: na parede medial o limite inferior da mucosa olfactiva no septo nasal foi encontrado a 15,9 ± 3,2 mm, 15,3 ± 3 mm e 16 ± 2,8 mm da base do crânio e na parede lateral o limite inferior da mucosa olfactiva foi encontrado a 15,3 ± 2,4 mm, 14,8 ± 2,3 mm e 12,3 ± 1,9 mm da base do crânio, respectivamente na porção anterior, média e posterior da região olfactiva.

Estes valores demonstram que a mucosa olfactiva se estende a um nível inferior ao do plano definido pela posição do ósteo esfenoidal, uma vez que esta estrutura está situada a 10,3 ± 4,3 mm da base do crânio.⁵³

Limitações do estudo

Apesar do desenho do estudo, ao utilizar peças anatómicas de cadáver, ter pretendido ultrapassar as limitações já antecipadas por outros autores,³⁶ registaram-se algumas dificuldades.

Um percentagem significativa das peças anatómicas não pôde ser utilizada: ou pela existência de patologias indutoras de alterações patológicas da mucosa olfactiva ou por razões técnicas: dificuldade de obter cortes com orientação anatómica ajustada ao propósito do estudo e diminuição da qualidade histológica em algumas preparações.

Em alguns casos a colheita não preservou a parte infe-

rior da região olfactiva. Isso deveu-se à técnica de colheita das peças anatómicas, que não incluiu a secção transnasal da base do septo, passo que já foi proposto por outros autores para a remoção do órgão olfactivo humano completo.^{35,54} Refira-se todavia que a constituição do banco de peças anatómicas precedeu a publicação dos trabalhos atrás mencionados.

Por último, os valores do nosso estudo estão ainda subavaliados pela não aplicação, por nós assumida, do factor de correcção resultante da necessidade de compensar os efeitos do processamento histológico dos tecidos quando se realizam estudos morfométricos.³⁷

Comparação dos resultados obtidos com os de outros estudos

Como já foi mencionado, estudos pioneiros com mais de 100 anos e muitas investigações mais recentes, realizadas em particular nas últimas décadas, descreveram a área da mucosa olfactiva como estendendo-se inferiormente ao plano do ósteo do seio esfenoidal e distribuindo-se em regiões mais inferiores e anteriores do que o previamente estabelecido, incluindo áreas mais inferiores do corneto médio, áreas do septo nasal confrontante e mesmo áreas do septo nasal localizadas adiante da inserção anterior do corneto médio.^{3,16,18,28,30-35,37,55-60} Os resultados por nós apresentados confirmam as indicações que esses estudos faziam pressupor.

Aplicação clínica dos resultados do estudo

A biópsia das fossas nasais tem vindo a ser utilizada cada vez mais como um meio de obter tecido olfactivo com propósitos diagnósticos ou para a colheita de células estaminais neurais multipotentes. O conhecimento da distribuição exacta da mucosa olfactiva nas fossas nasais facilitará

a aplicação clínica das técnicas que implicam o recurso à biópsia e colheita deste tecido.¹

CONCLUSÃO

Os resultados deste estudo confirmaram a presença de mucosa olfactiva numa área da região olfactiva bem identificada, e que pode ser reconhecida a partir de medições ou da utilização de referências cirúrgicas identificáveis endoscopicamente, como o ósteo do seio esfenoidal.

AGRADECIMENTOS

A Carlos Lima (1955-2012) agradeço as facilidades concedidas na utilização das peças anatómicas humanas

REFERÊNCIAS

- Escada PA, Lima C, Madeira da Silva J. The human olfactory mucosa. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 2009;266:1675-80.
- Morrison EE, Costanzo RM. Morphology of the human olfactory epithelium. *J Comp Neurol.* 1990;297:1-13.
- Moran DT, Rowley JC 3rd, Jafek BW, Lovell MA. The fine structure of the olfactory mucosa in man. *J Neurocytol.* 1982;11:721-46.
- Nickell WT. Basic anatomy and physiology of olfaction. In: Seiden AM, editor. *Taste and smell disorders.* New York: Thieme; 1997. p.20-37.
- Moran DT, Rowley JC 3rd, Jafek BW. Electron microscopy of human olfactory epithelium reveals a new cell type: the microvillar cell. *Brain Res.* 1982;253:39-46.
- Calof AL, Chikaraishi DM. Analysis of neurogenesis in a mammalian neuroepithelium: proliferation and differentiation of an olfactory neuron precursor in vitro. *Neuron.* 1989;3:115-27.
- Hahn CG, Han LY, Rawson NE, Mirza N, Borgmann-Winter K, Lenox RH, et al. In vivo and in vitro neurogenesis in human olfactory epithelium. *J Comp Neurol.* 2005;483:154-63.
- Murrell W, Feron F, Wetzig A, Cameron AJ, Splatt K, Bellette B, et al. Multipotent stem cells from adult olfactory mucosa. *Dev Dyn.* 2005;233:496-515.
- Chen X, Fang H, Schwob JE. Multipotency of purified, transplanted globose basal cells in olfactory epithelium. *J Comp Neurol.* 2004;469:457-74.
- Roisen FJ, Klueber KM, Lu CL, Hatcher LM, Dozier A, Shields CB, et al. Adult human olfactory stem cells. *Brain Res.* 2001;890:11-22.
- Carter LA, MacDonald JL, Roskams AJ. Olfactory horizontal basal cells demonstrate a conserved multipotent progenitor phenotype. *J Neurosci.* 2004;24:5670-83.
- Menco BP, Morrison EE. Morphology of the mammalian olfactory epithelium: form, fine structure, function and pathology. In: Doty RL, editor. *Handbook of olfaction and gustation.* New York: Marcel Dekker; 2003. p.17-49.
- Bartolomei JC, Greer CA. Olfactory ensheathing cells: bridging the gap in spinal cord injury. *Neurosurgery.* 2000;47:1057-69.
- Moulton DG, Beidler LM. Structure and function in the peripheral olfactory system. *Physiol Rev.* 1967;47:1-52.
- Escada P, Madeira da Silva J. Anatomia endoscópica e relevância cirúrgica da região olfactiva. *Clin Invest Otorrinolaringol.* 2008;2:256-67.
- Jafek BW, Murrow B, Michaels R, Restrepo D, Linschoten M. Biopsies of human olfactory epithelium. *Chem Senses.* 2002;27:623-8.
- Lima C, Escada P, Pratas-Vital J, Branco C, Arcangeli CA, Lazzeri G, et al. Olfactory mucosal autografts and rehabilitation for chronic traumatic spinal cord injury. *Neurorehabil Neural Repair.* 2010;24:10-22.
- Lima C, Pratas-Vital J, Escada P, Hasse-Ferreira A, Capucho C, Peduzzi JD. Olfactory mucosa autografts in human spinal cord injury: a pilot clinical study. *J Spinal Cord Med.* 2006;29:191-203.
- Lima C, Vital JP, Escada P, Ferreira AH, Capucho C, Peduzzi J. Cellular therapies for human spinal cord injury: The olfactory mucosa autograft experience "ongoing clinical trial". *Eur J Neurol.* 2005;12(Suppl. 2): 34.
- Escada P, Capucho C, Lima C, Pratas Vital J, Madeira da Silva J. Transplantes autólogos de mucosa olfactiva em doentes traumatizados da medula espinal. *Clin Invest Otorrinolaringol.* 2007;1:128-38.
- Carvalho AV, Lima C, Basto V, Cunha C, Escada P, Cruz H, et al. Adult human neural stem/progenitor cells from the olfactory epithelium and olfactory lamina propria, isolation method, proliferation and differentiation in serum free culture medium and utilization for transplantation. Patente WO/020611, 2007.
- Escada P. Autotransplantação de células estaminais olfactivas no tratamento das lesões traumáticas crónicas da medula espinal. Estudos da região olfactiva e da sua mucosa: Departamento de Otorrinolaringologia. Lisboa: Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Nova de Lisboa; 2010.
- Lima C, Pratas-Vital J, Escada P, Hasse-Ferreira A, Peduzzi JD. Olfactory mucosa autografts in human spinal cord injury: from rats to humans. 2004 International Campaign for cures of spinal cord injury paralysis: spinal cord injury clinical trials workshop. Vancouver, Canadá; 2004.
- Escada PA, Lima C, da Silva JM. The human olfactory mucosa. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 2009;266:1675-80.
- Lima C, Escada P, Pratas-Vital J, Branco C, Arcangeli CA, Lazzeri G, et al. Olfactory mucosal autografts and rehabilitation for chronic traumatic spinal cord injury. *Neurorehabilitation Neural Repair.* 2010;24:10-22.
- Lima C, Pratas-Vital J, Escada P, Hasse-Ferreira A, Capucho C, Peduzzi JD. Olfactory mucosa autografts in human spinal cord injury: a pilot clinical study. *J Spinal Cord Med.* 2006;29:191-203.
- Granger N, Blamires H, Franklin RJ, Jeffery ND. Autologous olfactory mucosal cell transplants in clinical spinal cord injury: a randomized double-blinded trial in a canine translational model. *Brain.* 2012;135:3227-37.
- von Brunn A. Beiträge zur mikroskopischen Anatomie der menschlichen Nasenhöhle. *Arch Mikr Anat.* 1892;39:632-51.
- Lang J. Clinical anatomy of the nose, nasal cavity and paranasal sinuses. New York: Thieme Medical Publishers;1989.
- Leopold DA, Hummel T, Schwob JE, Hong SC, Knecht M, Kobal G. Anterior distribution of human olfactory epithelium. *Laryngoscope.* 2000;110:417-21.
- Restrepo D, Okada Y, Teeter JH, Lowry LD, Cowart B, Brand JG. Human olfactory neurons respond to odor stimuli with an increase in cytoplasmic Ca²⁺. *Biophys J.* 1993;64:1961-6.
- Feron F, Perry C, McGrath JJ, Mackay-Sim A. New techniques for biopsy and culture of human olfactory epithelial neurons. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 1998;124:861-6.
- Rawson NE, Brand JG, Cowart BJ, Lowry LD, Pribitkin EA, Rao VM, et al. Functionally mature olfactory neurons from two anosmic patients with Kallmann syndrome. *Brain Res.* 1995;681:58-64.
- Rawson NE, Gomez G, Cowart B, Brand JG, Lowry LD, Pribitkin EA, et al. Selectivity and response characteristics of human olfactory neurons. *J Neurophysiol.* 1997;77:1606-13.
- Nibu K, Li G, Zhang X, Rawson NE, Restrepo D, Kaga K, et al. Olfactory neuron-specific expression of NeuroD in mouse and human nasal mucosa. *Cell Tissue Res.* 1999;298:405-14.
- Lanza DC, Deems DA, Doty RL, Moran D, Crawford D, Rowley JC, 3rd, et al. The effect of human olfactory biopsy on olfaction: a preliminary report. *Laryngoscope.* 1994;104:837-40.
- Paik SI, Lehman MN, Seiden AM, Duncan HJ, Smith DV. Human olfactory biopsy. The influence of age and receptor distribution. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 1992;118:731-8.
- Jafek BW, Johnson EW, Eller PM, Murrow B. Olfactory mucosal biopsy and related histology. In: Seiden AM, editors. *Taste and smell disorders.* New York: Thieme; 1997. p.107-27.
- Hempstead JL, Morgan JI. A panel of monoclonal antibodies to the rat

- olfactory epithelium. *J Neurosci*. 1985;5:438-49.
40. Nakashima T, Kimmelman CP, Snow JB, Jr. Olfactory marker protein in the human olfactory pathway. *Arch Otolaryngol*. 1985;111:294-7.
 41. Jafek BW. Ultrastructure of human nasal mucosa. *Laryngoscope*. 1983;93:1576-99.
 42. Graziadei PP. Cell dynamics in the olfactory mucosa. *Tissue Cell*. 1973;5:113-31.
 43. Kern RC. Chronic sinusitis and anosmia: pathologic changes in the olfactory mucosa. *Laryngoscope*. 2000;110:1071-7.
 44. Doty RL, Mishra A. Olfaction and its alteration by nasal obstruction, rhinitis, and rhinosinusitis. *Laryngoscope*. 2001;111:409-23.
 45. Doty RL. Olfactory dysfunction in neurodegenerative disorders. In: Getchell TV, Doty RL, Bartoshuk LM, Snow JB, editors. *Smell and taste in Health and disease*. New York: Raven Press; 1991. p.735-51.
 46. Seiden AM. Olfactory loss secondary to nasal and sinus pathology. In: Seiden AM, editor. *Taste and smell disorders*. New York: Thieme; 1997.p.52-71.
 47. Jafek BW, Eller PM, Jonhson EW, Linschoten MR, Sheikali S. Hystopathology of olfactory mucosa. In: McCaffrey TV, editor. *Rhinologic diagnosis and treatment*. New York: Thieme; 1997.p.1-28.
 48. Robinson AM, Conley DB, Shinnars MJ, Kern RC. Apoptosis in the aging olfactory epithelium. *Laryngoscope*. 2002;112:1431-5.
 49. Doty RL, Shaman P, Applebaum SL, Giberson R, Siksorski L, Rosenberg L. Smell identification ability: changes with age. *Science*. 1984;226:1441-3.
 50. Uraih LC, Maronpot RR. Normal histology of the nasal cavity and application of special techniques. *Environ Health Perspect*. 1990;85:187-208.
 51. McLean M, Prothero JW. Three-dimensional reconstruction from serial sections. V. Calibration of dimensional changes incurred during tissue preparation and data processing. *Anal Quant Cytol Histol*. 1991;13:269-78.
 52. Deneff JF, Cordier AC, Mesquita M, Haumont S. The influence of fixation procedure, embedding medium and section thickness on morphometric data in thyroid gland. *Histochemistry*. 1979;63:163-71.
 53. Kim HU, Kim SS, Kang SS, Chung IH, Lee JG, Yoon JH. Surgical anatomy of the natural ostium of the sphenoid sinus. *Laryngoscope*. 2001;111:1599-602.
 54. Nibu K, Sasaki T, Kawahara N, Sugawara M, Nakatsuka T, Yamada A. Complications of craniofacial surgery for tumors involving the anterior cranial base. *Neurosurgery*. 1998;42:455-61.
 55. Thurauf N, Gjuric M, Kobal G, Hatt H. Cyclic nucleotide-gated channels in identified human olfactory receptor neurons. *Eur J Neurosci*. 1996;8:2080-9.
 56. Gomez G, Rawson NE, Hahn CG, Michaels R, Restrepo D. Characteristics of odorant elicited calcium changes in cultured human olfactory neurons. *J Neurosci Res*. 2000;62:737-49.
 57. Bianco JI, Perry C, Harkin DG, Mackay-Sim A, Feron F. Neurotrophin 3 promotes purification and proliferation of olfactory ensheathing cells from human nose. *Glia*. 2004;45:111-23.
 58. Choi D, Li D, Law S, Powell M, Raisman G. A prospective observational study of the yield of olfactory ensheathing cells cultured from biopsies of septal nasal mucosa. *Neurosurgery*. 2008;62:1140-4.
 59. Rawson NE, Gomez G. Cell and molecular biology of human olfaction. *Microsc Res Tech*. 2002;58:142-51.
 60. Lane AP, Gomez G, Dankulich T, Wang H, Bolger WE, Rawson NE. The superior turbinate as a source of functional human olfactory receptor neurons. *Laryngoscope*. 2002;112:1183-9.