

Influências Genéticas na Otite Média

Margaretha Casselbrant

É bastante provável que a genética da otite média seja complexa e que envolva pelo menos diversos *loci* que contribuam para o fenótipo como um todo. Além disso, a complexidade na análise da participação genética na otite média pode resultar da heterogeneidade entre diversas populações.

Os estudos epidemiológicos como os estudos populacionais, os de adoção, os de agregação familiar e os estudos envolvendo gêmeos e trigêmeos indicaram que deve haver um componente genético.

Iniciamos um estudo com gêmeos e trigêmeos há algum tempo. Hoje, algumas das crianças incluídas no estudo já estariam em idade para ingressar na Universidade. Foram realizados três estudos com gêmeos e trigêmeos. O primeiro foi publicado por Kvaerner da Noruega, que fez um estudo retrospectivo com 2.750 pares de gêmeos e verificou que a herdabilidade estimada era de 0,74 para o sexo feminino e 0,45 para o sexo masculino ¹. Nosso estudo em Pittsburgh foi prospectivo, com 168 pares de gêmeos e trigêmeos, os quais acompanhamos do nascimento até cinco anos de idade ². Verificamos que a herdabilidade estimada era de 0,79 para o sexo feminino e 0,64 para o sexo masculino. O último é o estudo de Rovers na Holanda, que também foi um estudo prospectivo ³. Incluíram 1.373 pares de gêmeos e determinaram que a herdabilidade estimada era de 0,4 a 0,71 para o sexo feminino e para o sexo masculino, respectivamente, dependendo da idade em que as crianças eram examinadas.

O componente genético forte encontrado nestes estudos de otite média recorrente e persistente sugeriu que seria possível identificar um ou mais genes que contribuem para a susceptibilidade frente à doença. **Os possíveis genes candidatos que conferem susceptibilidade podem estar associados à função anatômica e fisiológica e à imunidade mucosa.**

A **pneumatização da mastóide** é mais similar nos gêmeos monozigóticos do que nos dizigóticos. Este é um estudo bastante antigo (Dahlberg, 1945), mas é difícil obter a aprovação do Comitê de Ética do Hospital para realizar radiografias em crianças saudáveis ⁴.

As **diferenças raciais na tuba auditiva (TA)** foram estudadas por Doyle 1997 ⁵ e Berry 1980 ⁶. As diferenças foram uma tuba mais curta e mais distendida nos índios americanos do que nos caucasianos, fato esse que está associado a uma incidência maior de doença crônica da orelha média.

Ainda relacionado aos **mecanismos anatômicos**, a dimensão do tecido mole e esquelético da **nasofaringe** é significativamente menor em crianças com otite média do que nos controles.

Quanto à **resposta imunológica** na inflamação da orelha média, temos a **imunidade inespecífica** com barreiras epiteliais e mucinas, temos a **imunidade inata** com receptores *toll-like*, a lectina ligadora de manose, as proteínas surfactantes e as citocinas. Temos ainda a **imunidade adaptativa** com o receptor Fc-gama e as imunoglobulinas. As barreiras epiteliais e as mucinas permitem que o material estranho seja englobado, e previnem a invasão. A viscosidade do muco é regulada pela produção de mucina, e foram identificados 20 genes ligados à mucina. Há estudos que mostram que os genes MUC5AC, MUC5B e MUC2 estão supra-regulados na otite média aguda e crônica ⁷.

Quanto à **imunidade inata**, os receptores *toll-like* (TLRs - *toll like receptors*) ativam a reação relacionada à expressão de genes pró-inflamatórios. Em comparação com o alelo 299G, o alelo TLR4 299A também está associado com a susceptibilidade à otite média aguda.

A **lectina ligadora de manose** (MBL -*mannose binding lectin*) opsoniza os patógenos, ativando assim a via do complemento. O **polimorfismo da MBL codifica os baixos níveis séricos** e, se houver uma representação excessiva da variante MBL2G54D no Exon 1, está associada com a otite média aguda recorrente.

São três as **proteínas surfactantes**: A, B e D. São produzidas pela célula epitelial na tuba auditiva e na orelha média, ativando a opsonização e a via do complemento. O *locus* humano SP-A está no cromossomo 10q22-q23 e tem dois genes funcionais, SP-A1 e SP-A2. Os estudos têm mostrado que a frequência dos haplótipos 6A4-1A5 na proteína surfactante A (SP-A) **está ligada à otite média aguda recorrente e à otite média precoce em crianças antes dos seis meses de idade** ⁸. Ela **está ligada também ao risco de asma em lactantes**.

As **citocinas** também podem ser estudadas. As citocinas fazem a mediação da resposta do hospedeiro a estímulos inflamatórios. Temos as **citocinas pró-inflamatórias**: TNF-alfa, IL-6 e interferon gama. Há também as **citocinas anti-inflamatórias**: TGF-beta e IL-10. Estudos têm demonstrado que o interferon gama no alelo A homozigoto 874 está associado ao aumento da incidência de otite média aguda em lactentes com infecção pelo vírus sincicial respiratório (VSR) ⁹. Os genótipos polimórficos TNF-alfa-308 e IL-6-174 estão associados a um risco maior para otite média e para colocação de tubo de timpanostomia. Os alelos TNF-alfa - 863, TNF-alfa-376G, IL-10-1082A e IL-6-174G também estão associados com susceptibilidade a otite média.

A **imunidade adaptativa** no receptor Fc-gama e as imunoglobulinas iniciam a resposta imunológica. A resposta imunológica contra o *S. pneumoniae* depende do anticorpo opsonizante, que demanda uma interpretação com o receptor FcγRIIIa-gama. Há dois tipos de receptor, histidina e arginina. Se você tiver um receptor Fc-gama que seja homozigoto para a histidina, há uma associação com um risco significativamente diminuído para otite média aguda recorrente depois da imunização com PC-7V (Prevenar® - vacina pneumocócica-7 valente) e com a PPV (vacina pneumocócica polissacáride), se comparado com o homozigoto para a arginina. A variante genética G2m(23) da cadeia de imunoglobulina também está relacionada à otite média aguda recorrente.

Há muitos estudos feitos em animais, mas vou mencionar apenas um. É o

modelo de camundongo mutante surdo chamado Jeff, e expressa um fenótipo que consiste em otite média proliferativa crônica e anomalias craniofaciais brandas¹⁰. Este modelo do camundongo Jeff carrega um mutante na região de um gene novo (Fbxo11), que está localizado no cromossomo distal 17 do camundongo (no homem, no cromossomo 2), expresso nas células secretoras de mucina da orelha média. O gene FBXO11 é o homólogo humano para o gene mutado no modelo Jeff. Isto foi avaliado em indivíduos no estudo familiar de Minnesota sobre otite média crônica e recorrente. Foi verificado que há evidências de uma associação entre o polimorfismo no gene e o aumento da otite média crônica e recorrente¹³.

"Genome-Wide Linkage Scans"

Foram realizados dois estudos: o primeiro foi feito por Daly em Minnesota, "Otite Média Crônica e Recorrente: Um *Genome Scan* para os *loci* de Susceptibilidade"¹² e outro foi feito em Pittsburgh, "*Genome-wide linkage scan* com evidência sobre os ***loci* de susceptibilidade dentro das regiões 17q12 e 10q22.3**"¹³. **O objetivo foi mapear os possíveis genes de susceptibilidade para otite média, usando a análise de *linkage*.**

O estudo de Daly incluiu 133 famílias com 692 pessoas e os indivíduos estudados tinham um histórico de colocação de tubo de timpanostomia. Seu método foi o de análise não paramétrica de *linkage*. Seu objetivo era um *genome scan* para os *loci* de susceptibilidade em pacientes com otite média crônica e recorrente. **Encontraram uma ligação com os cromossomos 10q 26.3 e 19q13.43.**

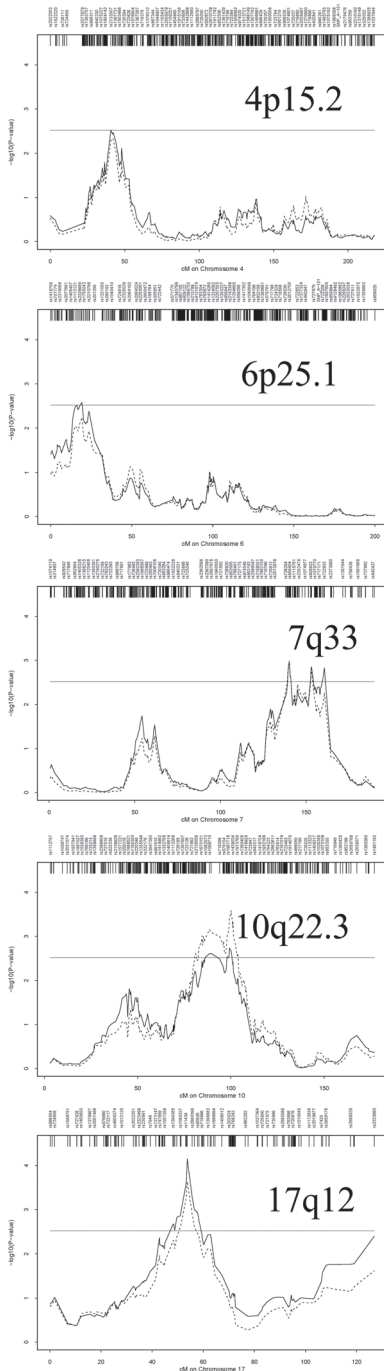
Sua conclusão foi que a **susceptibilidade genética a otite média é determinada, em parte, pela contribuição de genes em regiões cromossomais distintas: 10q e 19q.** Estas regiões contêm genes que estão envolvidos na resposta de defesa ou na modulação da resposta inflamatória. Contudo, permanecem sem solução os candidatos à posição "verdadeira", uma vez que as regiões continuam amplas e sem uma definição precisa.

Incluimos em nosso estudo irmãos, dois ou mais, saudáveis, exceto pelo histórico significativo de otite média, que haviam recebido tubos de timpanostomia². Também incluimos seus pais e irmão(s) sem histórico anterior de colocação de tubos de timpanostomia.

O nosso objetivo foi realizar o *genome-wide linkage scan* para os genes que influenciam a otite média. Nossos métodos incluíram o isolamento de DNA de alto peso molecular e o *genome-wide linkage scan* foi realizado usando um painel Affymetrix 10K SNP.

O nosso estudo incluiu 403 famílias caucasianas com 1.431 indivíduos genotipados com **377 pares de irmãos genotipados afetados**. Também tivemos 26 famílias afro-americanas com 75 indivíduos genotipados com **27 pares de irmãos acometidos**.

Usando a análise de *Linkage* baseada em Mendel encontramos cinco picos, mas focamos **o pico 10 e o pico 17, porque sabemos que há indícios de genes candidatos nestes cromossomos (Figura 1).**

Figura 1 . A análise de *linkage* baseada em Mendel.

A linha horizontal de referência indica um valor nominal de $p = 0.003$

Olhando no pico de *linkage* 17q12, a ponta ocorreu no complexo relacionado ao adaptador da proteína, que desempenha um papel na infra-regulação do CD8 mediado por Nef. **Sabemos que as crianças com otite média recorrente têm números baixos de células CD8 nas adenóides, produzindo interferon-gama. O gene CCL5 é conhecido como um gene RANTES que tem sido associado a otite média, sendo um químio-atraente do eosinófilo.**

Como um *genome-wide linkage scan* para genes que influenciam a otite média o pico de *linkage* está em 10q22.3¹⁵. Este número, está próximo da proteína A do surfactante humano (SFTPA2), que é expresso na tuba auditiva, desempenhando um papel na defesa inata do hospedeiro ao promover a supra-regulação da fagocitose de muitos patógenos envolvidos na otite média.

No *genome-wide linkage scan* para genes que influenciam a otite média, foram identificados dois fortes picos de *linkage* nos cromossomos 17 e 10, sendo que ambos contêm genes candidatos previamente implicados, que influenciam a otite média persistente e recorrente. Para um mapeamento mais detalhado são necessários estudos de replicação e estudos funcionais.

Conclusões

Uma vez identificados os genes de susceptibilidade à otite média, poderiam ser desenvolvidos testes de diagnóstico molecular para auxiliar na identificação da criança com risco para otite média. A identificação dos genes de susceptibilidade podem ainda permitir um entendimento melhor da patogênese da otite média, levando ao desenvolvimento de métodos melhores e mais inovadores para sua prevenção e tratamento.

Referências bibliográficas

1. Kvaerner KJ, Harris JR, Tambs K, Magnus P. Distribution and heritability of recurrent ear infections. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1997; 106:624-632.
2. Casselbrant ML, Mandel EM, Fall PA, et al. The heritability of otitis media: a twin and triplet study. *JAMA* 1999; 282:2125-2130.
3. Rovers M, Haggard M, Gannon M, Koeppen-Schomerus G, Plomin R. Heritability of symptom domains in otitis media: a longitudinal study of 1,373 twin pairs. *Am J Epidemiol* 2002; 155(10):958-964.
4. Dahlberg G, Diamant M. Hereditary character in the cellular system of the mastoid process. *Acta Otolaryngol (Stockh)*, 1945; 33:378-389.
5. Doyle WJ. A functional-anatomic description of eustachian tube vector relations in four ethnic populations: an osteologic study. In dissertation University of Pittsburgh, 1977.
6. Berry QC, Doyle WJ, Bluestone CD, Cantekin EI, Wiet RJ. Eustachian tube function in an American Indian population: Proceedings of the Second International Symposium: recent advances in otitis media. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1980; 89:28-33.
7. Kerschner JE, Meyer TK, Burrows A. Middle ear epithelial mucin gene expression in response to inflammatory cytokines. In: 8th International Symposium on Recent Advances in Otitis Media. Fort Lauderdale, FL, 3-7 June 2003 [Abstract A34].
8. Lofgren J, Ramet M, Renko M, et al. Association between surfactant protein A gene locus and severe respiratory syncytial virus infection in infants. *J Infect Dis* 2002; 185: 283-289.
9. Gentile DA, Doyle WJ, Zeevi A, et al. Cytokine gene polymorphisms moderate illness severity in infants with respiratory syncytial virus infection. *Human Immunol* 2003; 64:338-344.
10. Hardisty RE, Erven A, Logan K, et al. The deaf mouse mutant Jeff (Jf) is a single gene model of otitis media. *J Assoc Res Otolaryngol* 2003; 4:130-138.
11. Segade F, Daly KA, Allred D, Hicks P, Cox M, Brown M, Hardisty-Hughes RE, Brown SD, Rich SS, Bowden DW. Association of the FBXO11 gene with chronic otitis media with effusion and recurrent otitis media: the Minnesota COME/ROM Family Study. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2006; 132(7):729-733.
12. Daly KA, Brown WM, Segade F, Bowden DW, Kats BJ, Lindgren BR, Levine SC, Rich SS. Chronic and recurrent otitis media: a genome scan for susceptibility loci. *Am J Hum Genet* 2004; 75(6):988-997.
13. Casselbrant ML, Mandel EM, Jung J, Ferrell RE, Tekely K, Szatkiewicz JP, Ray A, Weeks DE. Otitis media: a genome-wide linkage scan with evidence of susceptibility loci within the 17q12 and 10q22.3 regions. *BMC Med Genet* 2009; 10:85.