

Universidade Federal do Rio Grande do Sul
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIÊNCIAS CIRÚRGICAS



**ASSOCIAÇÃO ENTRE DÉFICIT DE ELASTINA E RETRAÇÕES DA MEMBRANA
TIMPÂNICA: UM ESTUDO TRANSVERSAL E COMPARADO EM PACIENTES
PORTADORES DE SÍNDROME DE WILLIAMS**

MARCELO WIERZYNSKI DE OLIVEIRA

Orientador: Prof. Dr. Luiz Lavinsky

Dissertação de Mestrado

2013

Universidade Federal do Rio Grande do Sul
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIÊNCIAS CIRÚRGICAS



**ASSOCIAÇÃO ENTRE DÉFICIT DE ELASTINA E RETRAÇÕES DA MEMBRANA
TIMPÂNICA: UM ESTUDO TRANSVERSAL E COMPARADO EM PACIENTES
PORTADORES DE SÍNDROME DE WILLIAMS**

MARCELO WIERZYNSKI DE OLIVEIRA

Orientador: Prof. Dr. Luiz Lavinsky

Dissertação de Mestrado

2013

CIP - Catalogação na Publicação

Oliveira, Marcelo Wierzynski de
Alterações Otológicas em Pacientes com Síndrome de
Williams / Marcelo Wierzynski de Oliveira. -- 2013.
55 f.

Orientador: Luiz Lavinsky.
Coorientadora: Têmis Félix.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do
Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa
de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Cirúrgicas,
Porto Alegre, BR-RS, 2013.

1. síndrome de williams. 2. elastina. 3. membrana
timpânica. 4. retrações otológicas. 5. otite média
crônica. I. Lavinsky, Luiz, orient. II. Félix, Têmis,
coorient. III. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os
dados fornecidos pelo(a) autor(a).

AGRADECIMENTOS

A minha esposa Lílian Saldanha Paiva pelo amor, apoio e incentivo incondicional antes durante a após este estudo juntamente com meus filhos Manoela e Antônio que trazem alegria constante a nossa família.

A minha mãe Maria Elena Wierzynski, que na sua simplicidade sempre buscou o melhor para mim pelos estudos e ao meu irmão Felipe pela presença constante em minha vida.

Ao meu orientador, Professor Doutor Luiz Lavinsky, pelo referencial acadêmico e pelo seu cuidado minucioso desde a elaboração até a discussão final de cada resultado.

A coorientadora Têmis Maria Félix pela ajuda na busca de um modelo a ser pesquisado.

Ao colega Joel Lavinsky por sua voluntariedade na avaliação das otoscopias.

Aos professores da Faculdade de Medicina da Ufrgs, responsáveis pela minha formação médica.

Aos professores, médicos e demais integrantes do Serviço de Otorrinolaringologia do HCPA pela minha formação como Otorrinolaringologista bem como pela disponibilidade de realização deste estudo.

SUMÁRIO

1. LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	5
2. LISTA DE TABELAS.....	6
3. LISTA DE FIGURAS.....	7
4.	
APRESENTAÇÃO.....	8
5. REVISÃO DA LITERATURA.....	8
5.1. MEMBRANA TIMPÂNICA.....	8
5.1.1. Introdução.....	8
5.1.2. Anatomia.....	8
5.1.3. Histologia.....	10
5.1.3.1. A Camada Externa.....	10
5.1.3.2. Lamina Própria.....	10
5.1.3.3. A Camada Interna.....	11
5.1.3.4. Vasos Sanguíneos.....	11
5.1.3.5. Inervação.....	12
5.1.4. Retrações Timpânicas.....	12
5.1.4.1. Classificação das Retrações Timpânicas.....	14
5.1.4.2. O Papel da Elastina e as Alterações Histológicas nas Retrações Timpânicas.....	17
5.2. JUSTIFICATIVA.....	18
5.3. SÍNDROME DE WILLIAMS.....	19
5.3.1. Causas e Diagnóstico.....	19
5.3.2. Características Clínicas.....	21
5.3.2.1. Anormalidades Otorrinolaringológicas.....	24
5.3.2.1. Anormalidades Cardiovasculares.....	25
5.3.2.3. Anormalidades Endocrinológicas.....	26
5.3.2.4. Anormalidades Neurológicas e do desenvolvimento.....	27
5.3.3. Base Genética da Síndrome de Williams.....	28
6. OBJETIVO.....	35
7. HIPÓTESE OPERACIONAL.....	35
8. ARTIGO EM INGLÊS.....	36
9. VERSÃO DO ARTIGO EM PORTUGUÊS.....	54
10. ANEXOS.....	71

1. LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

MT – membrana timpânica

SW – Síndrome de Williams

ELN – Elastina

FISH – hibridização por fluorescência in situ

PCR – reação em cadeia da polimerase

QI – quociente de inteligência

OEAT – otoemissões acústicas transitórias

HCPA – Hospital de Clínicas de Porto Alegre

ABSW – Associação Brasileira de Síndrome de Williams

DVD – Digital Versatile Disc

FZD9 – frizzled 9 gene

BAZ1B – bromodomain adjacent to zinc-finger domain protein 1B gene

STX1A – syntaxin 1A gene

LIMK1 – Lim domain kinase

CLIP2 – CAP-GLY domain containing linker protein 2 gene

GTF21 – general transcription factor II-I gene

NCF1 – neutrophil cytosolic factor 1 gene

CNPQ – Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

2. LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Estadiamento das retrações da *pars tensa* da membrana timpânica

Tabela 2. Estadiamento das retrações da *pars fláccida* da membrana timpânica

Tabela 3. Características comuns da Síndrome de Williams de acordo com os sistemas

Tabela 4. Genes humanos hemizigotos em pacientes com síndrome de Williams-Beuren com efeito no fenótipo

3. LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Membrana timpânica humana normal.

Figura 2. Orientação das fibras na *pars tensa* da membrana timpânica (Lim 1995).

Figura 3. Estadiamento da *pars tensa* da MT. Sadé (1997)

Figura 4. Estadiamento das retrações da *pars flaccida* da MT. Tós (1990)

Figura 5. Hibridização por fluorescência in situ (FISH) em paciente com síndrome de Williams

Figura 6. Características faciais da síndrome de Williams

Figura 7. Pacientes portadores de síndrome de Williams

4. APRESENTAÇÃO

O seguinte trabalho segue a linha de pesquisa de Reaeração da Orelha, Média uma das quatro linhas de pesquisa do Grupo de Pesquisa em Otologia e Otoneurologia, implantado no Serviço de Otorrinolaringologia do HCPA em 1991 pelo Prof. Dr. Luiz Lavinsky e integrante do diretório do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ).

5. REVISÃO DA LITERATURA

5.1. MEMBRANA TIMPÂNICA

5.1.1. INTRODUÇÃO

A membrana timpânica (MT) separa a orelha externa da orelha média. A MT age não só como proteção da orelha média, mas exerce função essencial na fisiologia da audição. Além disso, a MT oferece ao examinador a possibilidade de avaliar o status da orelha média, diretamente, se a MT é transparente ou indiretamente, quando a inspeção da MT oferece pistas sobre o status da orelha média. Nos casos de infecções ou inflamações da orelha média, a MT é afetada pelo alastramento da inflamação. Há evidências de que otites médias prévias podem predispor a retrações da MT mais tardiamente¹⁻³.

5.1.2 ANATOMIA

A MT é um diafragma em formato de cone suspenso entre o cabo do martelo e o sulco timpânico no osso temporal. Na maior parte da circunferência timpânica há um espessamento periférico chamado ânulo fibroso que se insere no sulco timpânico conferindo adesão da MT ao osso temporal⁴.

O formato da MT é ligeiramente oval, com seu maior diâmetro medindo 9-10 mm e o seu menor diâmetro medindo 8 a 9 mm, resultando numa área total de aproximadamente 64 mm^{2,4}. A MT consiste de duas partes, a *pars tensa* e a *pars flaccida* (membrana de Shrapnell). A *pars tensa* humana é

cerca de 10 vezes maior que a *pars flaccida* enquanto que, em outras espécies, a *pars flaccida* é relativamente maior, cerca de metade do tamanho da *pars tensa*⁵ (Figura 1).

A espessura da MT é de aproximadamente 30-90 μm , sendo mais espessa periféricamente e ao redor do cabo do martelo. A *pars flaccida* humana é mais espessa que a *pars tensa*, medindo 30-230 μm ⁴.



Figura 1. Membrana timpânica humana normal. Fonte: Arquivo pessoal do autor.

5.1.3 HISTOLOGIA

A membrana timpânica consiste de tres principais camadas: a camada externa de epitélio escamoso queratinizado, a lamina própria e a camada interna de epitélio mucoso.^{4,6}

5.1.3.1. A CAMADA EXTERNA

O epitélio de revestimento da MT é do tipo escamoso estratificado formado por queratinócitos. Ele pode ser subdividido morfológicamente em várias camadas: a camada basal (aderida à lamina basal); a camada espinosa (camada de Malphigi); a camada granular e mais superficialmente o estrato córneo (queratina). No extrato córneo as células já perderam seu núcleo. Em circunstâncias normais, a camada

externa epitelial consiste em 5 a 10 camadas de células¹⁸. O epitélio da *pars flaccida* é mais densamente queratinizado⁵.

A fotografia histológica da camada epitelial da MT tem muitas similaridades com a da pele e algumas vezes na literatura otológica é referida como a epiderme da membrana timpânica. Há também várias diferenças histológicas. A MT não possui pelos e glândulas anexas. Enquanto os queratinócitos da pele exfoliam-se perpendicularmente, os queratinócitos na MT são transportados centrifugamente em direção ao ânulo fibroso e ao conduto auditivo externo⁷⁻¹⁰. A velocidade média de migração tem sido estimada em 0,05 mm em 24 horas^{5,7}.

5.1.3.2 LAMINA PRÓPRIA

A lâmina própria da *pars tensa* consiste de duas camadas principais de tecido conectivo que são predominantemente fibras colágenas. A camada externa da lâmina própria tem um arranjo radial dos feixes de colágeno, enquanto que a camada interna consiste em colágeno distribuído circularmente^{4,5,11} (Figura 2). A camada interna é mais pronunciada perifericamente¹². Feixes parabólicos, transversos e crescentes também são descritos¹²⁻¹⁴. Estas fibras, de acordo com alguns autores, estão localizadas entre as duas principais camadas de colágeno enquanto outros autores descrevem o encontro de fibras parabólicas e em “crescendo” dentro da camada interna circular¹²⁻¹⁴. Entre as camadas de colágeno também estão presentes vasos sanguíneos e entremeados às fibras colágenas localizam-se esparsos fibroblastos produtores de colágeno⁴.

O colágeno é o principal e mais abundante componente de tecido conectivo. Suas fibras são flexíveis e tem uma grande força de tensão. As fibras colágenas são compostas de três cadeias de polipeptídeos chamadas de cadeias alfa, que são organizadas em forma de tripla hélice. As diferenças na estrutura das cadeias alfa determinam o tipo de colágeno¹⁵. Há muitos tipos de colágeno, sendo os tipos 1 ao 4 os mais comuns. Na lâmina própria há descrição do colágeno tipo II¹⁶. A possível presença de outros tipos de colágeno e sua distribuição na MT é incerta.

Na *pars flaccida* há uma abundância de fibras de elastina e tecido conectivo frouxo assim como feixes colágenos¹⁸. Os feixes colágenos são em menor número quando comparados à *pars tensa* e são

distribuídos irregularmente⁴. Ainda, a *pars flaccida* comporta numerosos mastócitos³⁰. O suprimento vascular da *pars flaccida* é similar ao da *pars tensa*^{18,19}.

De acordo com estudos comparativos de diferentes espécies, não foram encontradas diferenças significativas na lâmina própria da MT^{5,20}.

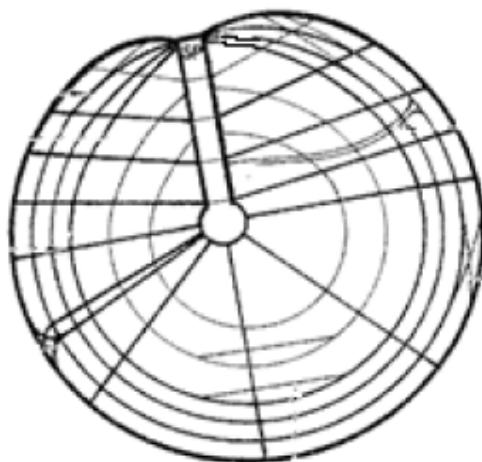


Figura 2. Orientação das fibras na *pars tensa* da membrana timpânica. Fonte Lim 1995¹⁹.

5.1.3.3 A CAMADA INTERNA

A camada epitelial interna consiste em epitélio cubóide simples ou epitélio escamoso, dependendo da espécie, que se faz contínuo com a mucosa da orelha média. Em humanos ambos já foram descritos, além de epitélio colunar estratificado na *pars tensa* da MT^{4,21-23}. As células não são ciliadas e não há células caliciformes no epitélio interno da MT de humanos⁶.

5.1.3.4 VASOS SANGUÍNEOS

Os vasos sanguíneos da membrana timpânica estão localizados principalmente no tecido conectivo frouxo (predominantemente na porção lateral), sem penetrar a lâmina basal do epitélio de cada

lado⁶. O suprimento vascular para a porção lateral da MT de humanos deriva da artéria do manúbrio, derivada da artéria auricular profunda, ramo da artéria maxilar interna, que é ramo da artéria carótida externa. A porção medial da MT é suprida por um ramo da artéria meníngea média e por um círculo vascular formado pelas artérias timpânicas anterior e posterior, ramos da artéria maxilar interna. A artéria timpânica posterior entra na cavidade timpânica onde o nervo corda do tímpano repousa, na fissura petrotimpânica²⁴⁻²⁵.

5.1.3.5 INERVAÇÃO

Em cada lado da lâmina própria há uma fina camada de tecido conectivo frouxo que contém fibroblastos e fibras nervosas^{11,19,26}. A porção lateral da MT é inervada pelo ramo aurículo-temporal do nervo trigêmeo e pelo ramo auricular do nervo vago. A porção média da MT é inervada pelo ramo timpânico do nervo glossofaríngeo^{19,24,25}.

5.1.4 RETRAÇÕES TIMPÂNICAS

A retração da membrana timpânica é resultado da pressão negativa persistente na orelha média e muitos autores acreditam que essa pressão negativa seria sequela de episódios prévios de otites médias, especialmente otites médias secretoras de longa duração^{1,27-29}.

A teoria patogênica do *continuum* onde um fator desencadeante inicial levaria a uma disfunção tubária funcional ou mecânica, que com sua persistência levaria a uma pressão intratimpânica negativa e a uma reação do espaço subepitelial com espessamento e vasodilatação causado pelo vácuo seguindo ao extravasamento de plasma para a orelha média³⁰. Sua persistência, associada às alterações subepiteliais da mucosa e à hipóxia prolongada, levaria à metaplasia da mucosa, que passaria a secretar ativamente líquido mucóide. Nestes estágios poderia haver resolução espontânea, pela terapia clínica ou ainda evolução para retrações da MT. Entretanto, mesmo nos casos em que houvesse resolução da otite, poderiam permanecer alterações na orelha média de maneira a compartimentá-la em “ilhas” que permaneceriam hipoventiladas mesmo com a função tubária reestabelecida. Todas essas alterações levariam ao sofrimento localizado ou difuso da MT, favorecendo sua atrofia e facilitando as retrações, mais facilmente ainda na sua porção flácida

sabidamente mais frágil. Com isso, inicialmente haveria a formação de bolsas de retração, cujos fundos das bolsas perderiam suas funções de auto-limpeza, gerando um acúmulo de queratina exfoliada e o crescimento da retração em direção à orelha média, ou seja, a formação do colesteatoma primário^{30,31}. Pode-se dizer assim, que se há perda da rigidez da MT, as retrações podem ocorrer, podendo ser focais ou generalizadas e podem aparecer na *pars tensa* ou na *pars flaccida*, sendo esta última mais comum. Se presente na *pars tensa*, a retração é mais comumente localizada no quadrante póstero-superior^{27,32}. Em um estudo com 100 orelhas com retrações timpânicas, 40% localizavam-se na *pars flaccida* e 60% na *pars tensa*²⁷. Outros autores reportam uma maior incidência de retrações da MT na *pars flaccida* do que na *pars tensa* e que podem haver múltiplas retrações em uma mesma MT simultaneamente³³.

Outra teoria proposta para as retrações timpânicas é baseada na tuba auditiva persistentemente aberta. Na tentativa de fechá-la para aliviar o desconforto pelo enchimento de ar, o paciente desenvolveria um comportamento de fungar repetitivo, o que levaria a barotraumas repetidos na MT, resultando no seu enfraquecimento predispondo a retrações timpânicas³⁴⁻³⁵.

Jackler, em teoria mais recente ainda não publicada, propõe que a pressão negativa na orelha média poderia causar a retração inicial da MT, mas o contato da mucosa da porção medial da MT com a porção lateral dos ossículos criaria uma área de contato mucoso onde, com a migração normal da mucosa, resultaria na retração da MT e início da bolsa de retração, passando a tratar a patologia da retração da MT e do colesteatoma como uma doença da mucosa da orelha média³⁶.

Nas retrações menores nos quadrantes posterosuperiores, a retração pode aderir à articulação incudo-estapedial e as grandes retrações podem alcançar e aderir ao prontório da cóclea. Um colapso total da MT é chamado de orelha atelectásica ou otite adesiva. Estudos histológicos das MT atelectásicas têm demonstrado uma perda da estrutura de sustentação do colágeno, além de espessamento e hiperqueratose do epitélio de revestimento³⁷.

As retrações timpânicas podem causar perdas auditivas condutivas devido a erosões da cadeia ossicular e se a hiperqueratose supramencionada falhar em descamar adequadamente, o risco de desenvolvimento de colesteatoma passa a ser óbvio³⁰.

5.1.4.1 CLASSIFICAÇÃO DAS RETRAÇÕES TIMPÂNICAS

Várias classificações das retrações timpânicas já foram propostas, sendo uma das mais didáticas e aceitas a de Sadé e colaboradores em 1997³⁸ para as retrações da *pars tensa* e a de Tos e colaboradores em 1980^{2,10} para as da *pars flaccida*, de acordo com os quadros 1 e 2 abaixo^{2,38} e ilustradas pelas figuras 3 e 4.

Tabela 1. Estadiamento das retrações da *pars tensa* da membrana timpânica

Fase 1	Retração da MT sem aderência aos ossículos
Fase 2	Retração MT com aderência da mesma aos ossículos
Fase 3	Retração total da MT ao promontório, sem aderências.
Fase 4	Retração total da MT ao promontório, com o tímpano aderido ao mesmo
Fase 5	Tipo III e IV com perfuração timpânica

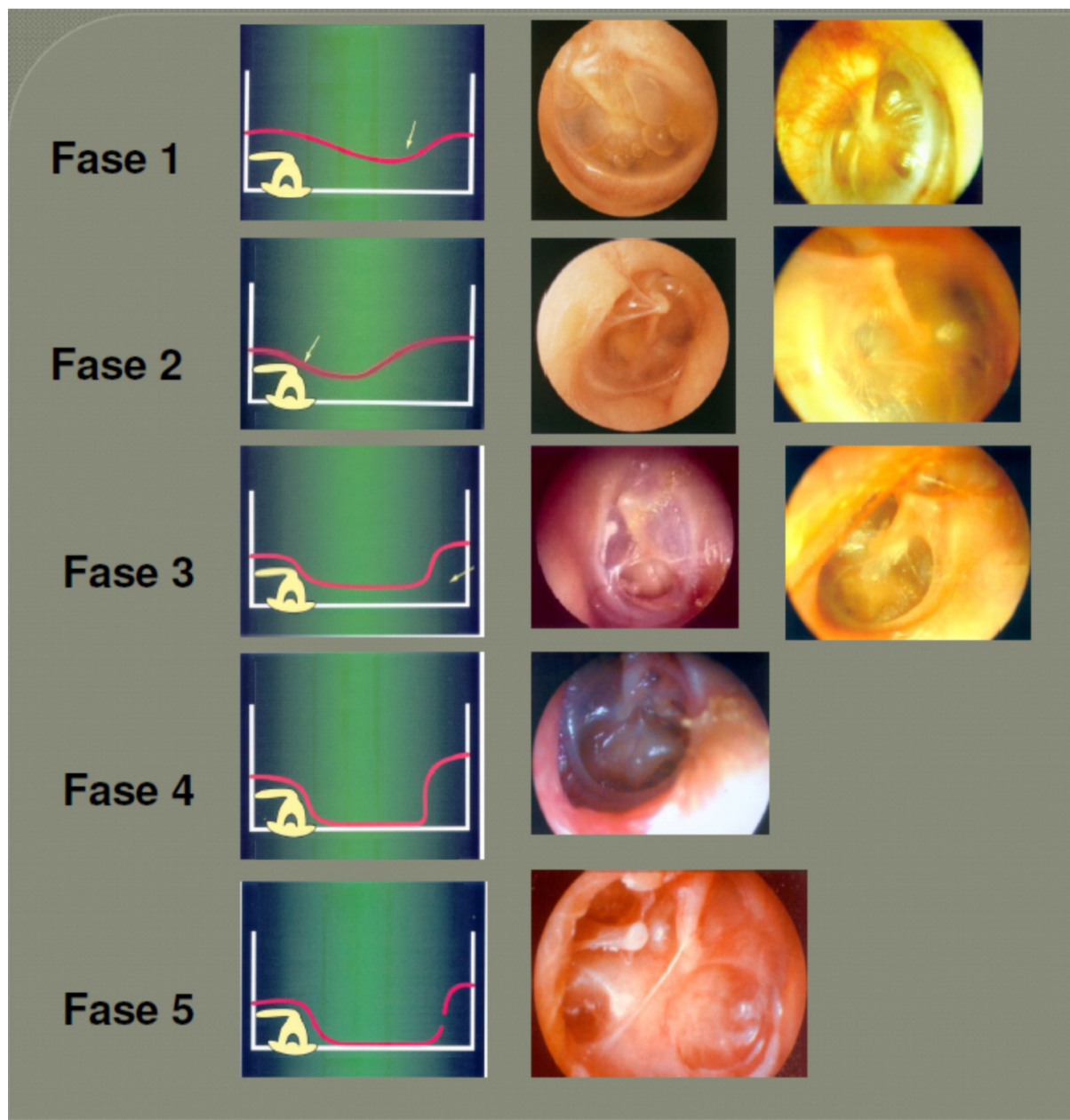


Figura 3. Estadiamento da “pars tensa” da MT. Sadé (1997)³⁸. Fonte: Arquivo pessoal Dr Luiz Lavinsky

Tabela 2. Estadiamento das retrações da *pars flácida* da membrana timpânica

Tipo 1	Ligeira retração sem contato com o colo do martelo
Tipo 2	Retração mais profunda que contata com o colo do martelo
Tipo 3	Bolsa que não se pode visualizar o fundo, com erosão óssea
Tipo 4	Erosão óssea mais marcada (aticotomia e lise da cabeça do martelo)

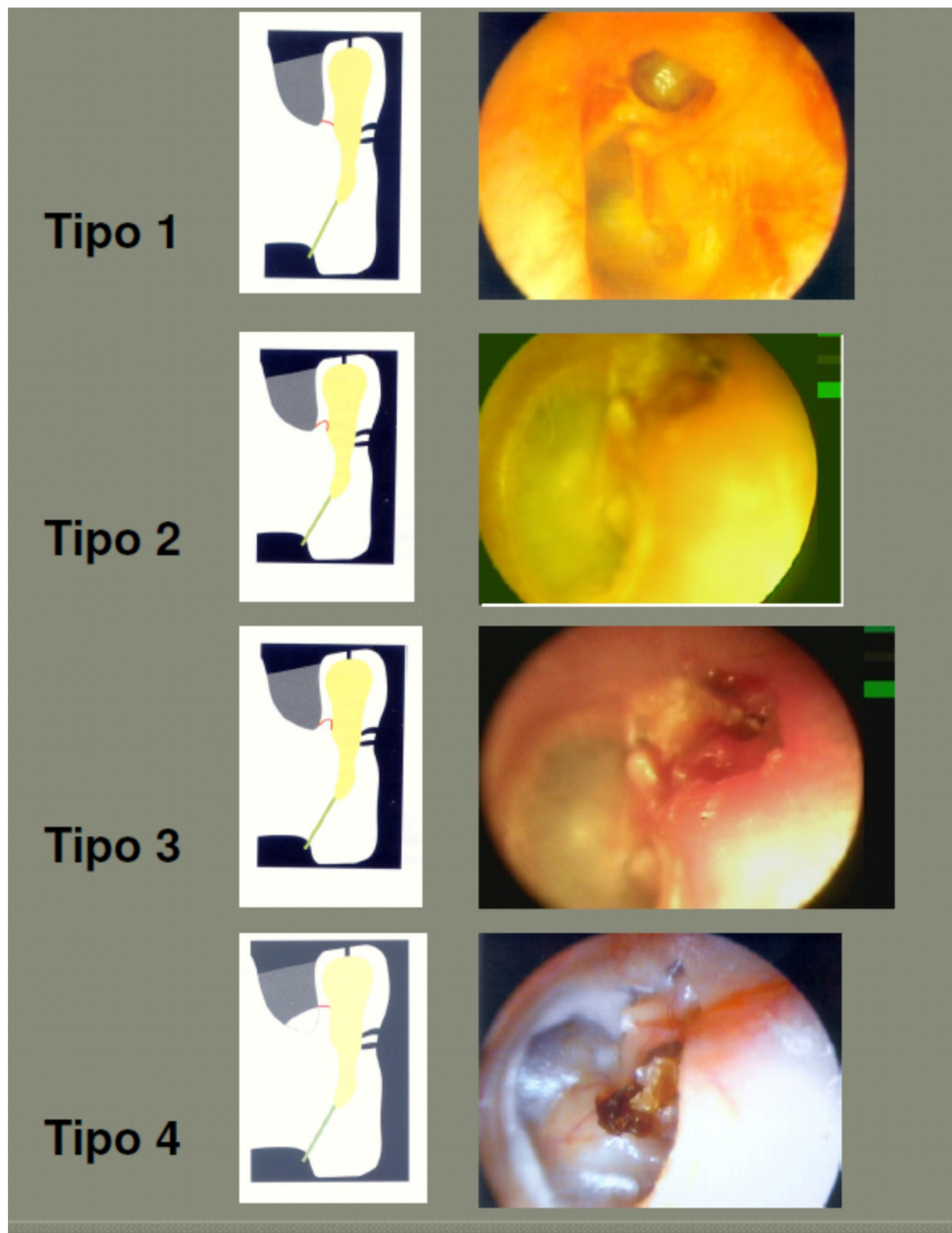


Figura 4. Estadiamento das retrações da “pars flaccida” da MT. Tós (1980). Fonte: Arquivo pessoal Dr Luiz Lavinsky

De maneira mais objetiva, as retrações também podem ser classificadas em retrações simples e bolsas de retração, onde já há acúmulo epitelial³⁹.

5.1.4.2 O PAPEL DA ELASTINA E AS ALTERAÇÕES HISTOLÓGICAS NAS RETRAÇÕES TIMPÂNICAS

O papel da elastina nas retrações timpânicas e na gênese do colesteatoma foi estudado por vários autores, sempre em conjunto com os demais componentes que compõem a membrana timpânica como colágeno, fibroblastos, macrófagos e mediadores inflamatórios^{1,2,32,40,41}.

Knutsson⁴², em sua tese de doutorado, em 2010 avalia a morfologia e a bioquímica da MT em relação às retrações timpânicas, somente citando as alterações nos colágenos tipos 1 a 4. O autor detalha a distribuição do colágeno após análise microscópica de 11 biópsias de MT de adultos apontando como o principal componente da *pars tensa* o colágeno tipo II. Também concluiu que a camada mais interna da MT é dominada por colágeno tipo III. Não há nenhuma citação sobre a elastina em toda a sua tese. Stenfeld e col.⁴³ descrevem toda a estrutura de colágeno da membrana timpânica sem citar a elastina⁴³. Também foram descritas as diferentes composições da MT em espécies animais, mostrando as variadas composições da mesma com quantidades diferentes de elastina nas espécies, não encontrando correlação com a propensão a colesteatomas. Hiraide e colaboradores⁴⁴ demonstraram através de microscopia eletrônica a desorganização das fibras da lamina própria em MT que sofreram processos inflamatórios sem quantificar ou especificar o tipo de fibras. A alteração da composição, espessura e celularidade da MT de humanos em função da idade foi demonstrada por Ruah e colaboradores⁴⁵, não correlacionando tais achados em conjunto com as retrações da MT. Yan e colaboradores⁴¹ correlacionaram os componentes da camada média mais fortemente com a fisiologia da audição do que com as retrações, enquanto Ruah e colaboradores³⁰ atribuíram à persistência de mesênquima, reação inflamatória e mudanças no colágeno e elastina a possível origem da patologia de retração da MT. Neste estudo foi comparada a histopatologia de orelhas normais, orelhas com otite serosa e orelhas com otites purulentas. Foi encontrada persistência de mesênquima na *pars flaccida* e no quadrante posterosuperior nas orelhas de pacientes até os 2 meses de idade, até os 4 meses em pacientes com otites serosas e até cerca de 10 meses em pacientes com otites purulentas. Eles teorizaram que o atraso na

reabsorção e diferenciação do mesênquima poderia ser responsável pela inabilidade de maturação das fibras de elastina na MT. Fibras de elastina madura são vistas na pars flaccida de orelhas normais e nos quadrantes posteriores da pars tensa de orelhas normais já aos 5 dias de idade. Entre os 11 ossos temporais com otites purulentas, estas fibras foram vistas somente em 1 exemplar de paciente com 5 meses de idades e, dos 13 ossos temporais com otite secretora, nenhum mostrou fibras maduras. Os autores concluíram que o atraso na maturação poderia ser uma fator de risco para o desenvolvimento de bolsas de retração, assim que o colchão mesenquimal desaparece. Parece que a inflamação levaria à persistência do mesênquima na orelha média que por sua vez atrasa ou rompe com o desenvolvimento das fibras de elastina normais na membrana timpânica. Talvez este seja o principal e único estudo que teorizou isoladamente o papel da elastina nas retrações da MT.

Foseni e col³¹ demonstraram o aumento de macrófagos, linfócitos B e interleucina 6 na membrana timpânica de pacientes com otite média serosa, sugerindo possíveis alterações na composição da lâmina própria sem quantificá-las. O clássico estudo de Yoon, Schachern, Paparella e Aepli³⁹, demonstrou as alterações histológicas na orelha média sem avaliar as alterações estruturais da lâmina própria.

Os estudos com a elastina e membranas timpanicas de Bonzon e colaboradores⁴⁶ e Kim e colaboradores⁴⁷, que utilizaram com sucesso enxertos de uma matriz de elastina para correção de perfurações de membranas timpânicas com sucesso em coelhos e chinchilas, foram promissores mas abordam as perfurações já estabelecidas.

5.2 JUSTIFICATIVA

Tendo em vista a escassez na abordagem do papel isolado da elastina, ainda que seja para afirmar que este elemento seja somente um coadjuvante menor do conjunto de alterações que sofre a MT nas retrações, buscou-se um modelo para estudo que conseguisse delimitar o papel da elastina, implicando-a ou não à patologia de retração da MT. Nesse intuito, os pacientes portadores de síndrome de Williams, uma afecção onde há alteração no gene da elastina localizado no cromossomo 7, foram escolhidos para avaliação otorrinolaringológica.

5.3 SÍNDROME DE WILLIAMS

A Síndrome de Williams (SW), também conhecida por Síndrome de Williams-Beurer, é uma enfermidade multisistêmica causada pela deleção hemizigótica de genes contínuos no cromossomo 7. A região deletada pode conter entre 26 a 28 genes, e não se sabe exatamente como a perda de cada gene leva às características fenotípicas, mas a hipoexpressão dos produtos gênicos provavelmente está envolvida^{48,49}. Estimada a ocorrer em 1 em cerca de 10000 pessoas, a SW é uma enfermidade causada por microdeleção que pode servir de modelo para o estudo de correlações genótipo-fenótipo e potencialmente revelar genes que contribuam no entendimento de diabetes, hipertensão e ansiedade^{48,50}.

Os primeiros casos de SW foram descritos como duas enfermidade não correlatas. Uma apresentação foi caracterizada por hipercalcemia, deficiência de crescimento, face característica, “retardo mental”, sopro cardíaco e hipertensão, enquanto a outra apresentação foi caracterizada por estenose aórtica supravalvular, aparência facial distinta, “retardo mental”, personalidade “amigável” e atraso no crescimento. A subsequente descrição de um paciente com características comuns aos dois fenótipos indicou que aquelas eram variações da mesma enfermidade, agora referida como Síndrome de Williams⁴⁸.

5.3.1. CAUSAS E DIAGNÓSTICO

A teratogenicidade da vitamina D foi primeiramente considerada como causadora da SW, baseada em experimentos de base mostrando estenoses aórticas supravalvulares e anormalidades faciais em fetos de coelhos expostos a altas doses de vitamina D. Duas linhas de evidências posteriores mostraram que a transmissão da SW era genética, não teratogênica: transmissão da SW de pais para filhos e caracterização da Síndrome Familiar de Estenose Aórtica Supravalvular como fenotípicamente sobreposta. A Síndrome Familiar de Estenose Aórtica Supravalvular, que é causada pela ruptura do gene da elastina (ELN) é associada com anormalidades cardiovasculares características da SW, sem outras características da SW. A pesquisa de pacientes com SW para mutações no gene ELN não revelou nenhuma mutação, mas mostrou que um alelo ELN estava completamente perdido, sugerindo que a SW seria uma enfermidade por microdeleção e não por mutação⁴⁸.

O reconhecimento da SW começa com a suspeita clínica. Os critérios diagnósticos tem apenas utilidade modesta, comparada ao rápido e acurado teste laboratorial. A hibridização por fluorescência in situ (FISH), envolvendo sondas específicas para a região onde está o gene ELN, estabelece o diagnóstico de Síndrome de Williams ao mostrar a presença de um único alelo ELN ao invés de dois alelos (figura 5). Embora o método FISH permaneça o mais amplamente utilizado teste laboratorial, o diagnóstico pode também ser feito por análise de marcadores de microsatélite, amplificação multiplex de sondas, reação em cadeia da polimerase quantitativa (PCR) ou teste comparativo de hibridização genômica. O teste comparativo de hibridização genômica, mesmo não sendo custo efetivo, apresenta vantagens se a impressão clínica não é consistente com SW ou se o paciente apresenta uma deleção atípica, pois este método pode delinear os genes deletados^{48, 49}.

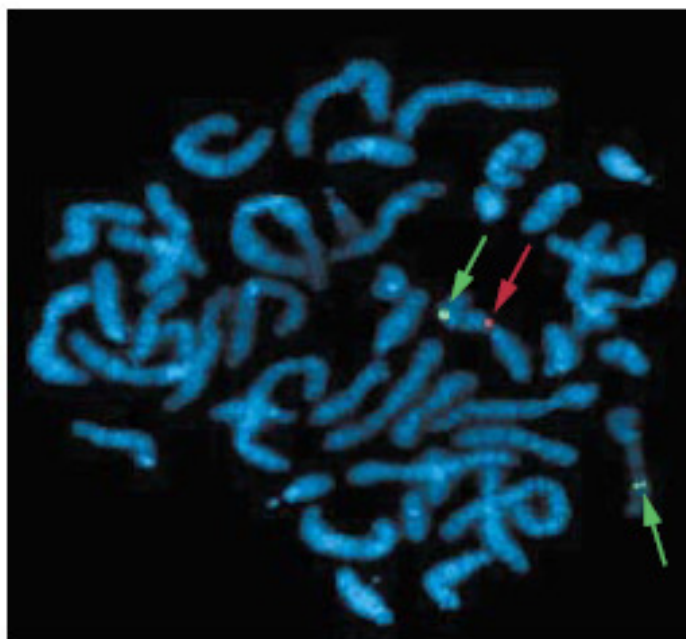


Figura 5. Hibridização por fluorescência in situ (FISH) em paciente com Síndrome de Williams revelando um cromossoma 7 normal - com dois sinais de hibridização, um que confirma a presença do gene ELN (seta vermelha) e o segundo, a presença do gene controle (seta verde adjacente) – e o cromossoma 7 com deleção, que mostra o sinal da hibridização de controle somente (seta verde inferior direita), indicando o gene ELN deletado. Fonte: figura cedida por Dra Barbara Pober do Center for Human Genetics, Massachusetts General Hospital, Boston.

5.3.2. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS

A SW possui uma constelação de características típicas. As características faciais variam de sutis a dramáticas (figuras 6 e 7). Crianças pequenas são descritas com dorso nasal largo, ponta nasal para cima e queixo delicado, enquanto pacientes mais velhos apresentam lábios grossos, sorriso amplo e ponta nasal mais proeminente^{48,49,50}.

A extensão dos problemas médicos e de desenvolvimento em pacientes com SW é bastante variada. Características comuns afetando cada sistema de órgãos são listadas na tabela 3. Esta revisão enfatiza os achados otológicos e otoerológicos e as características clínicas que mais afetam a morbidade desta enfermidade.

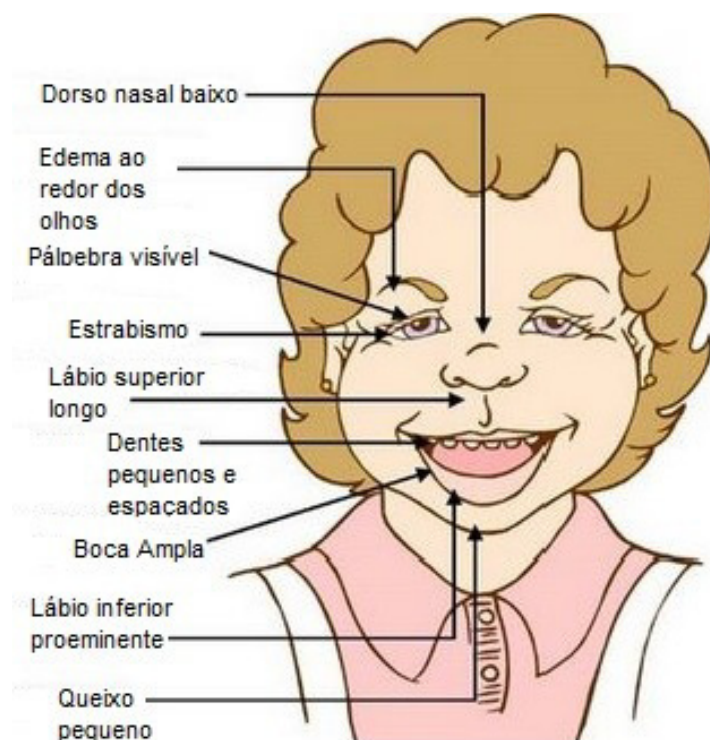


Figura 6. Características faciais da Síndrome de Williams. Fonte: imagens cedidas pela Associação Brasileira de Síndrome de Williams⁵¹



Figura 7. Pacientes com Síndrome de Williams. Fonte: imagens cedidas pela Associação Brasileira de Síndrome de Williams⁵¹

Característica	Comentários
Ouvido, nariz e garganta	
Hiperacusia	A sensibilidade ao som pode afetar negativamente a qualidade de vida
Perda auditiva neurossensorial	Detectada em adulto e adolescentes
Otite média recorrente	Presente em até 60%
Cardiovascular	
Estenoses vasculares	Estenoses ocorrem mais frequentemente na infância
Hipertensão	Podendo ser de causa renovascular
Anormalidades valvulares	
Lesões intracardíacas	
Acidentes vasculares cerebrais	Raros, podendo ser por estenoses intracranianas
Morte súbita	Muito rara, fatores de risco são anestesia geral, obstrução ao fluxo ventricular, hipertrofia ventricular e

	obstrução coronariana
Desenvolvimento e Cognição	
Déficit cognitivo global (QI médio, 55)	O QI varia de 40 a 100. Alguns pacientes tem QI dentro da normalidade.
Característico padrão de pontos forte e fracos	Pontos fortes são habilidades em linguagem e pontos fracos são em habilidades visoespaciais.
Dentário	
Pequena ou malformada primeira dentição	
Má oclusão	
Hipodontia	
Endócrino	
Puberdade precoce	Menarca ocorre 2 anos antes
Intolerância a glicose ou Diabetes	Em até 75% dos adultos
Osteopenia ou osteoporose	Suplementação de cálcio ou vitamina D deve ser utilizada com cuidado
Hipotireoidismo subclínico	Pode estar associada a hipoplaia tireoidéia. Tratamento medicamentoso necessário na minoria.
Hipercalcemia	Documentada numa minoria de pacientes. Não é restrita a infância
Gastrointestinal e relacionado ao peso	
Cólicas, dificuldades alimentares, intolerâncias a certas texturas de alimentos	Muitas crianças apresentam ganho de peso pobre; como adultos dois terços apresentam índice de massa corporal > 25
Ganho de peso anormal	
Constipação	
Refluxo gastroesofágico	
Dor abdominal de causa incerta	Possivelmente em mais de um terço dos pacientes.
Doença diverticular	Diverticulite pode ocorrer
Prolapso retal	
Doença celíaca	
Genitourinário	
Atraso no controle esfinteriano	
Polaciúria, urgência e enurese	
Anormalidades estruturais renais	
Divertículos vesicais	
Infecções urinárias de repetição	
Nefrocalcinose	
Musculoesquelético	
Frouidão articular	Piora das contraturas em membros inferiores com a idade
Contraturas articulares	

Lordose	
Escoliose	
Neurológico	
Hipotonia	Mais prevalente em adultos e adolescentes
Hiperreflexia	Equilíbrio e coordenação ruins
Achados cerebelares	
Oftalmológico	
Estrabismo	
Acuidade alterada	
Estereopsia reduzida	
Estreitamento do ducto lacrimal	
Personalidade e comportamento	Personalidade cativante e amigável que pode favorecer vulnerabilidade
Personalidade amigável	Dificuldades de atenção duradouras, hiperatividade
Impulsividade e dificuldades de atenção	diminui após a infância
	Presentes na maioria dos adultos e adolescentes
Ansiedade e fobias, traços obsessivo	
Compulsivos	
Disritmia	
Pele e tegumento	
Pele macia com envelhecimento precoce moderado	
Branqueamento prematuro dos cabelos	Pode iniciar em jovens adultos
Hérnias inguinais e abdominais	

Fonte: Pober BR. Williams-Beuren Syndrome. N Engl J Med. 362:3.January 21, 2010⁴⁸.

5.3.2.1. ANORMALIDADES OTORRINOLARINGOLÓGICAS

A hiperacusia da SW é relatada como característica presente em até 95% dos pacientes, no entanto este dado baseia-se em estudos de relato de casos e séries pequenas⁵²⁻⁵⁴. Estudos avaliando completamente o perfil audiométrico de pacientes com SW sugerem que o mecanismo da hiperacusia ocorre devido à perda inibitória eferente sobre a cóclea, mais precisamente nas células ciliadas externas que teriam a modulação alterada pelo sistema olivococlear medial ipsilateral⁵². O sistema olivococlear medial foi testado por estimulação da orelha contralateral com níveis crescentes de ruído, enquanto pesquisadas otoemissões acústicas transitórias (OEAT) na orelha ipsilateral. O efeito supressor sobre a amplitude das OEAT foi computado a cada nível de estímulo contralateral. Estas medidas refletiram a força do efeito eferente do

sistema olivococlear medial, demonstrando que os pacientes com SW apresentam significativo aumento do nível de ruído para efeito supressor do sistema sobre as OEAT⁵²⁻⁵⁵.

Estudos repetidos demonstraram perdas neurosensoriais de altas frequências de 50% a 75% dos pacientes com ausência de otoemissões acústicas transitórias. Pacientes com audição normal também apresentavam ausência de OEAT em cerca de 44% dos casos, sugerindo lesão coclear precoce. A perda auditiva neurosensorial correlacionou-se com a idade e mostrou-se pior após os quinze anos de idade⁵⁴.

Dois estudos avaliaram frequência de otites médias agudas recorrentes através de entrevistas com os pais e relataram prevalências de até 61%^{54,55}. Em nenhum estudo foi avaliada a prevalência de otites crônicas ou mesmo a otoscopia de pacientes com SW.

5.3.2.2 ANORMALIDADES CARDIOVASCULARES

A estenose de médias e grandes artérias devido ao espessamento da camada média pelo crescimento exagerado de músculo liso constitui-se no protótipo da anormalidade cardiovascular da SW. As estenoses são mais comumente localizadas acima da válvula aórtica, na junção sinotubular. A estenose aórtica supra-avalvular é encontrada em até 70% dos pacientes com SW e é rara fora da SW e da Síndrome de estenose supra-avalvular aórtica familiar. O estreitamento arterial pode ser único ou pode ocorrer em vários locais simultaneamente, incluindo arco aórtico, aorta descendente, artéria pulmonar, coronárias, renais, mesentéricas e intracranianas. Exames não invasivos como ecocardiografias revelam, na maioria dos pacientes, lesões que variam de discreto estreitamento a áreas de estenoses múltiplas ou eventualmente hipoplasias difusas. Um aumento da espessura da camada média da artéria carótida interna, consistente com uma arteriopatia pela elastina generalizada está presente em todos os casos^{48,49}.

Hipertensão, ocasionalmente iniciada na infância, desenvolve-se em aproximadamente 50% dos pacientes. A causa da hipertensão frequentemente não é identificada. Causas renovasculares são infrequentes. Modelos animais sugerem que os níveis alterados da pressão arterial seriam uma adaptação à vasculatura anormal⁵³.

As complicações cardiovasculares são a principal causa de morte dos pacientes com SW, mas um estudo sobre a expectativa de vida destes pacientes ainda não foi realizado. Em um estudo de

aproximadamente 300 pacientes com SW com idades entre 1 e 55 anos mostrou mortalidade associada a causas cardiovasculares entre 25 a 100 vezes maior que sobre controles^{48,50}.

5.3.2.3. ANORMALIDADE ENDÓCRINOLÓGICAS

Cálcio

Episódios de hipercalcemia são relatados entre 5% e 50% dos pacientes com SW. Tal variação pode ser explicada pela variação da metodologia dos estudos. A hipercalcemia é em geral leve (com níveis de cálcio sérico acima de 11,5 mg por decilitro) mas pode ser de moderada a grave, particularmente na infância^{48,50}.

Um episódio de hipercalcemia pode ser assintomático ou associado com sintomas inespecíficos (cólicas, irritabilidade, hipotonia, diminuição do apetite e constipação) que ocorrem mesmo em pacientes com SW com os níveis normais. Hipercalcúria geralmente acompanha a hipercalcemia, mas a hipercalcúria isolada também pode ocorrer, especialmente na infância^{48,50}.

Vários mecanismos são sugeridos como causa da hipercalcemia, mas nenhum foi comprovado. Estes incluem sensibilidade à vitamina D, níveis aumentados de 1-25 dihidroxivitamina D e síntese deficiente da calcitonina^{48,50}.

Diabetes Mellitus

A prevalência de tolerância diminuída à glicose é alta. Em um estudo com 20 adultos com SW os testes de tolerância à glicose mostraram que 16 tinham exames alterados, 2 apresentavam exames normais e 2 apresentavam diabetes previamente diagnosticada que contraindicavam o exame. Diabetes Mellitus franca é registrada em muitos pacientes com SW⁴⁸.

Tireóide

Hipotireoidismo subclínico é reportado em 15 a 30% dos pacientes.

Geralmente acompanhado por leve hipoplasia da tireoide à ultrassonografia⁴⁸.

Outros Problemas Endocrinológicos

A maioria das crianças apresenta atraso no ganho de peso e altura e puberdade precoce, o que contribui para a baixa estatura. Não foram detectados problemas específicos que expliquem tais achados^{48,50}.

5.3.2.4. ANORMALIDADES NEURÓLOGICAS E DO DESENVOLVIMENTO

Desenvolvimento e Cognição

Crianças pequenas com SW apresentam atrasos na aquisição de habilidades motoras e de linguagem. Testes de inteligência demonstram que o Quociente de Inteligência (QI) variam de 40 a 100 considerando adultos e crianças. Contudo, a cognição na Síndrome de Williams é mais complexa que os testes de inteligência. Muitos testes relatam altos quocientes verbais em pacientes com SW, descrevendo o perfil cognitivo como de altos e baixos, onde há pontos fortes na memória auditiva e alguns aspectos de linguagem combinados com pontos fracos em habilidades espaciais e motoras. Também apresentam pontos fortes em reconhecimento facial e habilidades sociais e interpessoais^{48,54,55}.

Personalidade e comportamento

Os pacientes com SW são bem descritos como amigáveis e sociais. Muitos apresentam dificuldades comportamentais ou psicopatologias coexistentes. Notadamente estes pacientes apresentam preocupações e medos excessivos; pais e cuidadores relatam que mais de 80% dos adultos com SW apresentam ansiedade, preocupações ou obsessões, desatenção e irritabilidade. Apesar da personalidade sociável muitos são socialmente isolados. Quase todos apresentam ansiedade antecipatória (p.e. de eventos vindouros) mas não apresentam ansiedade social (p.e. de encontrar estranhos). Estas dificuldades causam grande efeito na qualidade de vida da maioria dos pacientes com SW^{54,55}.

O gosto pela música é quase universal entre estes pacientes e a sensibilidade a certos sons, particularmente trovões e fogos de artifício desenvolve-se em mais de 90% dos casos^{48,54,55}.

5.3.3. BASE GENÉTICA DA SÍNDROME DE WILLIAMS

A microdeleção no cromossomo 7 na SW ocorre devido a particular arquitetura genética desta região. Especificamente a região deletada, referida como região da Síndrome de Williams-Beuren, é ladeada por feixes altamente homólogos de genes e pseudogenes organizados em blocos de cópias de pequenas repetições conhecidos como “duplicons”. O alto grau de homologia sequencial entre estes duplicons, bem como a proximidade entre eles, predispõe ao desalinhamento de cada um dos genes no cromossomo 7 na SW durante a meiose. Se cruzamentos desiguais ocorrerem, a região pode ser deletada. A deleção pode ocorrer no cromossomo 7 materno ou paterno e é esporádica em virtualmente todos os casos. Assim, pais saudáveis não carregam a deleção, que ocorre espontaneamente durante a formação dos gametas, assim a probabilidade do casal ter uma segunda criança com SW é muito menor que 1%. A maioria dos adultos com SW opta por não ter filhos, e aqueles que o fazem apresentam a chance de 50% de que cada filho herde a síndrome⁴⁸.

Em mais de 98% dos pacientes com diagnóstico de SW os pontos de ruptura no cromossomo 7 ocorrem dentro dos duplicons, especificamente nos blocos B, e levam a deleção de aproximadamente 1,5 milhões de pares de base que codificam 26 a 28 genes. Diferenças no fenótipo não foram notadas em pacientes com deleções de diferentes tamanhos⁴⁸.

Cerca de 2% dos pacientes apresentam deleções atípicas. Nos pacientes com deleções pequenas envolvendo a porção telomérica da região da SW, apresentam as características comuns da SW, enquanto que aqueles que apresentam deleções atípicas que preservam esta região apresentam leves características da SW⁴⁸. Muitos pacientes com um fenótipo mais complexo que inclui atrasos severos no desenvolvimento, convulsões tem deleções maiores que as típicas⁵⁰.

Estes achados indicam que deleções próximas a região telomérica são suficientes para causar o típico perfil dos pacientes com SW.

Embora a perda de um alelo ELN sabidamente produza a patologia cardiovascular da SW, a consequência fenotípica da perda de outros alelos dentro da região da SW não é tão clara. O efeito da hemizigose (onde um membro do par de genes está presente, em vez de os usuais dois genes) tem sido estudado em modelos animais e modelos humanos com deleções atípicas que superexpressam ou subexpressam genes de interesse. A região da SW em ratos e humanos é bastante similar, contendo os mesmo genes na mesma ordem. A deleção simples de um gene ou a deleção de genes combinados em ratos pode auxiliar a definir a função de cada gene e que fenótipo requer qual das combinações de genes^{48,50}. Os genes atualmente implicados na SW estão listados na tabela 4.

A presença de uma cópia, em vez de duas de cada gene na região cromossômica da SW, deveria reduzir a expressão de proteínas codificadas pela metade. Embora dados empíricos confirmem que isto ocorre com a maioria dos genes, há exceções como o gene *GTF2IRRD1*. Além disso, vários genes não deletados próximos à região cromossômica da SW apresentam expressão diminuída, possivelmente pelo efeito da posição que se encontram⁵⁰.

Apesar dos avanços genéticos, a variabilidade fenotípica observada entre os pacientes com SW permanece inexplicada. Especulações de que a variação no tamanho da deleção seria responsável pela variabilidade foi contrariada. As prováveis explicações incluiriam os polimorfismos nas cópias das regiões não deletadas da SW que afetariam as funções das proteínas ou seu nível de expressão, efeitos variados das deleções nos genes vizinhos à região cromossômica da SW ou o efeito de genes modificadores, incluindo-se alterações epigenéticas em qualquer lugar no genoma⁴⁸⁻⁵⁰.

Tabela 4. Genes humanos hemizigotos em Pacientes com Síndrome de Williams-Beuren com efeito no fenótipo

Gene hemizigoto e efeito no fenótipo	Probabilidade de efeito	Fonte de dados
FZD9 <i>Osteopenia</i>	Possível	Modelos em ratos
BAZ1B <i>Hipercalcemia, malformações cardíacas</i>	Possível	Modelos em ratos
STX1A	Possível	Modelos em ratos,

<i>Tolerância diminuída a glicose</i>		populações humanas
ELN	Definida	Modelos em ratos, populações humanas e deleções atípicas
<i>Arteriopatia com estenoses vasculares, hipertensão, hipertrofia de músculo liso vascular</i>		
<i>Pele macia com envelhecimento precoce, disfonia, hérnias inguinais</i>	Provável	Populações humanas
<i>Dismorfologia facial</i>	Possível	Populações humanas
LIMK1		
<i>Habilidades viso-espaciais diminuídas</i>	Possível	Modelos ratos, deleções atípicas
CLIP2		
<i>Habilidades viso-espaciais e motoras diminuídas</i>	Possível	Modelos ratos, deleções atípicas
GTF2I		
<i>Anormalidades craniofaciais, anomalias dentárias, crescimento retardado, anormalidades de comportamento, deficiência intelectual, diminuição da espessura da retina, respostas deficientes visuais</i>	Possível	Modelos ratos, deleções atípicas
NCF1		
<i>Risco reduzido de hipertensão</i>	Possível	Mapeamento fino da região do gene da SW

Fonte: Shubert C. The genomic basis of the Williams-Beuren syndrome. Cell Mol Life Sci. 66 (2009) p. 1178-1197

REFERÊNCIAS DA REVISÃO DE LITERATURA

1. Tos M. Upon the relationship between secretory otitis in childhood and chronic otitis and its sequelae in adults. *J Laryngol Otol*, 1981.95(10):1011-22.
2. Tos M, Pulsen G. Attic retractions following secretory otitis. *Acta Otolaryngol*, 1980.86(5-6): 479-86.
3. Edelstein DR, Cholesteatoma in the pediatric age group. *Ann Otol rhinol Laryngol*, 1988. 97(1): 23-29.
4. Lim, DJ. Human tympanic membrane. An ultrastructural observation. *Acta Otolaryngol*, 1970. 70 (3):176-86
5. Chole, R, Kodama K. Comparative histology of the tympanic membrane and its relationship to cholesteatoma. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1989; 98: 761-766
6. Hentzer, E. Ultrastructure of the human tympanic membrane. *Acta Otolaryngol*. 1989. (98)10:761-6
7. Alberti, PW. Epithelial migration on the tympanic membrane. *J Laryngol Otol*. 1964. 78: 808-30
8. Litton WB. Epithelial migration over the tympanic membrane and external canal. *Arch Otolaryngol*. 1963. 77: p. 254-7
9. Stinson WD. Reparative process in the membrane tympani. *Arch Otolaryngolo (Chic.1936)*. 24, 600,
10. Kakoi H, Anniko M, Petterson CA. Auditory epithelial migration: Macroscopic evidence of migration and pathways in rat. *Acta otolaryngol*, 1996. 116(3): 435-8
11. Lim DJ. Tympanic membrane. Electron microscopic observation: pars tensa. *Acta Otolaryngol*, 1968. 66(3): 181-98
12. Shimada T, Lim DJ. The fiber arrangement of human tympanic membrane. A scanning electron microscopic observation. *Ann Otol Rhinol Laryngol*, 1971. 80(2): 210-7
13. Secondi U. Structure and function of the lamina propria of the tympanic membrane in various mammals. *AMA Arch Otolaryngol*, 1951. 53(2):170-81
14. Kawabata I, Ishii I. fiber arrangement in the tympanic membrane. Scanning electronmicroscope observations. *Acta Otolaryngol*. 1971. 72(4):243-54

15. Miller EJ, The structure of fibril-forming collagens. *Ann N Y acad sci*, 1985.460:1-13
16. Hussl BTR, Lim D, Ginzl M, Wick GG. Immunohistochemical analysis of connective tissue components in tympanosclerosis. *Recent Advances in otitis media Proceedings of the Forth International Symposium*. Editors Lim D, Bluestone CD, Klein JO, Nelson JDB. 1988: 402-406.
17. Widemar L. An overlooked site of tissue mast cells – the human tympanic membrane. Implications for middle ear affections. *Acta otolaryngol*. 1986. 102(5-6):391-5
18. Lim DJ. Tympanic membrane. Part II. Electron microscopic observation. Pars Flaccida. *Acta otolaryngol*. 1968. 66(6):.515-32
19. Lim DJ. Structure and function of the tympanic membrane: a review. *Acta Otorhinolaryngol Belg*. 1995. 49(2): 101-15
20. Zimmer WM, Rosin DF, Saunders JC. Middle-ear development. VI: Structural maturation of the rat conducting apparatus. *Anat Rec*. 1994. 239(4):475-84
21. Sade J. Middle ear mucosa. *Arch otolaryngol*. 1966.84(2): 137-43
22. Lim DJ. Functional morphology of the mucosa of the middle ear and the Eustachian tube. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 1976 85 (2 Suppl 25 pt 2): 36-43
23. Albiin n et al. middle ear mucosain rats and humans. *Ann Otol Rhinol Laryngol Suppl*. 1986. 126:p. 2-15
24. Hamberger CA, Wersaell J. Vascular supply of the tympanic membrane and the ossicular chain. *Acta Otolaryngol Suppl*. 1964.188:55-57
25. Saini VK. Vascular pattern of human tympanic membrane. *Arch Otolaryngol*. 1964.79:p193-6
26. Schmidt SH, Hellstrom S. tympanic membrane structure new views. A comparative study. *ORL J Otorhinolaryngolol Relat Spec*. 191. 5(1): 32-6
27. Ars BM. Tympanic membrane retraction pockets. Etiology, pathogeny, treatment. *Acta Otorhinolaryngol Belg*. 1991.45(3):265-77
28. Yoon TH et al. Pathology and pathogenesis of tympanic membrane retraction. *Am J Otolaryngol*. 1990. 11(1):10-7
29. Tos M et al. Spontaneous course of secretory otitis and changes of the eardrum. *Arch Otolaryngol*. 1984 110(5): 281-9

30. Costa SS, Cruz OLM, Oliveira AJ. Otorrinolaringologia: princípios e prática. 2 ed. Artmed 2006 254-70.
31. Foseni M, Bagger-Sjoberg D, Hultcrantz M. A study of inflammatory mediators in the human tympanosclerotic middle ear. Arch Otol Head Neck. 2001;559-564.
32. Ruah CB, Schachern PA, Paparella MM, Zelterman D. Mechanisms of retraction pocket formation in the pediatric tympanic membrane. Arch Otolaryngol Head Neck Surg. 1992; 118: 1298-1305
33. Luntz M, Fuchs C, Sade J. Correlation between retractions of the pars flaccid and the pars tensa. J Laryngol otol. 1997. 111(4):322-4.
34. Magnusson B and Falk B. Diagnosis and management of Eustachian tube malfunction. Otolaryngol Clin North Am. 1984 17 (4): 659-71
35. Magnusson B. Tubal closing failure in retraction type cholesteatoma and adhesive middle ear lesion. Acta Otolaryngol. 1978. 86(5-6): 408-17
36. Jackler RK, Blevins NH, Nguyen-Hunyh A. A New Theory on the Pathogenesis of Acquired Cholesteatoma. Draft 9/14/05. jackler@stanford.edu
37. Sade J. Atelectatic tympane membrane: histologic study. Ann otol Rhinol Laryngol. 1993. 102(9):712-6
38. Sade J, Fuchs C, Luntz, M. Shrapnell membrane and mastoid pneumatization . Arch Otolaryngol. Head Neck Surg 1997 123, 6: 584-588.
39. Yoon TH, Schachern PA, Paparella MM, Aeppli DM. Pathology and pathogenesis of tympanic membrane retraction. Am J Otolaryngol. 1990 Jan-Feb;11(1):10-7.
40. Schachern P, Cureoglu S, Tsuprum V, Paparella MM, Whitley C. Age-related functional and histopathological changes of the ear in the MPS I mouse. Int J Pediatr otorhinolaryngol. 2007 ; 71 (2): 197-203.
41. Yan SD, Qiu ZM, Zhou NS. Ultrastructure of the secondary tympanic membrane in the human fetus. Acta Anat 1988; 131(4): 332-7
42. Knutsson J. Morphology and biochemistry of the timpanic membrane in relation to retraction pathology. Thesis for doctoral degree. 2010. <http://diss.kib.ki.se/2010/978-91-7409-842-6/thesis.pdf>

43. Stenfeldt K, Johansson C, Hellstrom S. The collagen structure of the tympanic membrane. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 2006;132:293-298
44. Hiraide F, Sawada M, Inouye T, Miyakogawa N, Tsubaki Y. The fiber arrangement of pathological human tympanic membrane 226, 93-99 (1980):93-99
45. Ruah, C, Schachern PA, Zeltermann D, Paparella MM, Yoon TH. Age-related morphologic Changes in the human tympanic membrane. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 1991; 117: .627-634.
46. Bonzon N, Carrat X, Deminière C, et al. New artificial connective matrix made of fibrin monomers, elastin peptides and type I + III collagens: structural study, biocompatibility and use as tympanic membranes in rabbit. *Journal Article Research Support, Biomaterials,* 1995 Jul;16(11):.881-5
47. Kim S, Esquivel CR, Grafenberg MR. Use of elastin patch for repair of traumatic tympanic membrane perforation in chinchillas. *Otolaryngology - Head and Neck Surgery* Volume 131, Issue 2, August 2004, : 281-284
48. Pober BR. Williams-Beuren Syndrome. *N Engl J Med.* 362:3. January 21, 2010.
49. Shubert C. The genomic basis of the Williams-beuren syndrome. *Cell Mol Life Sci.* 66 (2009). 1178-1197
50. Morris CA. The Behavioral phenotype of Williams Syndrome: A recognizable pattern of neurodevelopment. *Am J Med Genet Part C.* 2010. 154C:427-431
51. <http://www.swbrasil.org.br/>
52. Nigam A, Samuel PR. Hyperacusis and Williams syndrome. *J Laryngol Otol.* 1994 Jun;108(6):494-6
53. Johnson LB, Comeau M, Clarke KD. Hyperacusis in Williams syndrome. *J Otolaryngol.* 2001 Apr;30(2):90-2
54. Levitin DJ, Cole K, Lincoln A, Bellugi U. Aversion, awareness, and attraction: investigating claims of hyperacusis in the Williams syndrome phenotype. *J Child Psychol Psychiatry.* 2005 May;46(5):514-23
55. Gothelf D, Farber N, Raveh E, Apter A, Attias J. Hyperacusis in Williams syndrome: characteristics and associated neuroaudiologic. abnormalities. *Neurology.* 2006 Feb 14;66(3):390-5

6. OBJETIVOS

Avaliar a associação entre anormalidades da elastina e retrações da membrana timpanica comparando a otoscopia de pacientes portadores de Síndrome de Williams com a de pacientes sem a síndrome.

7. HIPÓTESE OPERACIONAL

A diminuição quantitativa de elastina identificada na Síndrome de Williams poderia demonstrar maior prevalência de retrações da membrana timpânica e com isto caracterizar o papel da elastina nestes quadros.

8. ARTIGO EM INGLÊS

Running title:

Association between elastin deficit and tympanic membrane retractions: A compared cross sectional study in patients with Williams Syndrome

Marcelo Wierzynski de Oliveira MD^{1,2}, Joel Lavinsky, MD, MS^{1,2}, Marcel Machado Valerio, MB³,
Têmis Maria Félix, MD PhD⁴, Luiz Lavinsky, MD, MSC PhD^{1,2}

¹ Graduate Program in Medicine: Surgical Sciences, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil

² Otolaryngology Service, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, RS, Brazil

³ School of Medicine, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil

⁴ Medical Genetics Service, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, RS, Brazil

Corresponding author:

Marcelo Wierzynski de Oliveira

Rua Monteiro Lobato, 114

CEP 90620-270, Porto Alegre, RS, Brazil

Telephone/fax: +55 51 32076832

E-mail: mwo18@hotmail.com

ABSTRACT

Objective: Compare the results found in the otoscopic exam of Williams syndrome patients and participants without the syndrome, by establishing an association between abnormalities in elastin and retractions of the tympanic membrane.

Study design: Compared cross-sectional study.

Setting: Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Otolaryngology Service - a tertiary care university hospital in Southern Brazil.

Patients: Patients with a definite diagnosis of Williams Syndrome and controls.

Evaluation: Digital otoscopic evaluation of patients with Williams Syndrome, controls and classification of tympanic membrane retraction by two evaluators.

Main outcome measure: Prevalence of retractions in both groups.

Results: The raters agreement was 71.1% for the retraction of *pars tensa* and 65% for *pars flaccida* ($p < 0.001$). The retraction of *pars tensa* and *pars flaccida* showed in patients presenting with Williams syndrome an adjusted residue of respectively -2.8 and -2.6 ($p = 0.011$ and $p = 0.022$) compared to the patients without the syndrome.

Conclusions: In this study tympanic membrane retractions were not significantly prevalent in patients presenting with elastin abnormalities.

Keywords: Williams Syndrome, retraction of the tympanic membrane, elastin, chronic media otitic.

INTRODUCTION

The retraction of the tympanic membrane (TM) is the result of middle ear negative persistent pressure, which many authors believe to be a sequel from previous episodes of otitis media, especially from secretory otitis media with long duration¹⁻⁴.

The pathogenic theory of the *continuum* refers to the idea of an initial triggering factor leading to a functional or mechanical tube dysfunction, which due to its persistence would lead to a negative intratympanic pressure and to a reaction of the subepithelial space with thickening and vasodilation caused by the vacuum followed by a plasma extravasation to the middle ear⁵.

Such persistence, associated to the subepithelial changes of the mucosa and to the prolonged hypoxia would lead to mucosal metaplasia, which would actively secrete a mucoid fluid. It would be possible a spontaneous resolution by medical therapy or a progression to TM retraction. However, even cases which come to reach an otitis resolution, some middle ear disorders can remain and compartmentalize the middle ear in "islands" that would remain hypoventilated despite the reestablishment of the tube function.

All these disorders could lead to a localized or diffuse suffering of TM and favoring its atrophy and retractions, especially in its flaccid portion, known to be more fragile. Thus, initially there would be the formation of retraction pockets whose deep portions would lose their self-cleaning functions generating an exfoliated keratin accumulation and a retraction growth towards the middle ear, that is, the formation of the primary cholesteatoma^{5,6}.

Another theory for the tympanic retractions is based on an auditive tube persistently open. In an attempt to close it to alleviate the discomfort by filling the air, the patient would develop a sniff repetitive behavior leading to repeated barotrauma to the TM resulting in weakening predisposing to tympanic retractions⁷⁻⁸. In an attempt to close it to ease the filling air discomfort, the patient develops a sniff repetitive behavior leading to repeated barotrauma in TM. Such action promotes TM weakening and a predisposition to tympanic retractions⁷⁻⁸.

Jackler and col⁹ in a more recent theory, not published yet (personal communication), suggest that the negative pressure in the middle ear could cause the initial retraction of the TM, but the mucosal contact of the medial portion of the TM along with the ossicular lateral portion would create a mucosal contact area

where there would be a retraction of the TM with migration of the normal mucosa, resulting on an early retraction pocket, considering the pathology of tympanic membrane retraction and cholesteatoma as a disease of the middle ear mucosa.

The role of elastin in the tympanic retractions and in the genesis of cholesteatoma has been studied by several authors, in conjunction with the other components that comprise the tympanic membrane, such as collagen, fibroblasts, macrophages and inflammatory mediators^{1,10-13}.

Knutsson¹⁴ in his doctoral thesis in 2010 evaluates the morphology and biochemistry of TM in relation to tympanic retractions, by mentioning only the collagen types 1-4 disorders. The author details the distribution of collagen by microscopic examination of 11 adult TM biopsies, suggesting collagen type II to be the main component of pars tense. He also suggests collagen type III dominates the innermost layer of the MT. There is no reference about elastin throughout his thesis. Stenfeld and cols¹⁵, as well, describes all the collagen structure of the tympanic membrane without mentioning elastin.

Varied TM compositions have also been described in animal species, evidencing its various compositions thereof with different amounts of elastin in the species. It was not found a correlation with the propensity to cholesteatomas¹⁶. Hiraide¹⁷ and colleagues have demonstrated the fiber disorganization of TM by electron microscopy, due to inflammation processes, without quantifying or specifying the type of fibers.

TM alterations in composition, thickness and cellularity in humans related to age have been shown by Ruah et al¹⁸, but with no correlation to TM retraction. Yan et al¹³ have correlated the components of the middle layer focused on hearing physiology more than on retractions, while Ruah and colleagues¹², in othe studys, have assigned the persistence of mesenchyme, inflammation and changes in collagen and elastin the possible origin of the TM retraction disease. They theorized that the delay in absorption and differentiation of mesenchyma could be responsible for the maturation inability of elastin fibers in TM. It seems that the inflammation would make the mesenchyme to persist in the middle ear which, in turn, would delay or disrupt the normal elastin fibers development in the TM¹².

Considering the paucity of research on the association of the elastin role and TM retraction, we've pursued a model that could delineate the role of elastin whether it is implied or not in the retraction pathology of tympanic membrane.

Williams Syndrome - a pathology which shows an alteration in the elastin gene on chromosome 7 with hemizigose of ELN gene (that is, when a member of the gene pair is present instead of the usual two genes) and that leads to phenotypic cardiovascular, changes, as well as to ENT, neurological and endocrine changes - were chosen for the present otologic evaluation to analyse if the quantitative decrease of elastin could lead a higher prevalence of TM retractions.

MATERIALS AND METHODS

An observational, cross-sectional, controlled study was performed in the department of Otolaryngology at Hospital de Clinicas de Porto Alegre (HCPA). The study was approved by the Ethics Research Committee of the Hospital de Clinicas de Porto Alegre. All patients had signed a informed consent for participating of the study ensuring total confidentiality of information. As for patients under legal age, their representatives signed the informed consent. The sample size calculation was performed by SPSS software, 1.8 version, in order to detect a prevalence difference of 20% in the retractions between the two groups. The sample size that reached this difference – reaching 80% of efficiency and 5% of statistic significance - consisted of 63 patients, 21 from the study group and 42 from the control one.

Inclusion criteria:

Due to the rarity of patients with Williams Syndrome (WS), all possible participants with the syndrome were included in the study. Patients in the study group were selected according the two methods that follow:

1) All patients who had been registered at the records of the Department of Medical Genetics, Hospital de Clinicas de Porto Alegre with this diagnosis were invited to participate in the study

2) We contacted Brazilian Association of Williams Syndrome (ABSW)¹⁹ and got from its president the contact of patients with SW in Rio Grande do Sul State. All contacts, apart from two of them, accepted to participate. All patients from the Genetics of HCPA were also registered in ABSW.

All patients were included regardless their age, gender, or clinical condition.

The control group was composed by patients and bystanders of in Pediatric Outpatient unit of HCPA, all invited to participate in the study and selected by approximate age and sex to the study group

(pairing). These patients had no diagnosis with Williams Syndrome or other genetic syndromes and no symptoms or diagnosis of chronic ENT diseases as well. These patients were in the outpatient unit for pediatrics assistance or as accompanying another family member . They had no family relation at all to the study group.

Exclusion criteria:

In the control group patients with mental changes that hindered ENT examination and patients with any familiar relation with the study group should be excluded. Patients with a history of chronic ear disease or multiple ear surgeries were also excluded.

In the study group no patient was excluded.

Collecting and analysing data

The data were collected from march 2012 to july 2013.

All patients underwent the same sequence of data collection, after signing the consent form:

- Consultation with ENT doctor at the Otolaryngology Outpatient Service and data collection;
- Digital record of the patient's otoscopy scanned with high resolution optic of zero degrees, brand Storz, 4 mm and recording in Sony DVD for further evaluation of their alterations.

All images were evaluated by two experienced otolaryngologists, blind to the diagnosis of Williams Syndrome and with no communication between them, that is, blind to each other, as well. The evaluators used Tables 1 and Figures 1 and 2 to obtain homogeneous and non-subjective criteria and to ensure the study reproducibility.

Table 1. Staging of retractions of tympanic membrane^a

Level or type	<i>Pars tensa</i>	<i>Pars flaccida</i>
	Retraction of the TM without adherence	
1	to the small bones	Small retraction, without ossiculous
	Retraction of the TM with adherence to	
2	the small bones	Deeper retraction that make contact with the hammer handle
	Total retraction of the TM to the	
3	promontory, without adherences.	Retraction pocket with bone erosion
	Total retraction of the TM to the	
4	promontory, with adherences	Deeper bone erosion (aticotomy and lysis of the head of the hammer)
5	Levels 3 and 4 with perforation of TM	

^a Sadé et al.²⁰ e Tós et al¹⁰.

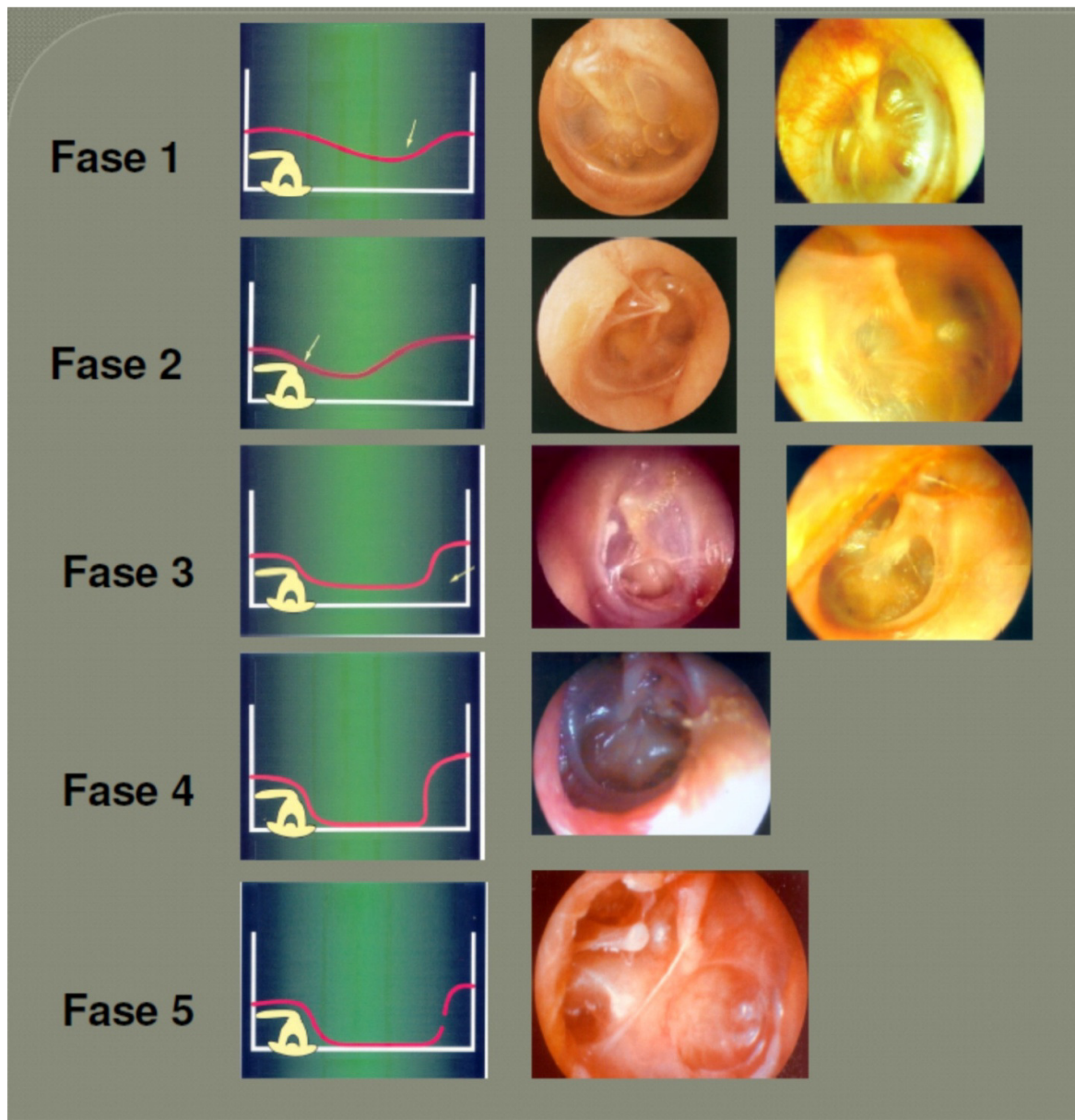


Figure 1. Staging of *pars tensa* of the tympanic membrane²⁰

Source: Dr. Luiz Lavinsky personal files.

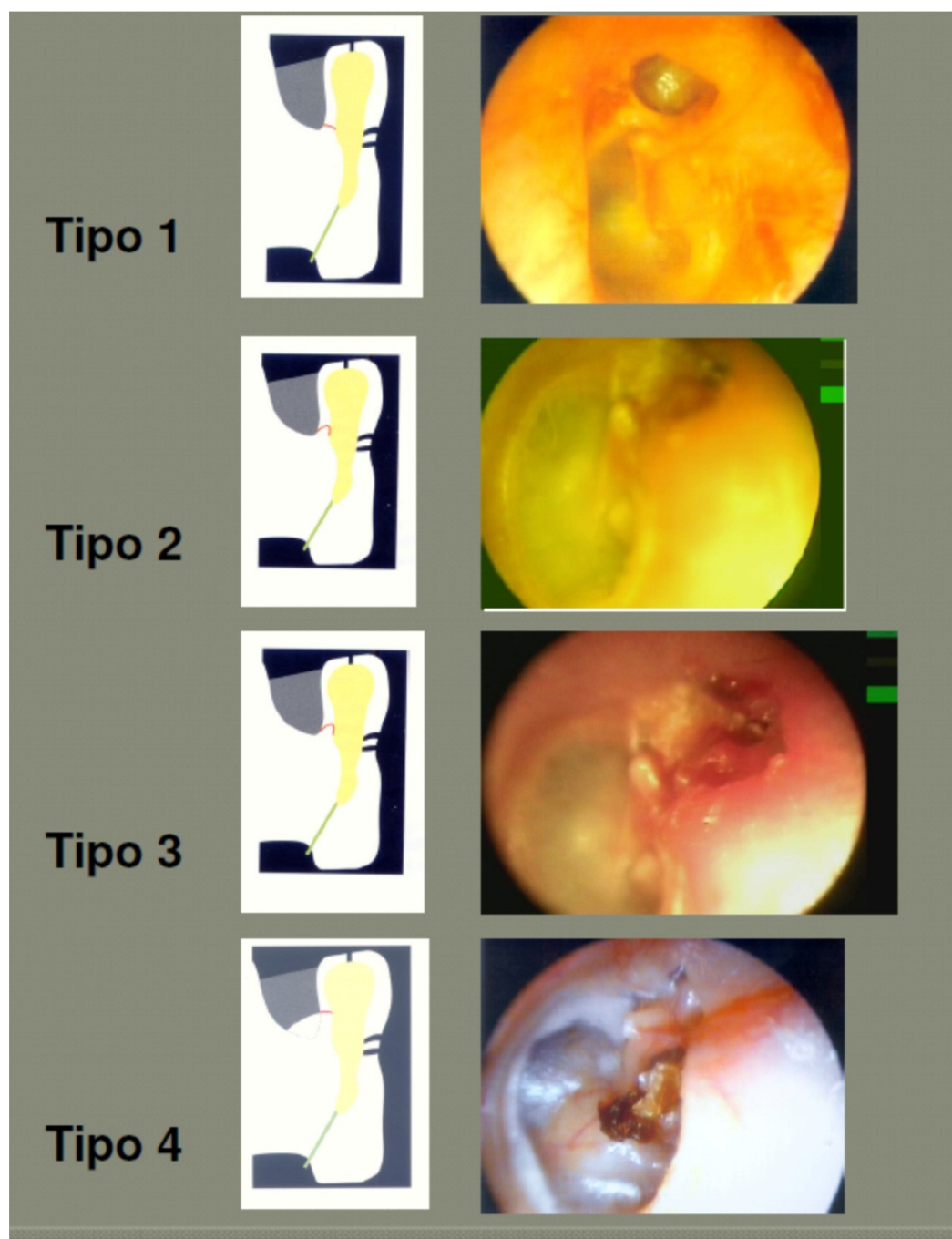


Figure 2. Staging of retractions of *pars flaccida* of tympanic membrane Tós (1980)¹⁰.
Source: Dr. Luiz Lavinsky personal files

Statistical Analysis

All data were stored in Microsoft Excel 2007 software and later analyzed by SPSS software, version 1.8 (SPSS Inc, Chicago, USA).

The stratified data of retractions were grouped so as to be ranked in the presence or absence of retractions due to the small number of patients in the study group, but were considered stratified to check agreement between raters.

After classification of retractions, the agreement level reached by the raters was evaluated using kappa test for Sadé et al²⁰ and Tos et al¹⁰ classification. We evaluated their agreement taking into account the presence or absence of Williams Syndrome.

The Mann-Whitney tests were used for categorical data and the Student t test for continuous variables for characterizing groups. The kappa index was used to assess agreement between raters and the chi-square test with correction continuity for comparing the proportions of retractions between raters and between groups.

RESULTS

A total of 87 patients were examined, 22 patients with Williams Syndrome and 65 control patients. One patient with Williams Syndrome declined to participate the study.

A total of 174 ears were examined and only one excluded, a ear of a patient with Williams Syndrome with the presence of intense swelling and external peeling in the auditory canal that prevented the visualization of the tympanic membrane properly. So 43 ears of patients with WS were evaluated and 130 control patients ears. One ear of the control group presented a simple perforation of the tympanic membrane in pars tense, and it was included in the analysis but not classified.

PATIENTS FEATURES

The groups were similar to each other as shown in Table 2. There were significant differences related to patients' otologic problems history. Patients with Williams syndrome showed a prevalence of 50% versus 25% of patients without the syndrome (p-value 0.032). There were also

differences in the prevalence of hearing difficulties in 23% of patients with WS and 2% in the normal group (p-value 0.004).

Table 2. Groups characteristics

Variables	Control n=67 n (%) or average	Williams n=22 n (%) or average	p (Lower limit - Upper Limit)
Female	31 (48%)	6 (27%)	0,135 (0,135-0,143)*
Age	12,66	12,73	0,974 μ
Otologic Problems	16 (25%)	11 (50%)	0,032 (0,028-0,037)*
Nasosinusal Problems	15 (23%)	6 (27%)	0,768 (0,758-0,779)*
Hearing difficulties	1 (2%)	5 (23%)	0,004 (0,002-0,005)*
Familiar History †	10 (15%)	3 (14%)	>0,999 *
Previous Altered Rhinoscopy €	14 (21%)	6 (27%)	0,692 (0,680-0,704)*

*Mann-Whitney

μ student test t

† Positive family history regarding ENT problems

€ Sum of inferior turbinate hypertrophy and obstructive septal deviation

AGREEMENT BETWEEN EVALUATORS

After retractions classification, the agreement among raters with the use of Kappawas evaluated test for classifying Sadé et al²⁰ and Tos et al¹⁰. The correlation was evaluated taking into account the presence or not of Williams syndrome.

It was found that in the classification of *pars tensa* retractions (Sadé 1997)²⁰ the agreement between the two raters reached 68.6% for normal patients, 78.8% (p <0.001) in patients with Williams syndrome and 71.1% (p <0.001) when data was grouped and analyzed, with kappa values 0,686, 0,788 and 0,711 (p<0,001), respectively.

In the classification of *pars flaccida* retractions (Tós 1980)¹⁰ the agreement between the two raters reached 64.8% for normal patients, 48.2% (p <0.001) in patients with Williams syndrome and 65% (p-value <0.001) when the presence of WS was not taken into account for the classification, with kappa values 0,648, 0,482 and 0,65 (p<0,001), respectively.

RETRACTIONS OF THE TYMPANIC MEMBRANE

The comparison of the classification of retractions was performed individually by rater according to Sadé et al²⁰ and Tos et al¹⁰ classification. The analysis has also been performed using the raters agreement for retractions in both groups, control and target one, that is, with grouped consistent data. We used the chi-square test with continuity correction in order to avoid p-value underestimation.

***PARS TENSA* RETRACTIONS**

According to Sadé et al²⁰ classification, there was an adjusted residue of -3.2 for TM *pars tensa* retractions in patients with Williams syndrome (p= 0.003) for the first rater which means that in the presence of retractions of TM, it tends to the control group, and to the Williams syndrome group when there is normality.

According to Sadé et al²⁰ classification, for the second evaluator the adjusted residue was -2.8 for TM *pars tensa* retractions in patients with Williams syndrome (p= 0.009), repeating the same interpretation of the first evaluator . When raters agreed on the classification of retractions according to Sadé's rating, the adjusted residual was -2.8 for lack of retraction in patients with Williams syndrome (p= 0.011). The results lead us to the conclusion that, in the presence of *pars tensa* retractions of the tympanic membrane, the control group shows more evidences, and when in normality of TM the Williams syndrome group presents more evidences.

***PARS FLACCIDA* RETRACTIONS**

According to Tós et al.¹⁰ classification, there was an adjusted residue of -2.6 for TM *pars flaccida* retractions in patients with Williams syndrome (p= 0.017), which means that the presence of retractions of *pars flaccida* tends to be found in the control group more than in Williams syndrome group, and that in the presence of normality it happens in Williams syndrome group according to the first evaluator. Likewise, for the second evaluator the adjusted residue was -2.7 for TM *pars flaccida*

retractions in patients with Williams syndrome ($p= 0.013$). When the evaluators agree in retractions considering Tós classification, the adjusted residual reaches -2.6 for lack of retraction in patients with Williams syndrome ($p= 0.022$) which allows us to conclude that the presence of pars flaccida tympanic membrane retractions tends to be found within the control group and when it presents certain normality within the Williams Syndrome group.

DISCUSSION

The pathophysiology of the tympanic membrane retractions is complex. The main factors for its development are the pressure disfunctions of the middle ear that may be associated with Eustachian tube disfunctions,^{12,20}. Many authors believe that this negative pressure in the middle ear as a sequel of previous episodes of otitis media, specially secretory otitis media of long duration¹⁻⁴. Another theory for the tympanic retractions is based on an auditive tube persistently open. In an attempt to close it, to alleviate the discomfort due to air filling, the patient would develop a sniff repetitive behavior leading to repeated barotrauma in TM resulting in weakening that can predisposes timpanic retractions.⁷⁻⁸ Histologic studies of atelectasic tympanic membranes have shown the loss of collagen structure, thickness and hyperceratosis of covering epithelium²¹.

The role of elastin in the tympanic retractions and in the genesis of cholesteatoma has been studied by several authors in conjunction with the other components that comprise the tympanic membrane, such as collagen, fibroblasts, macrophages and inflammatory mediators^{1, 10-13} but none before this study have tried to isolate any of the other components to delimitate how much each one contribute in the process.

In this research the study group was formed by 22 patients of a low prevalence syndrome, whose occurrence is around 1/10000 persons²², the Williams syndrome that, with the homozigose of elastin gene there are a quantitative decrease of 50% or more of elastin in the constitution of all tissues²³⁻²⁴. With this study, it was possible to characterize the tympanic membranes of these patiens in reference of tympanic retractions.

The 50% prevalence related to the history of otologic problems in patients with Williams syndrome is consistent with the data found in the literature, but this high prevalence seems not having influenced to a greater number of otological alterations in this group of patients. Such otologic problems include complaints on hyperacusis - something very common among these patients, reaching 95% of them²²⁻²³ and uncommon in the general population.

During data collection, Rinne and Weber tests were performed in all patients, but due to the low reliability of SW group responses and of patients with early age in the control group, these data were not considered for the analysis.

Hearing was not assessed by audiometric testing in both groups because such results would flee from the research goal.

Raters showed concordance in the assessment, by reaching 65-71% in the identification of the presence of retractions, which is considered to be a meaning agreement, despite it may be a bit below of what could be named a perfect agreement which should be something around 0.8 and 1.00 according to Landis and Koch²⁷. Data evaluation shows a more rigid view or evaluation from the second evaluator when assessing retractions due to a higher prevalence of tympanic retractions in all groups regardless the presence of WS. This trial, considered more stringent, has influenced in the reduction on the raters agreement, but without favoring any special group as it occurred in both groups.

The results of the study indicated that patients with Williams syndrome do not present a greater tendency to retraction of the TM than the normal patients group because all the results related to normality (*pars tense* and *pars flaccida*) tended to the target group while the results corresponding to *pars tensa* and *pars flaccida* retractions tended to the control group.

This result antagonizes Ruah et al¹² theory, which theorized that the delay in absorption and differentiation of mesenchyma could be responsible for the inability of elastin fibers in the tympanic membrane get matured, and that this delay could be a risk factor to encourage the development of retraction pockets as soon as the mattress mesenchyma disappeared.

Thus, it seems that the elastin factor alone is not a risk factor for retraction pockets but the set of alterations generated by the inflammatory reaction in the tympanic membrane as mentioned for Foseni et al⁶, Schachern et al¹¹ and Ruah et al¹².

The results of the present study showed a higher and significant prevalence of retractions in the control group. The study also took into account the low average age of patients, around 12 years old, and the small number of patients in the study group for comparison, but this data agree with the study of Maw et al²⁸ in England in 2011, showing similar prevalences.

New studies where patients with Williams syndrome could have a otologic attendance and following of the middle ear alterations may help to elucidate how the quantitative decrease of the elastin, associated with other factors, could contribute in the genesis of the tympanic retractions.

In our compared study of patients with WS and normal subjects, we concluded that there weren't a significant prevalence of tympanic membrane retractions in patients with elastin deficit, therefore, elastin is not associated to tympanic retractions.

References:

1. Tos M. Upon the relationship between secretory otitis in childhood and chronic otitis and its sequelae in adults. *J Laryngol Otol*, 1981.95(10):p.1011-22.
2. Ars BM. Tympanic membrane retraction pockets. Etiology, pathogeny, treatment. *Acta Otorhinolaryngol Belg*. 1991.45(3):p.265-77
3. Yoon TH et al. Pathology and pathogenesis of tympanic membrane retraction. *Am J Otolaryngol*. 1990. 11(1):p.10-7
4. Tos M et al. Spontaneous course of secretory otitis and changes of the eardrum. *Arch Otolaryngol*. 1984 110(5):p. 281-9
5. Costa SS, Cruz OLM, Oliveira AJ. *Otorrinolaringologia: princípios e prática*. 2 ed. Artmed 2006 p. 254-70.
6. Forseni M, Bagger-Sjöbäck D, Hultcrantz M. A study of inflammatory mediators in the human tympanosclerotic middle ear. *Arch Otol Head Neck*. 2001;p.559-564.
7. Magnusson B, Falk B. Diagnosis and management of Eustachian tube malfunction. *Otolaryngol Clin North Am*. 1984 17 (4):p 659-71
8. Magnusson B. Tubal closing failure in retraction type cholesteatoma and adhesive middle ear lesion. *Acta Otolaryngol*. 1978. 86(5-6):p: 408-17
9. Jackler RK, Blevins NH, Nguyen-Hunyh A. A New Theory on the Pathogenesis of Acquired Cholesteatoma. Draft 9/14/05. jackler@stanford.edu
10. Tos M, Pulsen G. Attic retractions following secretory otitis. *Acta Otolaryngol*, 1980.86(5-6): p. 479-86.
11. Schachern P, Cureoglu S, Tsuprum V, Paparella MM, Whitley C. Age-related functional and histopathological changes of the ear in the MPS I mouse. *Int J Pediatr otorhinolaryngol*. 2007 feb; 71 (2): p.197-203.
12. Ruah CB, Schachern PA, Paparella MM, Zelterman D. Mechanisms of retraction pocket formation in the pediatric tympanic membrane. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. 1992; 118: p.1298-1305.

13. Yan SD, Qiu ZM, Zhou NS. Ultrastructure of the secondary tympanic membrane in the human fetus. *Acta Anat* 1988; 131(4): p.332-7
14. Knutsson J. Morphology and biochemistry of the tympanic membrane in relation to retraction pathology. Thesis for doctoral degree. 2010. <http://diss.kib.ki.se/2010/978-91-7409-842-6/thesis.pdf>
15. Stenfeldt K, Johansson C, Hellstrom S. The collagen structure of the tympanic membrane. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. 2006;132:p.293-298
16. Chole, R, Kodama K. Comparative histology of the tympanic membrane and its relationship to cholesteatoma. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1989; 98:p. 761-766
17. Hiraide F, Sawada M, Inouye T, Miyakogawa N, Tsubaki Y. *Arch Otorhinolaryngol* 226, 93-99 (1980)p:93-99
18. Ruah, C, Schachern PA, Zelterman D, Paparella MM, Yoon TH. Age-related morphologic Changes in the human tympanic membrane. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. 1991; 117: p.627-634.
19. <http://www.swbrasil.org.br/>
20. Sadé J, Fuchs C, Luntz, M. Shrapnell membrane and mastoid pneumatization . *Arch Otolaryngol. Head Neck Surg* 1997 v. 123, n.6 p. 584-588.
21. Sadé J. Atelectatic tympanic membrane: histologic study. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 1993. 102(9):p.712-6
22. Pober BR. Williams-Beuren Syndrome. *N Engl J Med*. 362:3. January 21, 2010.362(3):p.239-52
23. Shubert C. The genomic basis of the Williams-Beuren syndrome. *Cell Mol Life Sci*. 66 (2009) p. 1178-1197
24. Morris CA. The Behavioral phenotype of Williams Syndrome: A recognizable pattern of neurodevelopment. *Am J Med Genet Part C*. 2010. 154C:p.427-431
25. Nigam A, Samuel PR. Hyperacusis and Williams syndrome. *J Laryngol Otol*. 1994 Jun;108(6):p.494-6
26. Johnson LB, Comeau M, Clarke KD. Hyperacusis in Williams syndrome. *J Otolaryngol*. 2001 Apr;30(2):p.90-2
27. Landis JR, Koch GG. The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics* 1977; 33: p. 159-174

28. Maw AR, Hall AJ, Pothier DD, Gregory SP, Steer CD. The prevalence of tympanic membrane and related middle ear pathology in children: a large longitudinal cohort study followed from birth to age ten. *Otol Neurotol*. 2011 Oct;32(8):p.1256-61.

9. VERSÃO DO ARTIGO EM PORTUGUÊS

ASSOCIAÇÃO ENTRE DÉFICIT DE ELASTINA E RETRAÇÕES DA MEMBRANA TIMPÂNICA: UM ESTUDO TRANSVERSAL E COMPARADO EM PACIENTES PORTADORES DE SÍNDROME DE WILLIAMS

Marcelo Wierzynski de Oliveira MD^{1,2}, Joel Lavinsky, MD, MS², Marcel Machado Valério, MB³, Têmis Maria Félix, MD PhD^{3,4}, Luiz Lavinsky, MD, MSC PhD^{1,2,3}

1 Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Cirúrgicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil

2 Serviço de Otorrinolaringologia, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, RS, Brasil

3 Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil

4 Serviço de Genética Médica, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, RS, Brasil

Autor correspondente:

Marcelo Wierzynski de Oliveira

Rua Monteiro Lobato, 114

CEP 90620-270, Porto Alegre, RS, Brasil

Telefone/fax: +55 51 32076832

E-mail: mwo18@hotmail.com

RESUMO

Objetivo: Comparar os resultados encontrados no exame otoscópico em pacientes com síndrome de Williams e participantes sem a síndrome, a fim de estabelecer correlação entre anormalidades na elastina e retrações da membrana timpânica.

Desenho do estudo: Estudo de prevalência, controlado.

Local: Serviço de Otorrinolaringologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Pacientes: Pacientes com diagnóstico definitivo de Síndrome de Williams e controles.

Avaliação: Avaliação otoscópica digital de pacientes com Síndrome de Williams e controles, e classificação do grau da retração da membrana timpânica por dois avaliadores independentes.

Principal medida de desfecho: Concordância entre avaliadores, prevalência de retrações em ambos os grupos.

Resultados: A concordância entre os avaliadores foi de 71,1% para a retração da *pars tensa* e 65% para a retração da *pars flaccida* ($p < 0,001$). As retrações da *pars tensa* e da *pars flaccida* apresentaram um resíduo ajustado de -2,8 ($p = 0,011$) e -2,6 ($p = 0,022$), respectivamente, em paciente portadores da síndrome de Williams, em comparação com os pacientes sem a síndrome.

Conclusão: Neste estudo as retrações da membrana timpânica não foram significativamente prevalentes em pacientes com alterações na elastina.

Palavras-chave: Síndrome de Williams, retração da membrana timpânica, elastina, otite média crônica.

INTRODUÇÃO

A retração da membrana timpânica (MT) é resultado de uma pressão negativa persistente na orelha média. Muitos autores acreditam que tal pressão seja seqüela de episódios prévios de otites médias, especialmente otites médias secretoras de longa duração¹⁻⁴. A teoria patogênica do *continuum* postula que um fator desencadeante inicial levaria à disfunção tubária funcional ou mecânica, cuja persistência resultaria em pressão intratimpânica negativa e em reação do espaço subepitelial, com espessamento e vasodilatação causados pelo vácuo e seguidos do extravasamento de plasma para a orelha média⁵, levando ao sofrimento localizado ou difuso da MT. Esse quadro favorece a atrofia da MT e facilita a ocorrência de retrações, em especial na porção flácida da membrana, sabidamente mais frágil. Com isso, inicialmente haveria a formação de bolsas de retração, que, na sua profundidade, perderiam a capacidade de autolimpeza, gerando um acúmulo de queratina exfoliada e o crescimento da retração em direção à orelha média, ou seja, a formação do colesteatoma primário^{5,6}.

Outra teoria proposta para explicar o desenvolvimento das retrações timpânicas é baseada na abertura persistente da tuba auditiva. Na tentativa de fechá-la para aliviar o desconforto causado pelo enchimento de ar, o paciente desenvolveria um comportamento de fungar repetitivo, o que levaria a barotraumas repetidos na MT, resultando no seu enfraquecimento e na predisposição a retrações timpânicas^{7,8}.

Jackler et al.⁹, em teoria mais recente ainda não publicada (informação pessoal), propõe que a pressão negativa na orelha média poderia causar a retração inicial da MT, mas o contato da mucosa da porção medial da MT com a porção lateral dos ossículos criaria uma área de contato mucoso onde, com a migração normal da mucosa, ocorreria a retração da MT e a formação de uma bolsa de retração. Com isso, a patologia da retração da MT e do colesteatoma passaria a ser tratada como uma doença da mucosa da orelha média.

O papel da elastina nas retrações timpânicas e na gênese do colesteatoma foi estudado por vários autores, sempre em conjunto com os demais componentes que compõem a MT, tais como colágeno, fibroblastos, macrófagos e mediadores inflamatórios^{1,10-13}.

Knutsson¹⁴, em sua tese de doutorado defendida no ano de 2010, avalia a morfologia e a bioquímica da MT em relação às retrações timpânicas, citando somente as alterações nos colágenos tipos 1 a 4. O autor detalha a distribuição do colágeno após análise microscópica de 11 biópsias de MT de adultos, apontando como o principal componente da *pars tensa* o colágeno tipo II. Também concluiu que a camada mais interna da MT é dominada pelo colágeno tipo III. Não há nenhuma citação à elastina em toda a sua tese. Da mesma forma, Stenfeldt et al.¹⁵ descrevem toda a estrutura de colágeno da MT sem citar a elastina.

Também foram descritas as diferentes composições da MT em espécies animais, cada uma com quantidades diferentes de elastina, não sendo encontrada correlação com a propensão a colesteatomas¹⁶. Hiraide et al. demonstraram, através de microscopia eletrônica, a desorganização das fibras da lâmina própria em MTs que sofreram processos inflamatórios, sem quantificar ou especificar o tipo de fibras¹⁷. A alteração da composição, espessura e celularidade da MT de humanos em função da idade foi demonstrada por Ruah et al.¹⁸, mas esses autores não estabeleceram uma correlação entre tais achados e retrações da MT. Yan et al.¹³ demonstraram que havia uma correlação mais forte entre os componentes da camada média e a fisiologia da audição do que entre tais componentes e retrações, enquanto Ruah et al.,^{5,12} em outros trabalhos, atribuíram à persistência de mesênquima, à reação inflamatória e a mudanças no colágeno e elastina a possível origem dos quadros de retração da MT. Eles teorizaram que o atraso na reabsorção e diferenciação do mesênquima poderia ser responsável pela incapacidade de maturação das fibras de elastina na MT. Aparentemente, a inflamação levaria à persistência do mesênquima na orelha média, o que por sua vez atrasaria ou romperia com o desenvolvimento das fibras de elastina normais na MT¹².

A síndrome de Williams (SW) é uma patologia em que há alteração no gene responsável pela produção da elastina no cromossomo 7, o qual está em hemizigose, ou seja: somente um membro do par de genes está presente, em vez dos usuais dois genes. Essa alteração leva à diminuição quantitativa da elastina e a alterações fenotípicas cardiovasculares, otorrinolaringológicas, neurológicas e endócrinas²⁴.

Tendo em vista a escassez de estudos abordando o papel isolado da elastina, buscou-se um modelo de estudo que conseguisse delimitar o papel da elastina, ou seja, se ela estaria ou não envolvida no desenvolvimento da retração da MT. Com esse intuito, pacientes com SW foram escolhidos para avaliação otológica, a fim de analisar se a diminuição quantitativa de elastina identificada na SW poderia levar a uma maior prevalência de retrações da MT, e com isso caracterizar o papel da elastina nesse tipo de retração.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foi realizado um estudo observacional, transversal, comparado, no Serviço de Otorrinolaringologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA). O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do HCPA, e todos os participantes assinaram termo de consentimento informado, garantindo total sigilo das informações. No caso de pacientes menores de idade, seus representantes legais assinaram o consentimento informado.

O cálculo do tamanho amostral foi realizado pelo *software* WinPepi, versão 11.24 para detectar uma diferença de 20% na prevalência de retrações entre os grupos. O tamanho amostral para detectar essa diferença com poder de 80% e significância estatística de 5% foi de 63 pacientes, 21 no grupo de estudo e 42 controles. Foram avaliados 87 pacientes (174 orelhas), sendo 22 (44 orelhas) com SW e 65 (130 orelhas) sem a síndrome.

Crítérios de inclusão

Devido à raridade da SW, todos os portadores da síndrome encontrados foram incluídos no estudo. Os pacientes do grupo estudado foram selecionados por dois métodos:

1) Todos os pacientes com diagnóstico de SW que faziam parte do cadastro do Serviço de Genética Médica do HCPA foram convidados a participar do estudo. Entre os pacientes localizados, somente um não quis participar do estudo. Foram alocados 16 pacientes provenientes do ambulatório de Genética do HCPA.

2) Foi feito contato com a Associação Brasileira de Síndrome de Williams (ABSW)¹⁹, a qual, através de sua presidente, forneceu o contato de pacientes portadores da SW no estado do Rio Grande do Sul. Todos os contatos localizados foram convidados a participar, e dentre esses, somente dois não desejaram participar do estudo. Todos os pacientes do ambulatório de Genética do HCPA também estavam cadastrados na ABSW. Através da ABSW, foram incluídos mais seis pacientes.

Todos os pacientes foram incluídos, independentemente da sua idade, sexo ou condição clínica.

O grupo controle foi composto de pacientes do HCPA e acompanhantes localizados nas dependências do hospital, os quais foram convidados a participar do estudo e selecionados após pareamento por idade aproximada e sexo com o grupo estudado. Tais pacientes não apresentavam diagnóstico de SW ou outras síndromes genéticas nem sintomas ou diagnóstico de doenças otorrinolaringológicas crônicas, e não eram relacionados familiarmente aos pacientes do grupo estudado.

Crítérios de exclusão

No grupo controle, deveriam ser excluídos pacientes com alterações mentais que dificultassem o exame otorrinolaringológico e pacientes relacionados familiarmente com os do grupo estudado. Pacientes com história de doença otológica crônica ou múltiplas cirurgias otológicas também foram excluídos.

Não tornou-se necessário excluir nenhum paciente do grupo estudado.

Coleta e análise dos dados

Todos os pacientes passaram pela mesma sequência, após a assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido: consulta com médico otorrinolaringologista no ambulatório de Otorrinolaringologia do HCPA e coleta de dados antropométricos; e registro de imagem otoscópica em ótica de zero grau marca Storz de 4 milímetros de alta resolução e gravação em DVD marca SONY para posterior avaliação de suas alterações.

Todas as imagens foram avaliadas por dois médicos otorrinolaringologistas experientes na área otológica, que estavam cegos quanto ao diagnóstico de SW e sem comunicação entre eles, ou seja, cegos entre si. Os avaliadores utilizaram a tabela 1 e as figuras 1 e 2, que apresentam as classificações das retrações da MT^{10,20}, para obter critérios homogêneos e não subjetivos, a fim de se garantir a reprodutibilidade do estudo.

Tabela 1. Estadiamento das retrações da membrana timpânica^a

Fase ou tipo	<i>Pars tensa</i>	<i>Pars flaccida</i>
	Retração da MT, sem aderência aos	
Fase 1	ossículos	Ligeira retração, sem contato com o colo do martelo
	Retração da MT, com aderência aos	
Fase 2	ossículos	Retração mais profunda que contata com o colo do martelo
	Retração total da MT ao promontório,	
Fase 3	sem aderências.	Bolsa que não se pode visualizar o fundo, com erosão óssea
	Retração total da MT ao promontório,	
Fase 4	com o tímpano aderido ao mesmo	Erosão óssea mais marcada (aticotomia e lise da cabeça do martelo)
Fase 5	Fases 3 e 4 com perfuração timpânica	

^a Baseado em Sadé et al.²⁰ e Tós et al¹⁰.

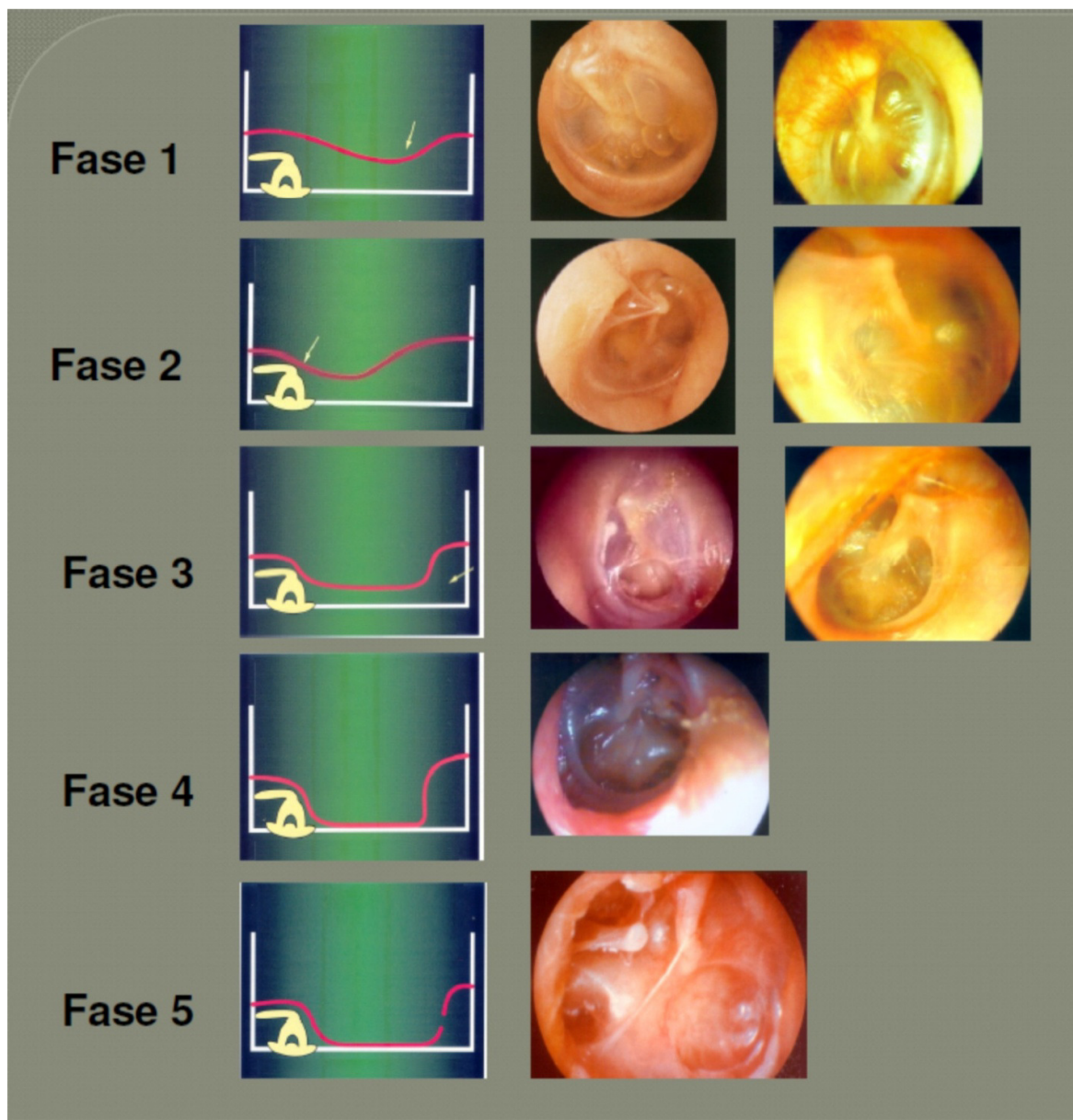


Figura 1. Estadiamento da *pars tensa* da membrana timpânica²⁰

Fonte: Arquivo pessoal do Dr. Luiz Lavinsky.

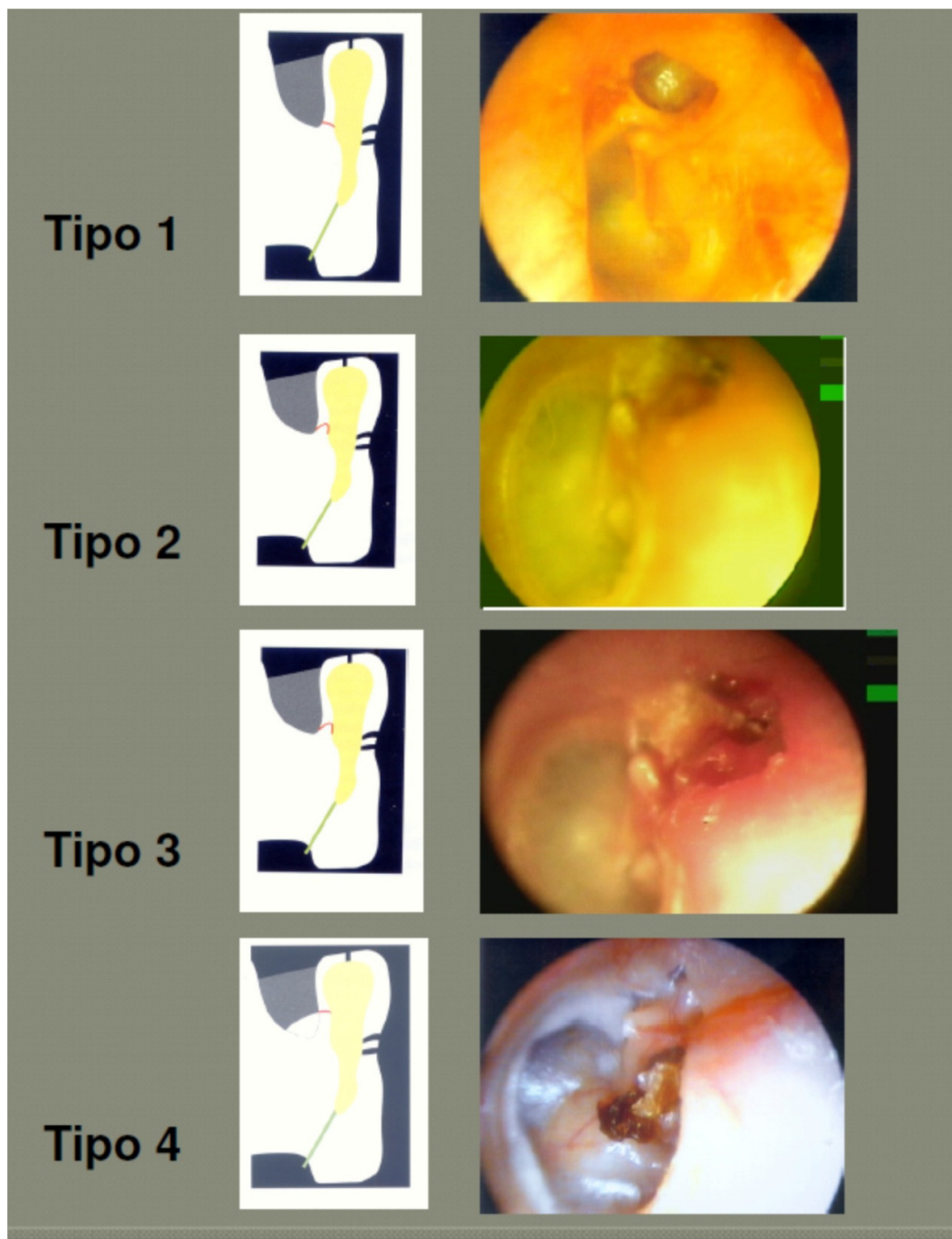


Figura 2. Estadiamento das retrações da *pars flaccida* da membrana timpânica Tós (1980)¹⁰.
Fonte: Arquivo pessoal do Dr. Luiz Lavinsky.

Análise Estatística

Todos os dados foram armazenados em software Microsoft Excel 2007 e posteriormente analisados através do *software* Social Package for Social Sciences (SPSS) versão 18 (SPSS Inc, Chicago, EUA). Para posterior análise estatística, os dados foram classificados segundo a presença ou não de retração, independentemente da fase ou tipo de retração apresentada. Após a classificação das retrações, foi avaliada a concordância entre os avaliadores para a classificação de Sadé et al.²⁰ e de Tós et al,¹⁰ através do teste de kappa. A comparação da classificação das retrações entre os grupos de estudo e controle, de acordo com a classificação de Sadé et al.²⁰ e de Tós et al.¹⁰, foi realizada individualmente para cada avaliador. Também foi realizada a análise usando-se somente os dados concordantes. Foi utilizado o teste de qui-quadrado com correção de continuidade de maneira a evitar a subestimação do valor p. O teste de Mann-Whitney foi utilizado para dados categóricos e o teste t de Student para as variáveis contínuas da caracterização dos grupos.

RESULTADOS

Foram examinados 87 pacientes, 22 deles com SW e 65 do grupo controle. Foram examinadas 174 orelhas, sendo excluída um caso de um paciente com SW devido à presença de intenso edema e descamação no conduto auditivo externo em uma das orelhas, o que impediu a visualização adequada da MT. Assim, foram avaliadas 43 orelhas de pacientes com SW e 130 orelhas de indivíduos controle. Uma orelha de um indivíduo do grupo controle apresentava perfuração simples da MT na *pars tensa*, e foi incluída na análise mas não classificada.

Homogeneidade entre os grupos

Os grupos estudados apresentaram-se semelhantes entre si, conforme a tabela 2. Houve diferenças significativas quanto ao histórico de problemas otológicos, com os pacientes portadores da SW apresentando uma prevalência de 50% contra 25% dos controles ($p=0,032$). Também houve diferença na prevalência de

relato subjetivo de dificuldades auditivas, que foi de 23% em pacientes com SW e de 2% no grupo controle ($p=0,004$). As dificuldades auditivas foram relatadas pelos pais ou pelo próprio paciente, dependendo da sua capacidade de expressão. O grau de amígdala palatina apresentou diferença de modo geral ($p=0,01$).

Tabela 2. Características dos grupos

Variáveis	Controle n=67 n (%) ou média	Síndrome de Williams n=22 n (%) ou média	p-valor (limite inferior-limite superior)
Sexo feminino	31 (48%)	6 (27%)	0,135 (0,135-0,143)*
Idade	12,66	12,73	0,974 μ
Problemas otológicos	16 (25%)	11 (50%)	0,032 (0,028-0,037)*
Problemas nasosinusais	15 (23%)	6 (27%)	0,768 (0,758-0,779)*
Dificuldades auditivas	1 (2%)	5 (23%)	0,004 (0,002-0,005)*
História familiar ^f	10 (15%)	3 (14%)	>0,999*
Rinoscopia anterior alterada [€]	14 (21%)	6 (27%)	0,692 (0,680-0,704)*

* Teste de Mann-Whitney

μ Teste t de Student

^f História familiar positiva para problemas otorrinolaringológicos

[€] Somatório de hipertrofia de cornetos inferiores e desvio septal obstrutivo

Concordância entre avaliadores

Após a classificação das retrações, foi avaliada a concordância entre os avaliadores utilizando-se a classificação de Sadé et al.²⁰ e de Tós et al.¹⁰, através do teste de kappa em todos os parâmetros do estudo.

Constatou-se que, na classificação das retrações da *pars tensa* de acordo com a classificação de Sadé et al.²⁰, a concordância entre os dois avaliadores foi de 68,6% para os indivíduos controle, de 78,8% para os

pacientes com a SW, e de 71,1% quando os dados foram analisados de forma agrupada, com kappa de 0,686, 0,788 e 0,711 ($p < 0,001$), respectivamente.

Na classificação das retrações da *pars flaccida* de acordo com a classificação de Tós et al.¹⁰, a concordância entre os dois avaliadores foi de 64,8% para os indivíduos controle, de 48,2% para os pacientes com SW, e de 65% para os dados agrupados, com kappa de 0,648, 0,482 e 0,65 ($p < 0,001$), respectivamente.

Retrações da MT

Retrações da pars tensa

Segundo a classificação de Sadé et al.²⁰, para o primeiro avaliador houve um resíduo ajustado de -3,2 para retrações da *pars tensa* da MT em pacientes com SW ($p = 0,003$), o que significa que, para o primeiro avaliador, na presença de retrações da *pars tensa* da MT, tende-se ao grupo controle, e quando esta apresenta-se normal, tende-se ao grupo com SW. Da mesma forma, para o segundo avaliador o resíduo ajustado foi de -2,8 para retrações da *pars tensa* da MT em pacientes com SW ($p = 0,009$), repetindo-se a mesma interpretação do primeiro avaliador. No grupo de pacientes em que os avaliadores concordaram quanto à classificação das retrações da *pars tensa* da MT, o resíduo ajustado foi de -2,8 para ausência de retração nos pacientes com SW ($p = 0,011$). Os resultados levam-nos a concluir que, na presença de retrações da *pars tensa* da MT, tende-se ao grupo controle, e quando esta apresenta-se normal, tende-se ao grupo com SW.

Retrações da pars flaccida

Segundo a classificação de Tós et al.¹⁰, para o primeiro avaliador houve um resíduo ajustado de -2,6 para retrações da *pars flácida* da MT em pacientes com SW ($p = 0,017$), o que significa que, para o primeiro avaliador, na presença de retrações da *pars flaccida* da MT, tende-se ao grupo controle, e quando a *pars flaccida* apresenta-se normal, tende-se ao grupo com SW. Da mesma forma, para o segundo avaliador o resíduo ajustado foi de -2,7 para retrações da *pars flaccida* da MT em pacientes com SW ($p = 0,013$),

repetindo-se a mesma interpretação do primeiro avaliador. Quando os avaliadores concordaram quanto à classificação das retrações da *pars flaccida* da MT, o resíduo ajustado foi de -2,6 para ausência de retração nos pacientes com SW ($p=0,022$), o que nos leva a concluir que, na presença de retrações da *pars flaccida* da MT, tende-se ao grupo controle, e quando esta apresenta-se normal, tende-se ao grupo com SW.

DISCUSSÃO

A patofisiologia das retrações timpânicas é complexa. Os principais fatores envolvidos no desenvolvimento desse processo já estudados são as alterações de pressão na orelha média associadas ou não à disfunção da tuba de Eustáquio^{12,20}, sendo que muitos autores acreditam ser essa pressão negativa sequela de episódios prévios de otite média, especialmente otites médias secretoras de longa duração¹⁻⁴. Outra teoria proposta para explicar o desenvolvimento das retrações timpânicas é baseada na abertura persistente da tuba auditiva. Na tentativa de fechá-la para aliviar o desconforto causado pelo enchimento de ar, o paciente desenvolveria um comportamento de “fungar” repetitivo, o que levaria a barotraumas repetidos na MT, resultando no seu enfraquecimento e na predisposição a retrações timpânicas^{7,8}. Estudos histológicos das MTs atelectásicas têm demonstrado uma perda da estrutura de sustentação do colágeno, além de espessamento e hiperqueratose do epitélio de revestimento²¹.

O papel da elastina nas retrações timpânicas e na gênese do colesteatoma foi estudado por vários autores, sempre em conjunto com os demais componentes da MT, tais como colágeno, fibroblastos, macrófagos e mediadores inflamatórios^{1,10-13}, mas nenhum estudo anterior a este tentou isolar um dos componentes dos demais para delimitar como cada um contribui na gênese do processo.

Em nossa pesquisa o grupo de estudo foi composto por 22 pacientes portadores de uma síndrome pouco prevalente, cuja ocorrência é estimada em 1 a cada 10000 pessoas²², a Síndrome de Williams, que, com a homozigose do gene da elastina, apresenta diminuição quantitativa de 50% ou mais de elastina na composição de todos os tecidos^{23,24}. Diante disto foi possível estudar a MT destes pacientes e caracterizar o papel da diminuição da elastina em relação às retrações timpânicas.

A alta prevalência de 50% de histórico de problemas otológicos nos pacientes com SW é condizente com os dados encontrados na literatura^{22,24}; entretanto, parece não ter resultado em um maior número de retrações. Tal histórico de problemas otológicos inclui queixas de hiperacusia, muito frequentes nesses pacientes, chegando a atingir 95% deles^{25,26}, e incomuns na população em geral.

Durante a coleta dos dados, os testes de Rinne e Weber foram realizados em todos os pacientes, mas devido à baixa confiabilidade das respostas dos pacientes do grupo de estudo e dos pacientes com pouca idade no grupo controle, esses dados foram excluídos da análise.

O estudo não avaliou a audição através de testes audiométricos em nenhum dos grupos, pois tal avaliação não ofereceria contribuição para os objetivos da pesquisa.

Os avaliadores apresentaram concordância na avaliação entre 65 e 71% quanto à presença de retrações, o que se considera uma concordância muito significativa, apesar de estar abaixo de uma concordância quase perfeita, que estaria entre 80% 100%, conforme Landis e Koch²⁷. Percebe-se na avaliação dos dados que o avaliador 2 foi mais rígido na avaliação das retrações em todos os grupos, independentemente da presença da SW. Esse julgamento considerado mais rígido influenciou na diminuição da concordância entre avaliadores, mas sem privilegiar nenhum dos grupos, pois ocorreu em todos os grupos avaliados.

Os resultados do trabalho evidenciaram que os pacientes com SW estudados não apresentam maior tendência às retrações timpânicas do que os pacientes do grupo controle, pois todos os resultados de normalidade, tanto da *pars tensa* quanto da *pars flaccida*, tenderam ao grupo de estudo, e os resultados correspondentes a retrações da *pars tensa* e da *pars flaccida* tenderam ao grupo controle. Tal resultado opõe-se à teoria de Ruah et al. de 1992¹², a qual postula que o atraso na reabsorção e diferenciação do mesênquima poderia ser responsável pela incapacidade de maturação das fibras de elastina na MT e que esse atraso poderia ser uma fator de risco para o desenvolvimento de bolsas de retração assim que o colchão mesenquimal desaparecesse¹².

Deste modo, parece que o fator elastina isolado não é fator de risco para a formação de bolsas de retração, mas sim o conjunto de alterações geradas pela reação inflamatória na MT, conforme já estudado por Foseni et al.⁶, Schachern et al.¹¹, e Ruah et al.¹².

Também deve-se salientar a prevalência significativamente maior de retrações da MT visualizadas em pacientes do grupo controle. Há de se considerar a idade média dos pacientes avaliados, aproximadamente 12 anos, o que aproxima os dados encontrados neste estudo aos observados por Maw et al.²⁸ em estudo realizado na Inglaterra em 2011, os quais mostram prevalências semelhantes.

Novos estudos em que os pacientes com SW possam ter um seguimento otoscópico, com acompanhamento dos casos de patologia de orelha média, poderiam auxiliar a elucidar como a elastina e sua diminuição quantitativa, associada aos demais fatores, poderiam contribuir na gênese dos quadros de retração timpânica.

Em nosso estudo comparado de pacientes com SW e normais concluímos que não houve presença significativa de retrações timpânicas em pacientes com déficit de elastina e portanto, isoladamente, a elastina não é associada a retrações timpânicas.

REFERÊNCIAS

1. Tos M. Upon the relationship between secretory otitis in childhood and chronic otitis and its sequelae in adults. *J Laryngol Otol*, 1981;95(10):1011-22.
2. Ars BM. Tympanic membrane retraction pockets. Etiology, pathogeny, treatment. *Acta Otorhinolaryngol Belg*. 1991;45(3):265-77
3. Yoon TH et al. Pathology and pathogenesis of tympanic membrane retraction. *Am J Otolaryngol*. 1990. 11(1):10-7
4. Tos M et al. Spontaneous course of secretory otitis and changes of the eardrum. *Arch Otolaryngol*. 1984 110(5): 281-9
5. Costa SS, Cruz OLM, Oliveira AJ. *Otorrinolaringologia: princípios e prática*. 2 ed. Artmed 2006 254-70.
6. Forseni M, Bagger-Sjöbäck D, Hulcrantz M. A study of inflammatory mediators in the human tympanosclerotic middle ear. *Arch Otol Head Neck*. 2001;559-564.
7. Magnusson B, Falk B. Diagnosis and management of Eustachian tube malfunction. *Otolaryngol Clin North Am*. 1984 17 (4): 659-71

8. Magnusson B. Tubal closing failure in retraction type cholesteatoma and adhesive middle ear lesion. *Acta Otolaryngol.* 1978. 86(5-6): 408-17
9. Jackler RK, Blevins NH, Nguyen-Hunyh A. A New Theory on the Pathogenesis of Acquired Cholesteatoma. Draft 9/14/05. jackler@stanford.edu
10. Tos M, Pulsen G. Attic retractions following secretory otitis. *Acta Otolaryngol.* 1980.86(5-6): 479-86.
11. Schachern P, Cureoglu S, Tsuprum V, Paparella MM, Whitley C. Age-related functional and histopathological changes of the ear in the MPS I mouse. *Int J Pediatr otorhinolaryngol.* 2007 feb; 71 (2): 197-203.
12. Ruah CB, Schachern PA, Paparella MM, Zelterman D. Mechanisms of retraction pocket formation in the pediatric tympanic membrane. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 1992; 118: 1298-1305.
13. Yan SD, Qiu ZM, Zhou NS. Ultrastructure of the secondary tympanic membrane in the human fetus. *Acta Anat* 1988; 131(4): 332-7
14. Knutsson J. Morphology and biochemistry of the tympanic membrane in relation to retraction pathology. Thesis for doctoral degree. 2010. <http://diss.kib.ki.se/2010/978-91-7409-842-6/thesis.pdf>
15. Stenfeldt K, Johansson C, Hellstrom S. The collagen structure of the tympanic membrane. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 2006;132:293-298
16. Chole, R, Kodama K. Comparative histology of the tympanic membrane and its relationship to cholesteatoma. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1989; 98: 761-766
17. Hiraide F, Sawada M, Inouye T, Miyakogawa N, Tsubaki Y. *Arch Otorhinolaryngol* 226, 93-99 (1980):93-99
18. Ruah, C, Schachern PA, Zelterman D, Paparella MM, Yoon TH. Age-related morphologic Changes in the human tympanic membrane. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 1991; 117: 627-634.
19. <http://www.swbrasil.org.br/>
20. Sadé J, Fuchs C, Luntz, M. Shrapnell membrane and mastoid pneumatization . *Arch Otolaryngol. Head Neck Surg* 1997 v. 123, n.6 584-588.
21. Sadé J. Atelectatic tympanic membrane: histologic study. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 1993. 102(9):712-6

22. Pober BR. Williams-Beuren Syndrome. *N Engl J Med.* 362:3. January 21, 2010.362(3):.239-52
23. Shubert C. The genomic basis of the Williams-Beuren syndrome. *Cell Mol Life Sci.* 66 (2009) 1178-1197
24. Morris CA. The Behavioral phenotype of Williams Syndrome: A recognizable pattern of neurodevelopment. *Am J Med Genet Part C.* 2010. 154C:427-431
25. Nigam A, Samuel PR. Hyperacusis and Williams syndrome. *J Laryngol Otol.* 1994 Jun;108(6):494-6
26. Johnson LB, Comeau M, Clarke KD. Hyperacusis in Williams syndrome. *J Otolaryngol.* 2001 Apr;30(2):90-2
27. Landis JR, Koch GG. The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics* 1977; 33: 159-174
28. Maw AR, Hall AJ, Pothier DD, Gregory SP, Steer CD. The prevalence of tympanic membrane and related middle ear pathology in children: a large longitudinal cohort study followed from birth to age ten. *Otol Neurotol.* 2011 Oct;32(8):1256-61.

10. ANEXOS



**HCPA - HOSPITAL DE CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE
GRUPO DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO**

COMISSÃO CIENTÍFICA E COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

A Comissão Científica e o Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (CEP/HCPA), que é reconhecido pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP)/MS e pelo Office For Human Research Protections (OHRP)/USDHHS, como Institutional Review Board (IRB00000921) analisaram o projeto:

Projeto: 100439 **Versão do Projeto:** 09/04/2011 **Versão do TCLE:** 09/04/2011

Pesquisadores:

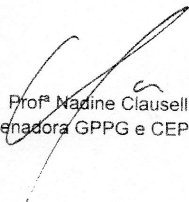
MARCELO WIERZYNSKI DE OLIVEIRA
TEMIS MARIA FELIX
LUIZ LAVINSKY

Título: ALTERAÇÕES OTOLÓGICAS EM PACIENTES COM SÍNDROME DE WILLIAMS

Este projeto foi APROVADO em seus aspectos éticos e metodológicos, bem como o respectivo Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, de acordo com as diretrizes e normas nacionais e internacionais de pesquisa clínica, especialmente as Resoluções 196/96 e complementares do Conselho Nacional de Saúde.

- Os membros da Comissão Científica e do Comitê de Ética em Pesquisa não participaram do processo de avaliação dos projetos nos quais constam como pesquisadores.
- Toda e qualquer alteração do projeto, assim como os eventos adversos graves, deverão ser comunicados imediatamente ao CEP/HCPA.
- O pesquisador deverá apresentar relatórios semestrais de acompanhamento e relatório final ao CEP/HCPA.
- Somente poderá ser utilizado o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido no qual conste o carimbo de aprovação do CEP/HCPA.

Porto Alegre, 19 de abril de 2011.


Profª Nadine Clausell
Coordenadora GPPG e CEP/HCPA