

FAYEZ BAHMAD JÚNIOR

**Caracterização clínica e análise genética da enxaqueca
associada a disfunção auditivo-vestibular familiar**

Brasília

2008

FAYEZ BAHMAD JÚNIOR

**Caracterização clínica e análise genética da enxaqueca
associada a disfunção auditivo-vestibular familiar**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina
da Universidade de Brasília para obtenção do título
de Doutor em Ciências Médicas.

Área de Concentração: Otorrinolaringologia

Orientador: Prof. Dr. Carlos Augusto Costa Pires de Oliveira

Brasília

2008

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Catálogo na Publicação

Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília

Bahmad Jr, Fayez.

Caracterização clínica e análise genética da enxaqueca associada a disfunção auditivo-vestibular familiar / Fayez Bahmad Jr; orientador Carlos Augusto Costa Pires de Oliveira. – Brasília, 2008.

92f

Tese (Doutorado – Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas. Área de Concentração: Otorrinolaringologia) – Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília.

1. Enxaqueca. 2. Vertigem. 3. Familiar. 4. Ligação Genética

Fayez Bahmad Júnior

Caracterização clínica e análise genética da enxaqueca associada a disfunção auditivo-vestibular familiar

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília para obtenção do título de Doutor.

Aprovado em: 18 de Novembro de 2008.

Banca Examinadora

Prof. Dr. Paulo Andrade de Mello

Instituição: Universidade de Brasília – UnB

Prof^a. Dr^a. Íris Ferrari

Instituição: Universidade de Brasília – UnB

Prof. Dr. Ricardo Pratesi

Instituição: Universidade de Brasília – UnB

Prof^a. Dr^a. Roberta Lemos Vieira Bezerra

Instituição: Universidade de Brasília – UnB

Prof. Dr. Ricardo Ferreira Bento

Instituição: Universidade de São Paulo – USP

Dedico este trabalho a minha esposa Juliana aos meus pais Fayez e Silvia,
e ao meu irmão Mohamad, com amor, admiração e gratidão pelo
apoio e confiança ao longo do período de elaboração
deste projeto, meu grande sonho.

AGRADECIMENTOS

Ao **Prof. Dr. Carlos Augusto Costa Pires de Oliveira**, que, nos anos de convivência, muito me ensinou, como um Pai que ensina a seu filho, influenciando e contribuindo sempre em minhas decisões, ajudando em meu crescimento científico e intelectual. Me inspirou a questionar e refletir dentro de uma área tão intrigante como a otologia.

À **Dr^a. Roberta Lemos Vieira Bezerra**, por todo seu trabalho infalível junto a querida família alvo de nosso estudo, colaboração na parte técnica, pelas valiosas correções do texto, por compartilhar seus conhecimentos, pelo seu apoio, pelo incentivo desde a época da residência médica, pelo material literário, pela sua mão sempre estendida quando precisei de apoio durante o processo de execução deste projeto científico e pelas tantas portas abertas que me deixou.

Ao **Prof. Dr. Saumil Nalim Merchant**, que, me recebeu em Boston, e abriu-me as portas da Massachusetts Eye and Ear Infirmary, ensinou-me detalhes importantes da otopatologia, auxiliando na melhor compreensão dos detalhes clínicos na primeira fase e bons conselhos na confecção da segunda fase do projeto através de seu brilhante apoio intelectual.

Ao **Prof. Dr. Jonathan Seidman**, que abriu as portas do Seidman Laboratory, e teve tamanha paciência em ensinar-me as bases da genética molecular e dedicar todos os recursos financeiros e técnicos para que fosse possível realizar a segunda fase do projeto.

Aos médicos, e funcionários da Massachusetts Eye & Ear Infirmary, Harvard Medical School, Boston, MA, EUA, pelo acolhimento e incentivo durante os dois anos em que lá estive, e em especial aos:

Prof. Dr. Steven Rauch com suas brilhantes dicas e ajuda na compreensão da parte clínica deste projeto;

Prof. Dr. John Adams que auxiliou muito com seu conhecimento de fisiologia de orelha interna durante a análise crítica dos resultados da segunda fase do projeto.

À equipe de pesquisadores do Seidman Laboratory – Departamento de Genética Humana da Harvard Medical School, Boston, MA, EUA, que muito me ajudaram, principalmente:

Steve DePalma nosso bioestatístico, sempre paciente e perseverante;

Libin Wang meu colega de bancada no Seidman lab, de quem recebi muitos bons conselhos na parte prática dentro do laboratório, quem me ensinou a arte de fazer desde PCRs a hibridização e sequenciamento;

Steve Grenway, David Conner, Jae Lee, Hiro Nyriuki, e outros companheiros do laboratório, pós-doutorandos que sempre estavam dispostos a ajudar.

Ao **Prof. Dr. John Carey**, do Departamento de Neuro-otologia da Universidade John Hopkins, Baltimore, MA, EUA, por sua atenção em relatar sua ampla experiência clínica no tratamento de pacientes vertiginosos em seu departamento e por seu auxílio no melhor entendimento do perfil clínico desta síndrome.

À enfermeira **Luciene Luz**, pela amizade, pelo apoio e por disponibilizar seu tempo para coleta do sangue de mais de 60 membros da família, moradores de Brasília, Taguatinga, outras cidades do entorno do Distrito Federal e Goiânia.

À querida amiga **Adegmar**, membro da família em estudo, que me auxiliou na coleta do sangue de dezenas de membros da família moradores do Paraná e Santa Catarina.

À **Barbara McDonough**, grande amiga, por ter me auxiliado com toda a parte de documentos nos EUA e junto à universidade, os termos de consentimento junto ao NIH – EUA, pela amizade e pelas palavras que com carinho me tranquilizavam.

À **Fg^a Nilda Agostinho Maia**, amiga de tantos anos, pelas valiosas sugestões e pela disposição em participar deste projeto, realizando parte dos exames audiológicos no Hospital Universitário de Brasília.

À **Dr^a Vanessa Furtado de Almeida** e a **CLIAOD**, pelo apoio e por se disponibilizarem a realizar boa parte dos exames audiológicos e vestibulares dos membros da família pesquisada, sem custos para o pesquisador e para a família em estudo.

Ao **Programa de Pós Graduação em Ciências Médicas da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília**, pela oportunidade de realização do curso de doutorado.

Ao **Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq**, pela concessão da bolsa de doutorado durante a realização desta pesquisa.

A **Massachusetts Eye and Ear Infirmary – MEEI – Boston, MA, EUA**, pela concessão de bolsa integral de pesquisa nos 2 anos e 2 meses que fiz parte do quadro de pesquisadores associados desta instituição.

Aos **professores do Programa de Pós-graduação** pelo exemplo de dedicação e por tudo que me ensinaram.

Aos **colegas e funcionários do Programa de Pós-graduação** pelo companheirismo durante essa trajetória.

Aos **médicos, e funcionários do Serviço de Otorrinolaringologia e Cirurgia de Cabeça e Pescoço do Hospital Universitário de Brasília – HUB**, pelo apoio e ajuda durante a coleta de dados.

A querida família Vieira, que prontamente concordou e compreendeu a importância da realização desta pesquisa.

A todos que direta ou indiretamente participaram na concretização deste sonho.

“ Assim diz o Senhor: não se glorie o sábio na sua sabedoria, nem se glorie o forte na sua força, nem se glorie o rico nas suas riquezas, mas o que se gloriar glorie-se nisto: em me conhecer e saber que eu sou o Senhor, que faço misericórdia, juízo e justiça na terra, porque destas coisas me agrado.”

(Bíblia, Jr 9: 23 -24)

RESUMO

BAHMAD JR, F. **Caracterização clínica e análise genética da enxaqueca associada a disfunção auditivo-vestibular familiar.** 2008. 92f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina, Universidade de Brasília, Brasília, 2008.

Enxaqueca associada a disfunção auditivo-vestibular ou enxaqueca vertiginosa, é caracterizada por vertigem episódica associada com enxaqueca, em algumas famílias é transmitida como herança autossômica dominante. Entretanto, nem o gene defeituoso ou locus que podem albergar o gene responsável pela enxaqueca vertiginosa familiar foram relatados. Os objetivos deste estudo são descrever a caracterização clínica, incluindo a progressão da doença através de um longo período de seguimento, em vários membros de uma mesma família e identificar o defeito genético responsável pela enxaqueca associada a disfunção auditivo-vestibular. Para identificar o gene responsável por esta condição nos vários membros desta grande, multi-geracional família afetada por enxaqueca vertiginosa familiar, foi estudado uma família caucasiana de cinco gerações na qual enxaqueca vertiginosa familiar era herdada de forma autossômica dominante e foram coletados dados clínicos de 146 membros. Em 1997, os orientadores deste projeto descreveram esta família em que múltiplos membros queixavam-se de enxaqueca com aura e sintomas vestibulares. Membros desta família foram avaliados por mais de 12 anos e as informações clínicas incluindo detalhada anamnese, exame otorrinolaringológico e neurológico, avaliação audiológica e exames de imagens foram realizados. Análise de linkage do genoma foi realizado usando o Affymetrix SNP microarrays. Os altos valores encontrados pela análise de linkage foram avaliados através de genotipagem dos membros da família usando marcadores micro satélites. Dentre os 146 membros, 10 sofriam de enxaqueca vertiginosa. As crises de enxaqueca antecediam o início dos sintomas vertiginosos em uma média de 15 a 20 anos. Geralmente sintomas da enxaqueca diminuía com o passar das décadas enquanto que a vertigem apresentava piora em intensidade e frequência. Análise audiométrica após 12 anos revelaram uma perda auditiva estável, geralmente em frequências agudas, consistente com presbiacusia. Perda auditiva em frequências graves foi encontrado apenas no caso índice. Estudos de imagem foram normais. A análise genética revelou um novo locus no cromossomo 5 (lod score 3.95). Estudos estão em andamento investigando gens candidatos neste locus.

Palavras chave: Enxaqueca – Vertigem – Familiar – Ligação Genética

ABSTRACT

BAHMAD JR, F. **Clinical characterization and genetic analysis of familial migraine associated auditory-vestibular dysfunction.** 2008. 92p. Thesis (Doctoral) – Faculdade de Medicina, Universidade de Brasília, Brasília, 2008.

Familial migraine associated auditory-vestibular dysfunction, also called as migrainous vertigo (MV), characterized by episodic vertigo associated with migraine, is inherited in some families as an autosomal dominant trait. However, neither disease genes nor loci that might encode a defective gene responsible for familial migrainous vertigo have been reported. The objectives is describe the clinical features, including disease progression during long term follow-up, in multiple related family members and identify the genetic defect that causes familial migrainous vertigo. To map the gene responsible for this condition in multiple members of a large, multi-generational family affected by familial Migrainous Vertigo (MV). We studied a five generation Caucasian family in which Familial Migrainous Vertigo was inherited as an autosomal dominant trait and collected clinical information from 146 members. In 1997, we described a large family with multiple members who complained of migraine with aura as well as auditory and vestibular symptoms. This condition was inherited as an autosomal dominant mode of transmission. Family members were evaluated over a 12 year period and clinical information including detailed case histories, otolaryngological and neurological examinations, audiometric evaluations and imaging studies was obtained. Genome-wide linkage analysis was performed using Affymetrix SNP microarrays. Linkage peaks were further evaluated by genotyping family members using micro satellite markers. Of 146 family members, 10 suffered from Migrainous Vertigo. Migraine headaches preceded onset of vertigo by 15-20 years, on average. Overall, migraine symptoms decreased with time, while vertigo tended to get worse. Longitudinal audiometric studies over 12 years generally showed stable, high frequency sensorineural hearing loss, consistent with presbycusis. Low tone or fluctuating hearing loss was observed only in index case. Imaging studies were normal. Genetic analysis defined a novel locus on chromosome 5 (lod score 3.95). Studies are ongoing to investigate candidate genes at this locus.

Keywords: Migraine – Vertigo – Familial – Linkage study

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Ilustração da Relação entre as Síndromes.....	31
Figura 2. Interior do Labirinto Ósseo Direito.....	38
Figura 3. Esquema do Labirinto Membranoso Projetado no Interior do Labirinto Ósseo.....	39
Figura 4. Fotomicrografia de Microscopia Eletrônica Colorida Revelando o Órgão de Corti em Corte Transversal.....	40
Figura 5. Fotomicrografia de Microscopia Eletrônica Colorida Revelando as Células Ciliadas e sua Inervação.....	41
Figura 6. Fotomicrografia Eletrônica Confocal Evidenciando as Células Ciliadas Internas.....	41
Figura 7. Fotomicrografia de Microscopia Eletrônica Confocal Evidenciando as Células Ciliadas Vestibulares.....	42
Figura 8. Fotomicrografia de Osso Temporal em Secção Médio-modiolar da Cóclea.....	43
Figura 9. Amostras de sangue da família em estudo, material de onde foi extraído o DNA genômico.....	56
Figura 10. Tubo Falcon de 50 ml Evidenciando a Precipitação do DNA após Purificação.....	57
Figura 11. Ilustração da Hibridização através do Affymetryx® Genechip Kit.....	59
Figura 12. Mapeamento do Genoma pelo Affymetryx® Genechip 10K Kit.....	62
Figura 13. Heredograma da Família em Estudo.....	66

Figura 14. Resultado de Mapeamento Genético de todo Genoma com Affymetryx®.....	70
Figura 15. Pico de LOD Score no Cromossomo 5 (5q35.1-q35.2).....	72
Figura 16. Heredograma da Família em Estudo com os Haplótipos Revelados.....	75
Figura 17. Estudo de Crossing over dos indivíduos IV-31, IV-51 e IV-56.....	75

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Classificação de enxaqueca pela Sociedade Internacional de Cefaléia. (IHS, 2004).....	23
Quadro 2. Classificação de enxaqueca associada a disfunção auditivo-vestibular.....	24
Quadro 3. Relação dos sintomas comuns entre as síndromes.....	33
Quadro 4. Caracterização dos sintomas vestibulares.....	69

LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1.** Análise ilustrativa e comparativa entre LOD score, valor de “p” e Z score.....60
- Gráfico 2.** Variação de intensidade e frequência de crises de enxaqueca e vertigem após longo período de acompanhamento.....68
- Gráfico 3.** Característica da perda auditiva na família em estudo.....68
- Gráfico 4.** Análise multipontual de marcadores satélite para a região em cromossomo 2.....71
- Gráfico 5.** Análise multipontual de marcadores satélite para a região em cromossomo 11...71
- Gráfico 6.** Análise multipontual de marcadores satélite (D5S619-D5S400-D5S498-D5S408) para a região em cromossomo 5.....73

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Caracterização clínica da enxaqueca associada a disfunção auditivo-vestibular (EDAV).....	67
Tabela 2. Evolução das crises de enxaqueca e vertiginosas nos membros afetados após 12 anos de acompanhamento.....	67
Tabela 3. Linkage confirmada no Locus 5q35.1-5q35.2 para enxaqueca associada a disfunção auditivo vestibular na família.....	73
Tabela 4. Cálculo da frequência dos alelos causadores da doença na família.....	74
Tabela 5. Frequência dos alelos em estudo na população brasileira.....	74

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

a.C	Antes de Cristo
d.C	Depois de Cristo
ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
CCE	Células Ciliadas Externas
CCI	Células Ciliadas Internas
dB	Decibel
DM	Doença de Ménière
EcoG	Eletrococleografia
ENG	Eletronistagmografia
EOA	Emissão Otoacústica
EOAE	Emissão Otoacústica Evocada
FMV	Familial Migrainous Vertigo
Hz	Hertz
IHS	International Headache Society
MAD	Migraine Associated Dizziness
MEEI	Massachusetts Eye & Ear Infirmary
MV	Migrainous Vertigo
OD	Orelha Direita
OE	Orelha Esquerda
PCR	Reação da Polimerase em Cadeia
PEATE	Potencial Evocado Auditivo de Tronco Encefálico
SIC	Sociedade Internacional de Cefaléia
SM	Síndrome de Ménière
SOT	Sensory Organizational Test
VEMP	Potencial Evocado Miogênico Vestibular

LISTA DE SÍMBOLOS

- % Porcentagem
- °C Graus Celsius
- ® Marca registrada

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	19
1.1 REVISÃO HISTÓRICA E DEFINIÇÕES.....	19
1.2 EPIDEMIOLOGIA	22
1.3 CLASSIFICAÇÃO	23
1.4 SINTOMATOLOGIA	25
1.4.1 <i>Vertigem</i>	25
1.4.2 <i>Hipoacusia</i>	26
1.4.3 <i>Zumbido</i>	26
1.4.4 <i>Plenitude auricular</i>	27
1.4.5 <i>Cefaléia</i>	27
1.5 ASPECTOS CLÍNICOS E DIAGNÓSTICOS.....	29
1.6 HISTÓRICO DE ASSOCIAÇÃO ENTRE AS SÍNDROMES.....	30
1.7 DIFERENCIANDO ENXAQUECA COM AURA DA ENXAQUECA ASSOCIADA A DISFUNÇÃO AUDITIVO-VESTIBULAR.....	33
1.8 DIFERENCIANDO ENXAQUECA ASSOCIADA A DISFUNÇÃO AUDITIVO-VESTIBULAR DA SÍNDROME DE MÉNIÈRE	36
1.9 ANATOMIA E FISIOLOGIA DA ORELHA INTERNA	37
1.10 FISIOPATOLOGIA.....	43
1.11 O GENOMA HUMANO.....	45
1.11.1 <i>Princípios da Genética</i>	46
1.11.2 <i>Organização do Genoma Humano</i>	46
1.11.3 <i>DNA no Diagnóstico das Doenças Humanas</i>	49
1.11.4 <i>Programas de Triagem Populacional</i>	52
1.11.5 <i>Ética e Genética</i>	52
2 OBJETIVOS	53
3 MATERIAL E MÉTODOS	54
3.1 ANÁLISE CLÍNICA	54
3.2 ANÁLISE GENÉTICA	55
3.2.1 <i>Obtenção do DNA Genômico</i>	55
3.2.2 <i>Eletroforese</i>	57
3.2.3 <i>Hibridização com Oligonucleotídeos Alelo Específicos (Aso)</i>	58
3.2.4 <i>Análise de Ligação (Linkage)</i>	59
3.2.5 <i>Mapeamento Genético de Todo Genoma e Mapeamento Fino com Marcadores Microsatélites</i>	61
4 RESULTADOS.....	64
4.1 ANÁLISE CLÍNICA	64
4.2 ANÁLISE GENÉTICA	69
5 DISCUSSÃO	76
6 CONCLUSÕES	79
6.1 ANÁLISE CLÍNICA	79
6.2 ANÁLISE GENÉTICA	79
REFERÊNCIAS	80
ANEXOS.....	85

1 INTRODUÇÃO

1.1 REVISÃO HISTÓRICA E DEFINIÇÕES

A associação de distúrbios da audição e equilíbrio com enxaqueca é reconhecida desde a Grécia antiga quando Aretaeus da Capadócia em 131 d.C., fez uma descrição precisa e com detalhes da ocorrência de ambos durante uma crise de enxaqueca.¹ Em 1861, em seu artigo clássico, Prosper Ménière descreve a presença de sintomas auditivo-vestibulares em pacientes portadores de enxaqueca.²

Liveing, em 1873 voltou a relatar uma clara associação entre vertigem e enxaqueca, e desde então, relatada por vários autores: Gowers et al., 1907; Symonds et al., 1926; Graham et al., 1968; Kayan et al., 1984, definindo o conceito de que vertigem, déficit de audição e zumbido faziam parte dos sintomas apresentados por alguns pacientes portadores de enxaqueca.³⁻⁶ Bickerstaff, em 1961, introduziu o conceito de Síndrome da Enxaqueca Basilar caracterizada por cefaléia occipital com sinais ou sintomas de disfunção de pares cranianos e/ou tronco encefálico, como: distúrbios visuais, vertigem, ataxia, distúrbios da fala, zumbido e alterações sensoriais nas extremidades.⁷

Distúrbios no equilíbrio de vários tipos têm sido relatados durante a crise de cefaléia em portadores de enxaqueca, como vertigem rotacional, vertigem posicional, tontura, intolerância à movimentação cefálica, além de outras formas menos comuns.^{4,8-10} Pacientes com diagnóstico clássico de enxaqueca que apresentam ou apresentaram na infância ou na vida adulta quadros de cinetose parecem ser mais susceptíveis a desenvolver crises de vertigem.^{4,9,10} Dentre os distúrbios auditivos relatados, a fonofobia (intolerância a ruídos intensos) e hiperacusia (sensibilidade anormal a ruídos) como descritas primeiramente por Tissot em 1778 (citado por Sachs et al., 1970), podem estar relacionadas a cefaléia.¹

O trabalho publicado na Gazette Médicale de Paris, em 1861, intitulado de “Memória sobre Lesões do Ouvido Interno” foi apresentado pelo Doutor Ménière, professor da Faculdade do Instituto Imperial de Surdo-Mudos na Academia Imperial de Medicina na Reunião de 8 de janeiro de 1861. Conforme trecho descrito pelo próprio Prosper Ménière “Eu tenho observado, há longo tempo, um certo número de doentes que apresentam um grupo de sintomas, sempre os mesmos, sintomas que parecem graves, dando idéia de uma lesão

orgânica deplorável, espécie que se renova de tempos em tempos durante semanas, meses, anos e que desaparecem rapidamente e oferecem como resultado comum a abolição do sofrimento".²

O trabalho teve continuidade com a descrição fidedigna de um paciente em plena crise. Descreve, com riqueza de detalhes, o quadro clínico e sintomas associados à angústia do paciente frente ao quadro apresentado e chamava atenção ao fato de esses pacientes não apresentarem, durante a crise, sinais de paralisia, desvio na face ou língua, linguagem preservada, inteligência intacta e resume: "Não existe após a crise nenhum sinal de comprometimento cerebral; a marcha é segura e a consciência preservada".

A publicação desse trabalho causou reação entre os neurologistas e deu origem a uma discussão na época, porque Prosper Ménière baseou-se na observação clínica de alguns pacientes que apresentavam esses sintomas e associou seus achados clínicos aos experimentais de Flourens em 1830. Ele acreditava que o órgão responsável pelos sintomas era um órgão periférico, ouvido interno (atualmente, orelha interna), e não central, envolvendo cérebro, meninges ou cerebelo.¹¹

Em 1992 Oliveira e Braga publicaram a descrição de uma família afetada por sintomas da síndrome de Ménière. O modo de transmissão genética era autossômico dominante, havia cefaléia associada em vários pacientes e o paciente índice foi submetido a uma drenagem do saco endolinfático com melhora clara e persistente dos sintomas vertiginosos bem como estacionamento da perda de audição. Com base nestes achados afirmaram que não parece haver diferença entre a síndrome hereditária e a esporádica como pensavam Konigsmark e Gorlin e que o modo de transmissão autossômico dominante estava comprovado enquanto o autossômico recessivo necessitava comprovação. Foram além ao afirmar que é possível que a síndrome de Ménière idiopática (Doença de Ménière) pode ter sempre um determinante genético que, as vezes, pode ser transmitido de modo autossômico dominante e na maioria das vezes é esporádico.^{12,13}

Em 1997 Oliveira e colaboradores descreveram outra família com Síndrome de Ménière e Cefaléia. Os autores caracterizaram a cefaléia como sendo enxaqueca e em 2002 Oliveira e Messias descreveram 5 famílias com Síndrome de Ménière e Enxaqueca com

transmissão autossômica dominante. Neste trabalho foi aventado a grande possibilidade de uma etiologia genética monogênica para a Síndrome de Ménière e Enxaqueca.^{12,14}

Vários grupos de pesquisa, como o nosso, tentam encontrar um possível fator ou fatores e mecanismos que justifiquem o aparecimento destes sintomas nestes pacientes. No entanto, atualmente, diversos otologistas e neurologistas têm se deparado com pacientes que apresentam quadro clínico de cefaléia, tipo enxaqueca com episódios de tontura, muitas vezes até mesmo vertigem, plenitude aural, sintomas auditivos e zumbido.

A presença não rara desses pacientes que mimetizam muitas vezes a apresentação clínica da síndrome de Ménière, levaram aos especialistas proporem a descrição de uma nova entidade clínica, que na língua inglesa possui diversas denominações, entre elas: migraine associated dizziness, migraine related dizziness, migraine related vertigo, migrainous vertigo, migraine-anxiety related dizziness e migraine associated cochleo-vestibular dysfunction.^{6,14,15,16,17} Na ausência de referências sobre o tema em língua portuguesa, o autor escolheu por denominar essa entidade de “Enxaqueca associada a Disfunção Auditivo-vestibular”. Fato esse em virtude de que muitos pacientes apresentam quadro vestibular diverso do real conceito de vertigem, podendo variar desde uma sensação de desequilíbrio, instabilidade, vertigem e em alguns casos desordens cocleares como zumbido, disacusia flutuante e plenitude auricular.

A fisiopatologia da enxaqueca associada a sintomas auditivo-vestibulares ainda não foi totalmente esclarecida, mas suas manifestações clínicas ocorrem nas mais diversas formas¹⁸. Normalmente esses pacientes apresentam sintomas que vão desde episódios de tontura ou quadros de vertigem aguda e constante desequilíbrio, perda auditiva neurossensorial, zumbido, plenitude aural e até disacusia flutuante.

Vale lembrar que esses sintomas muitas vezes se confundem com os sintomas clássicos da Síndrome de Ménière (SM). Trata-se então, de uma síndrome que intermedeia outras duas síndromes: Enxaqueca com Aura e Síndrome de Ménière, sendo muitas vezes, o diagnóstico diferencial entre essas três entidades um verdadeiro desafio (Figura 1 e Quadro 1), requerendo muita experiência e conhecimento do profissional de saúde sobre os aspectos clínicos, diagnósticos e terapêuticos destas três entidades.^{16,19,20,21}

1.2 EPIDEMIOLOGIA

Dados epidemiológicos reforçam a importância cada vez maior atribuída à enxaqueca associada à disfunção auditivo-vestibular nos últimos anos. Estudos recentes mostram que enxaqueca é uma das doenças com maior morbidade em todo o planeta acometendo cerca de 4-6,5% dos homens e 11,2-18,2% das mulheres tanto nos Estados Unidos como na Europa.^{20,22}

Fazendo uma correlação entre Enxaqueca associada a disfunção auditivo-vestibular e Síndrome de Ménière (SM), podemos verificar que a incidência da SM nos Estados Unidos é cerca de 5-15 indivíduos para cada 100.000, o que leva a uma incidência de 0,015%. Usando esses dados, podemos presumir que se 1% dos pacientes com enxaqueca associada a disfunção auditivo-vestibular tivessem episódios de vertigem o suficiente para procurarem assistência médica, os médicos ainda diagnosticariam 15 vezes mais pacientes com esta entidade do que com SM.¹⁹

A literatura médica internacional não dá a relevância devida à entidade, o que sugere que essa patologia seja subdiagnosticada em muitos casos. Um estudo desenvolvido por Lipton et al. em 2002 com uma amostra de 4.376 pacientes mostrou que a enxaqueca acomete indivíduos na faixa etária mais produtiva de suas vidas entre os 30-39 anos (25,7%), 40-49 anos (24,4%) e 18-29 anos (22,3%), levando-nos a crer na importância do perfeito diagnóstico e conduta terapêutica dessa doença.²²

Essa ligação se torna ainda mais evidente quando analisamos estudos epidemiológicos realizados com pacientes portadores de enxaqueca: 28 a 36% dos pacientes apresentam quadro de tontura associado e 25 a 26% apresentam quadro de vertigem.²⁰ De forma similar 36% dos pacientes que se queixam de tontura podem ser enquadrados nos critérios clínicos de enxaqueca e 61% dos pacientes com vertigem de causa desconhecida também se enquadram nos critérios clínicos para enxaqueca.¹⁷

Em dois estudos tipo caso-controle com 10 pacientes, Furman e colaboradores, evidenciaram o fato de que tontura e vertigem ocorrem em 54% dos pacientes com enxaqueca e em apenas 30% dos pacientes com outros tipos de dores de cabeça, como a

cefaléia tensional, reforçando a hipótese de co-morbidade entre enxaqueca e distúrbios cócleo-vestibulares.^{18,23}

1.3 CLASSIFICAÇÃO

A arma mais importante do médico para fechar o diagnóstico de enxaqueca associada a disfunção auditivo-vestibular continua sendo uma boa história clínica. Em 2001, baseado nos critérios estabelecidos para o diagnóstico de enxaqueca da Sociedade Internacional de Cefaléia (IHS) (Quadro 1), Neuhauser et al. 2001, publicou em seu clássico artigo científico os critérios clínicos adotados para o diagnóstico desta entidade.²⁴

Classificação de Enxaqueca
Enxaqueca com Aura
<p>A Sociedade Internacional de Cefaléia (IHS) requerem 3 dentre os 4 critérios a seguir:</p> <ul style="list-style-type: none"> ■ Um ou mais sintoma completamente reversível de aura, indicando disfunção cerebral cortical ou do tronco encefálico. ■ No mínimo um sintoma tipo Aura desenvolve gradualmente por mais de 4 minutos. ■ Nenhum sintoma tipo Aura dura mais que uma hora. ■ Cefaléia acompanha a Aura com um intervalo menor que uma hora e deve começar antes ou com a Aura.
Enxaqueca sem Aura
<ul style="list-style-type: none"> ■ Cefaléia por 4 a 72 horas. ■ Cefaléia apresentando no mínimo duas características a seguir: <ul style="list-style-type: none"> • Localização unilateral • Pulsátil • Intensidade moderada a severa • Agravada por atividade física ■ Durante a cefaléia deve ocorrer pelo menos um dos sintomas a seguir: <ul style="list-style-type: none"> • Náusea e/ou vômitos • Fotofobia • Fonofobia.

Quadro 1. Classificação de enxaqueca pela Sociedade Internacional de Cefaléia (IHS)

Nesse trabalho, que talvez até hoje, seja o que mais contribuiu para a padronização diagnóstica dessa entidade clínica, os autores definiram critérios diagnósticos

de Enxaqueca associado à disfunção auditivo-vestibular através de duas formas: definida e provável.

O método utilizado por esses autores foi avaliar pacientes de três grupos distintos, o primeiro com pacientes presentes ao ambulatório de distúrbios vestibulares (n=200), o segundo grupo era composto de pacientes com quadro de enxaqueca (n=200), segundo os critérios da IHS e o terceiro grupo eram pacientes da clínica ortopédica do mesmo hospital que apresentavam as mesmas faixas etárias dos pacientes do grupo 1 (grupo controle / n=200).

Depois de avaliar esses grupos, os autores propuseram os seguintes critérios para classificar a enxaqueca associada a disfunção auditivo-vestibular (Quadro 2).

Classificação de Enxaqueca associada a Disfunção Auditivo-vestibular	
Definida	
<ul style="list-style-type: none"> • Episódios de sintomas vestibulares, de moderada à severa intensidade (vertigem rotacional, vertigem posicional, outras sensações de intolerância à movimentação cefálica) • Enxaqueca segundo os critérios da Sociedade Internacional de Cefaléia, 2001. • Pelo menos um dos seguintes sintomas de enxaqueca durante pelo menos dois ataques de tontura: Cefaléia, fotofobia, fonofobia, distúrbios visuais ou outros sintomas de aura • Exclusão de outras causas depois de investigação clínica 	
Provável	
<ul style="list-style-type: none"> • Episódios de sintomas vestibulares, de moderada à severa intensidade (vertigem rotacional, vertigem posicional, outras sensações de intolerância à movimentação cefálica) • Pelo menos um dos seguintes sinais segundo a IHS para pacientes com enxaqueca: Sintomas enxaquecosos durante ao menos dois episódios vertiginosos; Sinais "gatilhos" para quadros de enxaqueca como alguns alimentos; Irregularidades do sono; Mudanças hormonais Resposta positiva à drogas anti-enxaqueca. • Descartar outras causas definidas de tontura após devida investigação diagnóstica. 	
<p>Sintomas vestibulares "leves" foram definidos como aqueles que não interferem nas atividades diárias do indivíduo; "moderados" quando interferem nas atividades diárias mas não as impede, e "severos" quando há impedimento pelo indivíduo de exercer suas atividades diárias.</p> <p>Vale lembrar que tonturas de origem não-vestibulares como hipotensão ortostática não foram incluídos.</p>	

Quadro 2. Classificação de enxaqueca associada a disfunção auditivo-vestibular. Fonte: Cal & Bahmad, 2008.

Esses critérios são adotados pela maioria dos autores e serviços internacionais na tentativa de padronização do diagnóstico da enxaqueca associada a disfunção auditivo-vestibular.^{9,10,18,20,25,26,27}

Mais recentemente, Marcus e colaboradores em 2003 desenvolveram um questionário baseado nos critérios estabelecidos por Neuhauser, para servir como uma ferramenta de triagem para pacientes com quadros de alterações vestibulares, onde o diagnóstico de enxaqueca associada à vestibulopatia é cogitado.²⁶

1.4 SINTOMATOLOGIA

A severidade e o progresso da doença é muito variável entre os pacientes, assim como a ocorrência e a duração dos sintomas de cada ataque.

1.4.1 Vertigem

A vertigem é o sintoma mais incapacitante. Pode ser definida como uma falsa sensação de movimentos rotatórios e é dividida em dois tipos: subjetiva, o paciente sente que está rodando e o ambiente parado; e objetiva, quando o paciente sente que o ambiente está rodando e ele parado. Devemos lembrar a diferença existente entre a vertigem e a tontura. Esta última é definida como uma ilusão de movimento, uma sensação de perturbação do equilíbrio corporal, não rotatória.

A vertigem é o principal sintoma e faz com que o paciente procure assistência médica e, em um terço dos casos, é o primeiro sintoma. Nas fases iniciais, a vertigem pode durar de vinte minutos a horas, acompanhada ou não de outros sintomas, incluindo sintomas neurovegetativos (náuseas, vômitos), com frequência e intensidade variáveis, podendo ocorrer exacerbação máxima em um ano ou mais. Nos primeiros anos, observa-se aumento da intensidade e frequência dos sintomas, intercalado por períodos assintomáticos, com ou sem o uso de medicação. As crises podem ser precedidas por uma "aura" como, por exemplo, plenitude auricular ou zumbido. A tensão emocional e a ansiedade tendem a desencadear os ataques.

A crise começa com a sensação intensa de rotação corporal e cefálica que vem associada à palidez, diaforese, prostração, náuseas e vômitos. Os sintomas podem se exacerbar com o mínimo movimento da cabeça. Durante o ataque o paciente está bem

orientado e não apresenta déficit neurológico como parestesia, diplopia, disartria, paralisia, etc. Pode apresentar dificuldade visual pela presença de nistagmo (sucessão de movimentos oculares de batimento rítmico).

Em alguns casos, os sintomas podem ceder pouco a pouco com repouso e sono, enquanto em outros casos, apesar de desaparecerem os sintomas no repouso, persiste a intolerância ao movimento e a instabilidade pode persistir por alguns dias.

Este quadro pode evoluir com problemas psicológicos severos, porque o paciente tem a sensação persistente de instabilidade, interferindo na vida profissional, social e familiar, tornando o paciente muitas vezes tenso, ansioso e socialmente incapacitado. Freud em 1887, como neuropatologista já se preocupava com os achados de alteração psíquica nos pacientes vertiginosos e afirmou, em 1895, que a disposição psíquica era um fator determinante no aparecimento e manutenção dos diferentes sintomas.²⁸

1.4.2 Hipoacusia

Hipoacusia significa perda auditiva que na enxaqueca associada a disfunção auditivo-vestibular geralmente é incomum, e quando presente pode ser enquadrada como degeneração coclear decorrente do envelhecimento (Presbiacusia).

1.4.3 Zumbido

Zumbido, também denominado de tinnitus ou tinido é uma sensação de som percebido pelo indivíduo, independentemente de estímulo sonoro externo. Esse sintoma pode ser descrito como a sensação de uma campainha na orelha afetada. Inicialmente, costuma aparecer ou piorar durante as crises, podendo permanecer nos períodos de intercrise em casos mais intensos. Geralmente, é contínuo e intermitente, mas não é pulsátil. Às vezes, é o primeiro sintoma da doença e pode preceder a todos os outros sintomas por alguns anos ou aparecer junto com a primeira crise de vertigem.

1.4.4 Plenitude auricular

Este sintoma pode ser comparado a mudança da pressão barométrica. Alguns casos de Enxaqueca associada a disfunção auditivo-vestibular apresentam esta alteração. A sensação pode ser constante ou sua intensidade pode aumentar como uma aura que precede o ataque de vertigem. Muitas vezes, existe antes que se evidenciem os ataques definitivos.

1.4.5 Cefaléia

Também denominada de cefalalgia é uma manifestação comum relacionada a diversas alterações patológicas, tais como infecções sistêmicas, doenças intracranianas agudas ou crônicas, estresse (tensional), etc. As cefaléias podem resultar de estímulo, tração ou pressão sobre qualquer uma das estruturas sensíveis à dor; todos os tecidos que recobrem o crânio, o 5º, 9º e 10º nervos cranianos e os nervos cervicais superiores, os grandes seios venosos intracranianos, as grandes artérias da base do crânio e a dura-máter. Sabe-se que a dilatação ou contração da parede dos vasos sanguíneos estimula as terminações nervosas, causando a cefaléia²⁹.

Existem diversos tipos de cefaléia, a Enxaqueca (migrânea) é uma das mais freqüentes e de alta prevalência na população geral, seguida pela cefaléia tensional. A Enxaqueca é definida como distúrbio paroxístico caracterizado por ataques recorrentes de cefaléia, com ou sem distúrbios visuais e gastrointestinais associados.³⁰

Muitos autores contribuíram para a definição, o diagnóstico e os possíveis tratamentos desta doença, como bem relatada e detalhada na publicação de Pearce em 1986.³¹ A descrição mais antiga encontrada foi a de Hipócrates (460 - 370 a.C.) nos seus Poemas Mesopotâmicos. Ele sofria muitas crises severas de dor localizada na "metade da cabeça" associada a distúrbios visuais. Na época, mencionava o uso de drogas terapêuticas e plantas e seus efeitos diuréticos. Celsus (30 d.C) amigo do Imperador Romano (Tibério), não era médico e apesar do pouco conhecimento reconheceu a Enxaqueca e referenciou, na época, suas prováveis causas. Aretaeus (131 d.C) discorreu sobre cefaléia e caracterizou quadros migranosos com alterações auditivas e do equilíbrio.

Galeno (131 - 201 d.C) distinguiu a natureza da Enxaqueca de outras cefaléias comuns e usou o termo "Hemicrania" para defini-la. Caelius Aurelianus (400 d.C) descreveu a Enxaqueca com outros sintomas como vertigens, alterações visuais (lacrimejamento), alterações da audição e gastrointestinais. Thomas Willis, talvez o grande precursor da neurologia moderna, foi incisivo nos problemas da Enxaqueca, tanto no diagnóstico quanto no tratamento. Na etiologia citou a influência do fator hereditário e sua relação com trauma ou alteração emocional.³¹

Enxaqueca frequentemente começa na infância e adolescência e 2a/3a décadas de vida. Variações existirão na localização e na característica da dor, dependendo do tipo de Enxaqueca. A classificação desta obedece à Classificação de Enxaqueca da Sociedade Internacional de Cefaléia de 2004.

Considerada como um distúrbio bioquímico implicando diversos neurotransmissores no sistema nervoso central, especialmente o 5-HT (serotonina), a Enxaqueca possivelmente tem como substrato uma combinação de anormalidades vasculares e neurais. Essas alterações da neurotransmissão coordenada pelo sistema límbico podem também ocasionar disfunções em diversos órgãos e sistemas, gerando manifestações clínicas, tais como tensão pré-menstrual, rinite vasomotora e disfunções vestibulares.³²

Com forte tendência familiar a migrânea, como as disfunções vestibulares, pode induzir a distúrbios da linguagem em crianças. A incidência de vertigem em associação com Enxaqueca é alta. Estima-se que aproximadamente 70% dos pacientes migranosos apresentem vertigem e/ou outros tipos de tontura de origem vestibular.

Podemos encontrar vários quadros clínicos otoneurológicos com migrânea, os assim chamados "equivalentes migranosos".^{32,33} Logo a avaliação otoneurológica dos pacientes migranosos, além dos cuidados na anamnese, testes auditivos e testes de função vestibular, devem ser efetuados. Ao exame otoneurológico, as alterações mais comuns, correspondem à disfunção do sistema vestibular periférico enquanto o exame auditivo é normal na grande maioria dos casos.

1.5 ASPECTOS CLÍNICOS E DIAGNÓSTICOS

Muitas pessoas e até mesmo vários profissionais de saúde ainda têm em mente aquela idéia de que enxaqueca é uma cefaléia unilateral, pulsátil, com distúrbios visuais e auditivos, geralmente associado a náuseas e vômitos. Não que esse conceito esteja errado, muito pelo contrário, ele continua sendo o aspecto mais conhecido da enxaqueca com aura, segundo os critérios adotados pela Sociedade Internacional de Cefaléia (International Headache Society [IHS]) e descritos em 1988.³⁴

Porém, atualmente, médicos pesquisadores atribuem à enxaqueca um aspecto mais abrangente, como sendo uma alteração global de percepção sensorial desenvolvida pelo indivíduo. Podendo ser incluído qualquer sintoma relacionado com déficit de percepções sensoriais, como distúrbios auditivos, vestibulares, olfativos, visuais, táteis, gustativos e posturais.^{6,18,22}

TESTES AUDITIVO-VESTIBULARES

Vários autores já tentaram realizar estudos de avaliação vestibular e auditiva em pacientes com diagnóstico de Enxaqueca Vertiginosa, na tentativa de estabelecer um padrão de achados vestibulares que ajudasse o diagnóstico clínico dessa entidade, ou mesmo na tentativa de utilizar testes de função vestibular para diferenciar Enxaqueca Vertiginosa de estágios iniciais de Síndrome de Ménière.^{15,35,37}

Battista realizou uma análise audiométrica dos achados audimétricos em 76 pacientes com Enxaqueca Vertiginosa e 34 pacientes com diagnóstico de Síndrome de Ménière's. Como resultado observou que apesar de haver algumas descrições na literatura descrevendo alterações auditivas nos pacientes com Enxaqueca Vertiginosa, a maioria deles apresentam níveis auditivos normais, enquanto que nos pacientes com Síndrome de Ménière isso não é observado (considerando que a flutuação auditiva faz parte do quadro clínico típico da Síndrome de Ménière).

Furman realizou um estudo com pacientes com Enxaqueca Vertiginosa realizando uma bateria de testes vestibulares e encontrou uma alteração nas provas de avaliação da função vestibulo-espinhal utilizando posturografia. Os pacientes com

Enxaqueca Vertiginosa mostraram um aumento de balanço quando comparado com os dois grupos controle, principalmente no Sensory Organization test 4,5 e 6 (SOT 4,5 e 6), enquanto que os mesmos pacientes apresentaram movimentos óculo-motores e respostas calóricas normais durante os intervalos entre os quadros vertiginosos.^{18,23} Enquanto que alterações na prova da cadeira rotatória mostraram-se mais freqüentes do que achados anormais na eletroneistagmografia (ENG).^{15,36}

Já Dimitri et al, realizou uma análise de multivariáveis na tentativa de determinar uma diferença entre Enxaqueca Vertiginosa e SM utilizando testes vestibulares. Concluiu que uma resposta vestibular reduzida e alterações na prova da cadeira rotatória foram significativas em 91% dos casos para fazer essa diferença entre Enxaqueca Vertiginosa e SM.³⁵

Em resumo, não parece haver um padrão típico nos testes vestibulares para determinar o diagnóstico de Enxaqueca Vertiginosa, reforçando assim, cada vez mais, a importância de uma boa história clínica. Testes vestibulares como ENG, cadeira rotatória, eletrococleografia (ECoG) e Potenciais Evocados Mio gênico Vestibulares (VEMP) podem contribuir ou reforçar uma hipótese diagnóstica já estabelecida com a anamnese. Já para a diferenciação entre Enxaqueca Vertiginosa e SM, perda auditiva progressiva, continua sendo o melhor método de diferenciação entre essas duas disordens.

1.6 HISTÓRICO DE ASSOCIAÇÃO ENTRE AS SÍNDROMES

A relação entre a Síndrome de Ménière e Enxaqueca foi relatada pelo próprio Prosper Ménière em 1861, assim como vários outros autores que discutiram a possibilidade dessa relação entre as duas doenças. Prosper Ménière notou que ambas as doenças comumente manifestavam episódios de vertigem, alterações auditivas flutuantes e episódios de vômitos. A Associação entre enxaqueca e disfunção auditiva-vestibular, especialmente disfunção vestibular, já era conhecida de longa data.

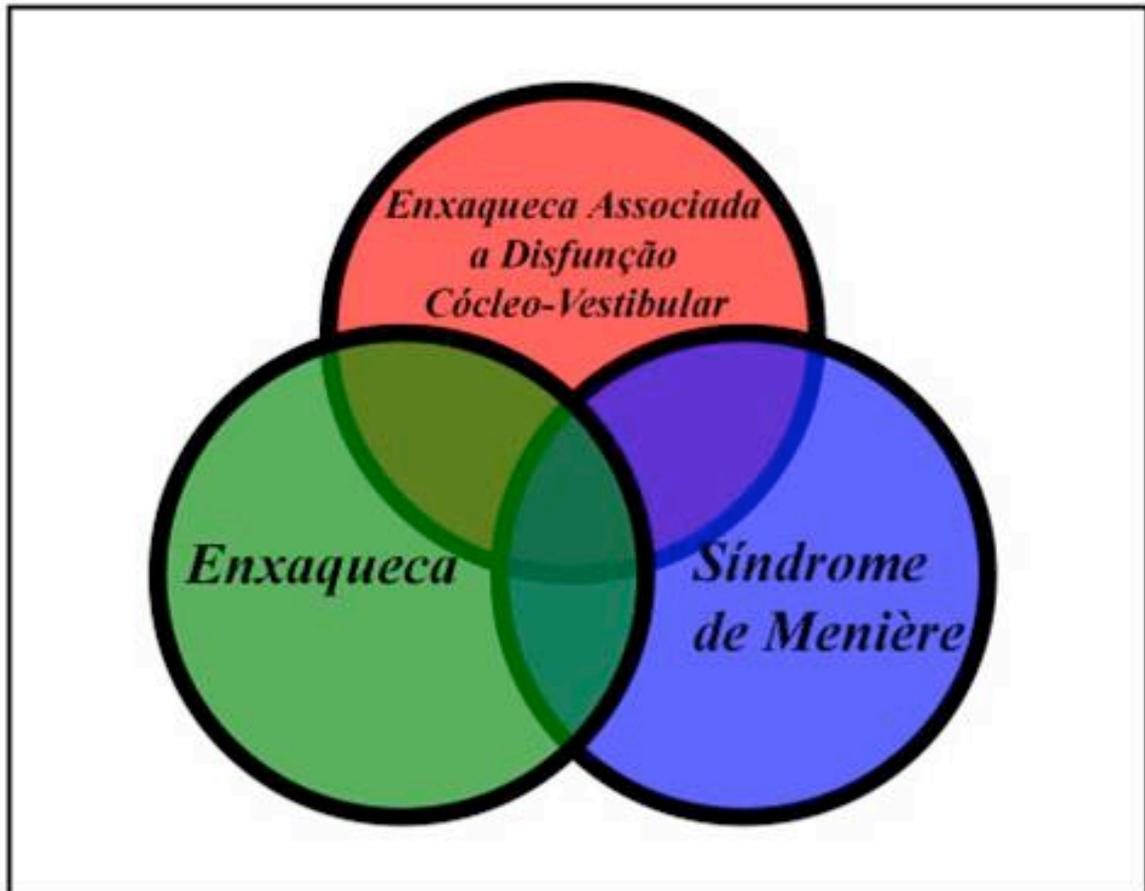


Figura 1. Ilustração da relação entre as síndromes. Fonte: Cal & Bahmad, 2008.

Altan Kayan e Hood em 1984 tiveram o cuidado de fazer uma revisão histórica desta relação. Encontraram que Aretaeus, nascido na Capadócia no ano 131 da era cristã, fez uma descrição de cefaléia com características de crises de enxaqueca e a correlacionou com alterações auditivas e do equilíbrio.

Liveing em 1873 (apud Pearce, 1986) foi quem primeiro descreveu a clara associação entre disfunção Auditivo-vestibular em paciente portadores de enxaqueca.³¹

Atkinson em 1942 publicou um trabalho discutindo a relação entre as duas doenças, definindo que existiam similaridades entre enxaqueca e síndrome de Ménière, como variações da severidade dos sintomas e cronologia comum as duas doenças no aparecimento dos sintomas. Estabeleceu um pequeno grupo que era sensível a histamina e acreditava que

os sintomas eram causados por uma vasodilatação primária. Denominou dois grupos diferentes: grupo vasodilatador (cefaléia precede a vertigem) e grupo vasoconstrictor (vertigem precede a cefaléia) e acreditava que esses sintomas poderiam mudar com o passar dos anos, ou seja, as crises individuais variam com o passar do tempo. Especificamente discutiu a conversão de enxaqueca para síndrome de Ménière, cinco casos em sua série.

Em 1962, Atkinson retoma a discussão entre SM e Enxaqueca. O mecanismo vascular em cada um parece ser idêntico: vasoespasmo seguido de vasodilatação e sugeriu a deficiência crônica de vitamina B como causa de disfunção autonômica.

Outros autores perceberam a ocorrência de vertigem e/ou distúrbios da audição como pródromos da enxaqueca.^{3,4,5} Bickerstaff em 1961 introduziu o conceito de enxaqueca basilar, na qual alterações auditivo-vestibulares são acompanhadas de cefaléia.⁷

Morrison em 1981 também notou a associação de enxaqueca e cefaléia severa com disfunção auditivo-vestibular simulando a síndrome de Ménière. A vertigem pode ocorrer como aura, primeiro sintoma da enxaqueca, ou pode ocorrer independente da enxaqueca. Em alguns pacientes o início dos sintomas auditivo-vestibulares surge posteriormente a uma enxaqueca pre-existente. Pacientes que apresentam sintomas auditivo-vestibulares podem não mencionar a presença de enxaqueca, a não ser que seja perguntado especificamente porque existe uma diferença de idade no aparecimento dos sintomas de cada doença.³⁸

Kayan e Hood em 1984 descreveram oitenta pacientes com enxaqueca encaminhados a eles pelo serviço de neurologia porque apresentavam sintomas auditivo-vestibulares, neste grupo identificaram 7,5% de casos mimetizando síndrome de Ménière. Olsson em 1991 estudou cinquenta pacientes portadores de enxaqueca basilar, com sintomas neurológicos e encontrou 12% de portadores de sintomas auditivo-vestibulares. A incidência de sintomas auditivo-vestibulares poderia estar aumentada em pacientes com enxaqueca quando comparada com a população em geral.⁶

Alguns estudos têm documentado que as crises frequentes de enxaqueca podem deixar sequelas auditivo-vestibulares permanentes. Testes calóricos assimétricos podem ocorrer com mais frequência nestes pacientes, se comparados com a população controle.

Baloh em 1997, estudou três famílias com numerosos indivíduos apresentando enxaqueca com episódios fugazes de vertigem e após alguns anos, esses pacientes apresentaram perda progressiva da função vestibular periférica. No estudo genético por análise de linkage esses pacientes apresentaram suspeita de mutação na subunidade dos canais de cálcio que é expressa seletivamente nas células ciliadas vestibulares o que explica os episódios de vertigem e vestibulopatia progressiva com audição normal desses pacientes.³⁹

Relação dos Sintomas Comuns entre as Síndromes	
Pacientes portadores de Síndrome de Menière	Pacientes portadores de Enxaqueca com Aura
Sintomas de Enxaqueca	Sintomas Menière-like
<p>Cefaléia</p> <p>Hinchcliffe et al, 1963 ⁴³ Eklund et al, 1999 ⁴⁴ Ceranich et al, 2006 ⁴⁵</p>	<p>Vertigem e Surdez Flutuante em baixas frequências</p> <p>Atkinson et al, 1962 ⁴⁸ Kayan et al, 1984 ⁶ Olsson et al, 1991 ⁴⁹ Baloh et al, 1997 & 2000 ^{50, 51} Radtke et al, 2002 ²⁵ Neuhauser et al, 2001 & 2004 ^{27, 32}</p>
<p>Sintomas tipo Aura</p> <p>Kentala et al, 1997 ⁴⁶ Baloh et al, 1999 ⁴⁷</p>	<p>Plenitude Auricular e Zumbido</p> <p>Baloh et al, 2000 ⁵¹ Radtke et al, 2002 ²⁵ Neuhauser et al, 2001 & 2004 ^{27, 32}</p>

Quadro 3. Relação dos sintomas comuns entre as síndromes. Fonte: Cal & Bahmad, 2008

1.7 DIFERENCIANDO ENXAQUECA COM AURA DA ENXAQUECA ASSOCIADA A DISFUNÇÃO AUDITIVO-VESTIBULAR

A primeira diferença que deve ser avaliada para diferenciar um quadro clínico de enxaqueca associada a disfunção auditivo-vestibular de uma enxaqueca com aura clássica é quanto à duração da cefaléia.

Nos quadros de enxaqueca clássica os sintomas podem durar de poucos segundos até 60 minutos, enquanto que nos casos de enxaqueca associada a disfunção auditivo-vestibular, os sintomas geralmente persistem por horas, dias e até mesmo semanas. Pacientes adultos que apresentam quadro clínico de enxaqueca associado a disfunção vestibular geralmente relatam vertigem espontânea ou de posição, às vezes iniciando com um quadro de vertigem espontânea e posteriormente se transformando em posicional.⁶

Um dado importante é que essa vertigem de posição difere da vertigem observada nos quadros de vertigem postural paroxística benigna (VPPB) quanto à duração. Normalmente pacientes com enxaqueca associada a disfunção cócleo-vestibular descrevem sensação vertiginosa por todo o tempo em que a cabeça permanecer na devida posição-gatilho, ao contrário dos quadros de VPPB onde a vertigem tem duração apenas de alguns segundos. Intolerância a movimentos é outro aspecto bem característico de enxaqueca associada a disfunção auditivo-vestibular muito similar com os aspectos clínicos da cinetose (sensação de desequilíbrio, ilusão de movimento e náusea agravada por movimentação cefálica).⁴⁰ Vertigem visual induzida por telas de cinema, iluminação como a de lojas e shoppings centers e telas de computadores também são muito características nos quadros de enxaqueca associada a disfunção auditivo-vestibular.

Quanto à duração dos ataques de vertigem, esses podem variar bastante, indo de minutos até 2 horas (46,4%), várias horas ou semanas (30,4%).¹⁶ Lembrando que alguns indivíduos muitas vezes levam semanas a meses para se recuperar totalmente de um ataque vertiginoso. Esses ataques podem ocorrer com uma frequência de dias, semanas, meses ou até mesmo anos de intervalo. No entanto, quando os achados clínicos tem duração entre 5 e 60 minutos, a diferenciação entre enxaqueca associada a disfunção auditivo-vestibular e um quadro de enxaqueca com aura pode ser mais complicado.

A arma mais importante do médico para fechar o diagnóstico de enxaqueca associada a disfunção auditivo-vestibular continua sendo uma boa história clínica. Em 2001, baseado nos critérios estabelecidos para o diagnóstico de enxaqueca da Sociedade Internacional de Cefaléia (IHS), Neuhauser et al. 2001, publicou em seu artigo científico os critérios clínicos adotados para o diagnóstico desta entidade.²⁴

Neste trabalho, que talvez até hoje, seja o que mais contribuiu para a padronização diagnóstica dessa entidade clínica, os autores definiram critérios diagnósticos de Enxaqueca associada à disfunção auditivo-vestibular para estas duas formas: definida e provável. O método utilizado por esses autores foi avaliar pacientes de três grupos distintos, o primeiro com pacientes presentes ao ambulatório de distúrbios vestibulares (n=200), o segundo grupo era composto de pacientes com quadro de enxaqueca (n=200), segundo os critérios da IHS e o terceiro grupo eram pacientes da clínica ortopédica do mesmo hospital que apresentavam as mesmas faixas etárias dos pacientes do grupo 1 (grupo controle/n=200).

Depois de avaliar esses grupos, os autores propuseram os seguintes critérios para classificar a enxaqueca associada a disfunção cócleo-vestibular (Quadro 2). Depois de avaliar esses grupos os autores definiram os seguintes critérios para definir quadros de enxaqueca associado à vestibulopatia:

- 1) Episódios de sintomas vestibulares, de moderada à severa intensidade (vertigem rotacional, vertigem posicional, outras sensações de intolerância à movimentação cefálica, etc)
- 2) Enxaqueca segundo os critérios da IHS
- 3) Pelo menos um dos seguintes sintomas de enxaqueca durante pelo menos dois ataques de tontura (cefaléia, fotofobia, fonofobia, distúrbios visuais ou outros sintomas de aura)
- 4) Exclusão de outras causas depois de investigação clínica

Sintomas vestibulares “leves” foram definidos como aqueles que não interferem nas atividades diárias do indivíduo, “moderados” quando interferem nas atividades diárias mas não as impede, e “severos” quando há impedimento pelo indivíduo de exercer suas atividades diárias. Vale lembrar que tonturas de origem não-vestibulares como hipotensão ortostática não foram incluídos. Os pacientes definidos como prováveis portadores de enxaqueca associada à vestibulopatia seguiam os seguintes critérios:

- 1) Episódios de sintomas vestibulares, de moderada à severa intensidade (vertigem rotacional, vertigem posicional, outras sensações de intolerância à movimentação cefálica, etc).

- 2) Pelo menos um dos seguintes sinais segundo a IHS para pacientes com enxaqueca: sintomas enxaquecosos durante ao menos dois episódios vertiginosos, sinais “gatilhos” para quadros de enxaqueca como alguns alimentos, irregularidades do sono, mudanças hormonais e resposta positiva à drogas anti-enxaqueca.
- 3) Descartar outras causas definidas de tontura após devida investigação diagnóstica.

Esses critérios são adotados pela maioria dos autores e serviços internacionais na tentativa de padronização do diagnóstico da enxaqueca associada a disfunção cócleo-vestibular.^{9,10,16,18,25,26,27,41} Mais recentemente, em 2003, Marcus e colaboradores desenvolveram um questionário baseado nos critérios estabelecidos por Neuhauser, para servir como uma ferramenta de triagem para pacientes com quadros de alterações vestibulares, onde o diagnóstico de enxaqueca associada à vestibulopatia é cogitado.²⁶

Vários autores já tentaram realizar estudos de avaliação vestibular e auditiva em pacientes com diagnóstico de enxaqueca associada a disfunção auditivo-vestibular, buscando estabelecer um padrão de achados vestibulares que ajudasse o diagnóstico clínico dessa entidade, ou mesmo na tentativa de utilizar testes de função vestibular para diferenciar enxaqueca associada a disfunção auditivo-vestibular de estágios iniciais de SM.^{9,16,18,,35,36,37}

1.8 DIFERENCIANDO ENXAQUECA ASSOCIADA A DISFUNÇÃO AUDITIVO-VESTIBULAR DA SÍNDROME DE MÉNIÈRE

Battista, em 2002, realizou uma análise audiométrica dos achados audiológicos em 76 pacientes com enxaqueca associada a disfunção auditivo-vestibular e 34 pacientes com diagnóstico de Síndrome de Ménière. Como resultado observou que apesar de haver algumas descrições na literatura de alterações auditivas nos pacientes com enxaqueca associada a disfunção auditivo-vestibular, a maioria deles apresentam níveis auditivos normais, enquanto que nos pacientes com Síndrome de Ménière isso não é observado (considerando que a flutuação auditiva faz parte do quadro clínico típico da Síndrome de Ménière).¹⁶

Outro estudo feito por Furman et al., com pacientes com enxaqueca associada a disfunção auditivo-vestibular realizando uma bateria de testes vestibulares e encontrou uma alteração nas provas de avaliação da função vestibulo-espinhal utilizando posturografia. Os pacientes com enxaqueca associada a disfunção cócleo-vestibular mostraram um aumento de balanço quando comparado com os dois grupos controle, principalmente no Sensory Organization Test 4,5 e 6 (Equitest®), enquanto que os mesmos pacientes apresentaram movimentos óculo-motores e respostas calóricas normais durante os intervalos entre os quadros vertiginosos^{18,23}, enquanto que alterações na prova da cadeira rotatória mostraram-se mais freqüentes do que achados anormais na eletroneistagmografia (ENG).^{15,36}

Já Dimitri e colaboradores realizaram uma análise de multivariáveis na tentativa de determinar uma diferença entre enxaqueca associada a disfunção cócleo-vestibular e SM utilizando testes vestibulares. Concluíram que uma resposta vestibular reduzida durante a prova calórica e alterações na prova da cadeira rotatória foram significativas em 91% dos casos para fazer essa diferença entre enxaqueca associada a disfunção cócleo-vestibular e SM.³⁵ Em resumo, não parece haver um padrão típico nos testes vestibulares para determinar o diagnóstico de enxaqueca associada a disfunção cócleo-vestibular, reforçando assim, cada vez mais, a importância de uma boa história clínica. Testes vestibulares como ENG, cadeira rotatória, eletrococleografia (ECoG) e potenciais evocados miogênicos vestibulares (VEMP) podem contribuir ou reforçar uma hipótese diagnóstica já estabelecida com a anamnese. Já para a diferenciação entre enxaqueca associada a disfunção auditivo-vestibular e SM, perda auditiva progressiva, continua sendo o melhor método de diferenciação entre essas duas desordens.

1.9 ANATOMIA E FISILOGIA DA ORELHA INTERNA

O equilíbrio corporal é resultado da integração da complexa estrutura sensório-motora, constituída pelos receptores sensoriais periféricos, sistema sensorial central, sistema de controle e planejamento motor central e o sistema periférico de execução motora, associada a capacidade de adaptação do ser humano ao meio ambiente.

O sistema de receptores sensoriais periféricos compreende os mecanismos somato-sensoriais, a visão e o sistema vestibular. O sistema vestibular periférico é formado

pelo labirinto (orelha interna) e nervos vestibulares, enquanto que os núcleos e inter-relações no sistema nervoso central compõem o sistema vestibular central.

A orelha interna é composta de duas partes: o labirinto ósseo, uma série de cavidades no interior da porção petrosa do osso temporal; e o labirinto membranoso, um conjunto de bolsas membranosas comunicantes, contidas nas cavidades ósseas. O labirinto ósseo é formado pela cóclea (na porção anterior) que está relacionada à audição. O vestíbulo (porção central) e os três canais semicirculares lateral, superior e posterior, (porção posterior), relacionada com o equilíbrio. Na figura 2 está representado o interior do labirinto ósseo, onde identifica-se três estruturas a saber: a cóclea constituída pela rampa timpânica, rampa vestibular, lâmina espiral óssea, e orifício do aqueduto da cóclea; o vestíbulo onde se encontra o recesso esférico, crista do vestíbulo, janela da cóclea, recesso coclear, orifício do aqueduto de vestíbulo e abertura do ramo comum; e os canais semicirculares.⁴²

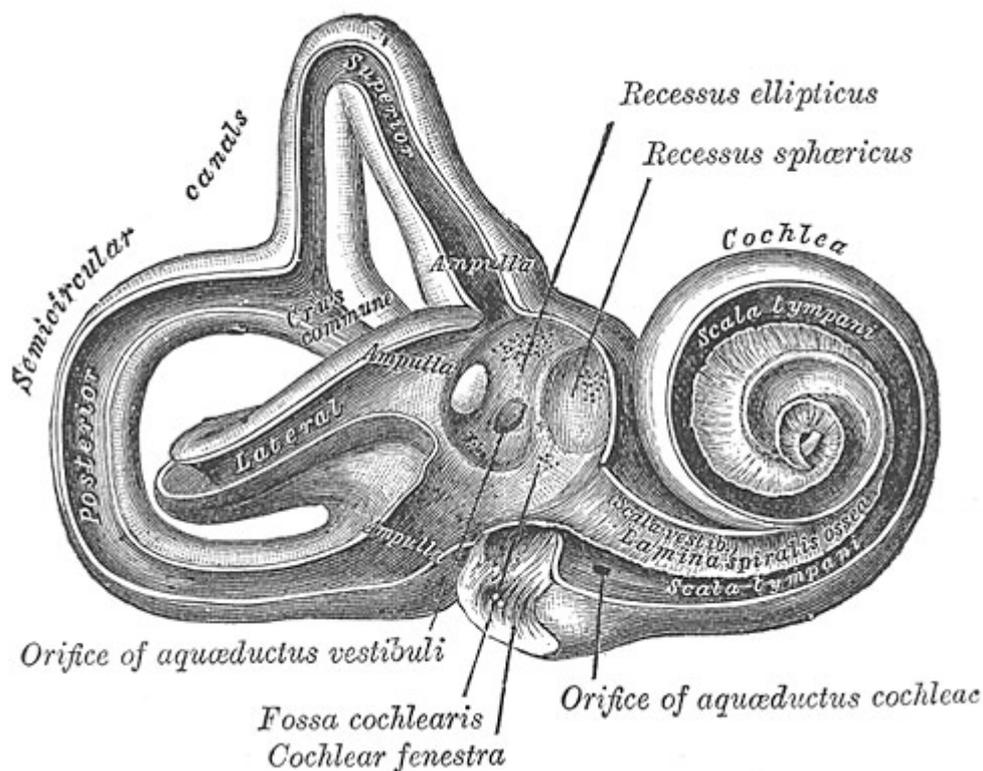


Figura 2. Interior do labirinto ósseo direito. Fonte: Warwick, 1979.

O labirinto membranoso (Figura 3) é constituído pelo ducto coclear anterior, sáculo e utrículo no interior do vestíbulo, pelos ductos semicirculares ao longo dos canais semicirculares que ocupam cerca de $\frac{1}{4}$ do diâmetro dos mesmos e pelo ducto e saco

endolinfáticos. Dentro do labirinto membranoso circula a endolinfa rica em potássio e pobre em sódio, como os líquidos intracelulares. O espaço localizado entre o labirinto ósseo e membranoso é preenchido pela perilinfa, rica em sódio e pobre em potássio, como os líquidos extracelulares.

O ducto endolinfático origina-se na parede posterior do sáculo (mais anterior e menor que o utrículo), percorre o aqueduto vestibular e termina em desdobraamento da duramater que reveste o osso temporal, o saco endolinfático. O labirinto membranoso anterior (ducto coclear) se comunica com o labirinto membranoso posterior (sáculo) por meio do ducto reuniens.

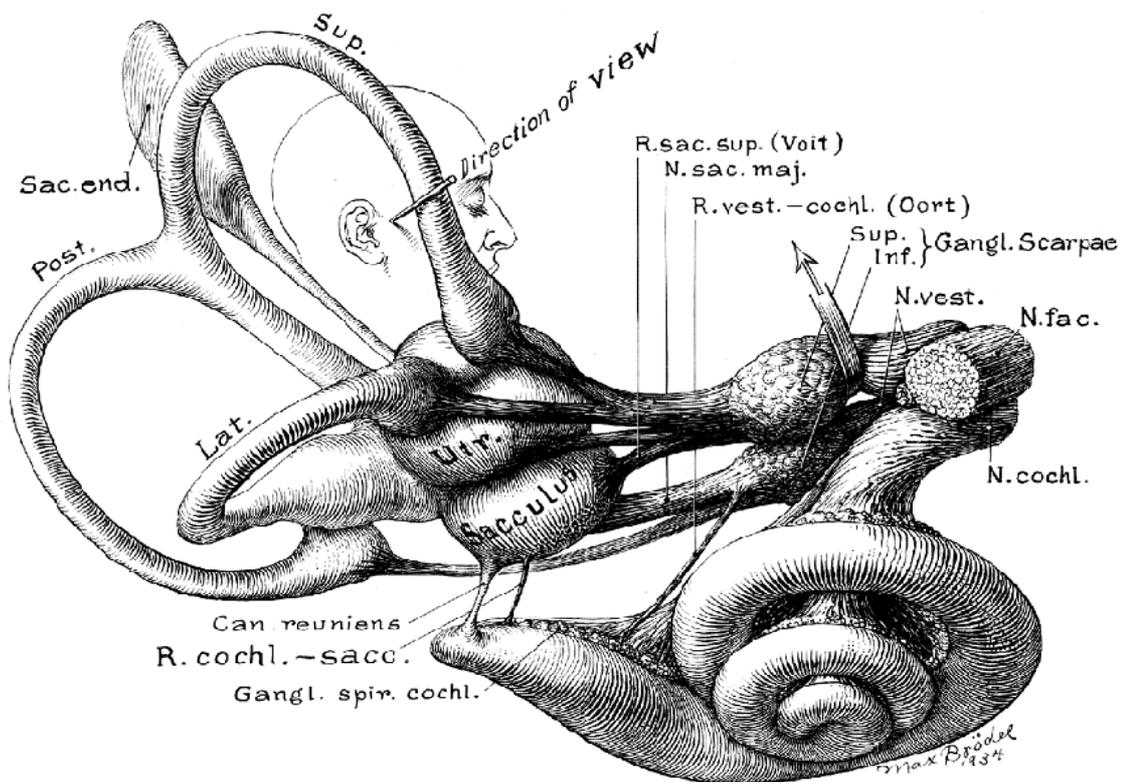


Figura 3. Esquema do labirinto membranoso projetado no interior do labirinto ósseo. Fonte: Max Brodel, 1937

O órgão da audição é composto por células sensoriais contidas no ducto coclear, este também chamada de escala média ou rampa média, dentro de um tubo espiral na cóclea óssea, situando-se ao longo da parede externa, na membrana basilar. A membrana basilar forma o assoalho deste ducto e uma segunda membrana, mais delicada, chamada membrana de Reissner, forma o teto. A porção situada acima da rampa média é denominada rampa vestibular, e a porção situada abaixo da membrana basilar é a rampa timpânica. (Figura 4)

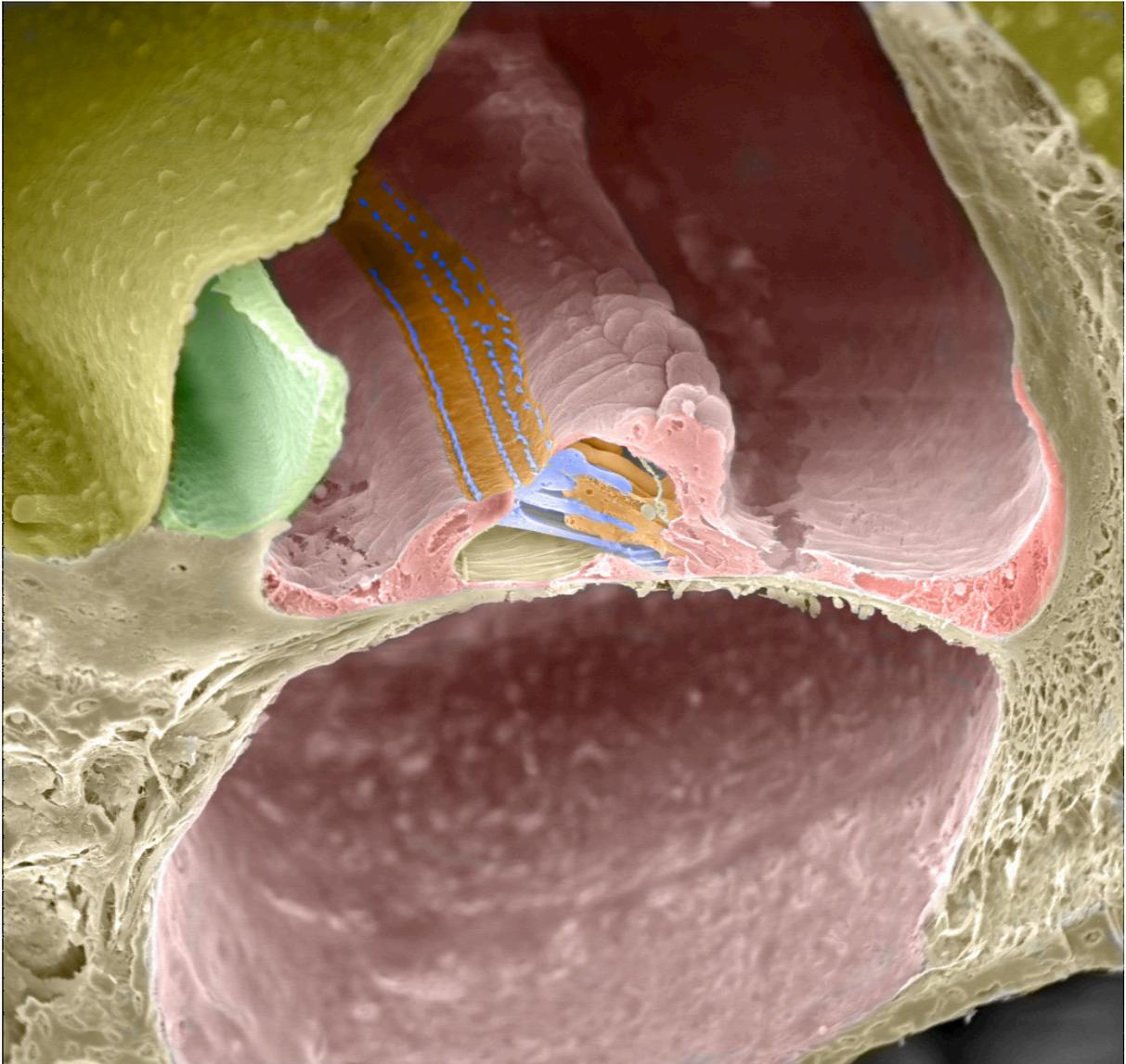


Figura 4. Fotomicrografia de microscopia eletrônica colorida revelando o órgão de Corti em corte transversal. Note as células ciliadas em azul. Fonte: Banco de fotos do laboratório de osso temporal da Massachusetts Eye & Ear Infirmary.

O órgão de Corti é uma estrutura epitelial que se estende ao longo do ducto coclear, sobre a membrana basilar e é dividido em duas partes: uma interna, constituída por células ciliadas internas, as mais inervadas no órgão de audição (Figura 5); e externa constituída por células ciliadas externas, mais numerosas, e menos inervadas. (Figura 6).

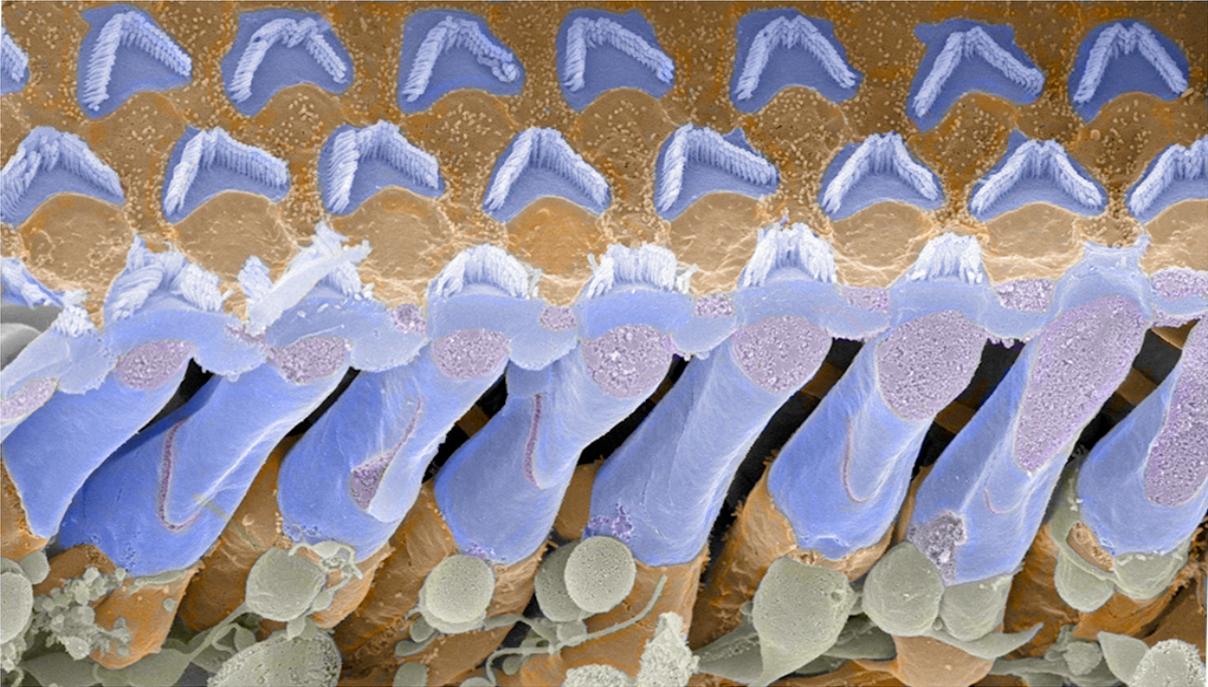


Figura 5. Fotomicrografia de microscopia eletrônica colorida revelando as células ciliadas externas (azul) e sua inervação (cinza). Fonte: Banco de fotos do laboratório de osso temporal da Massachusetts Eye & Ear Infirmary.

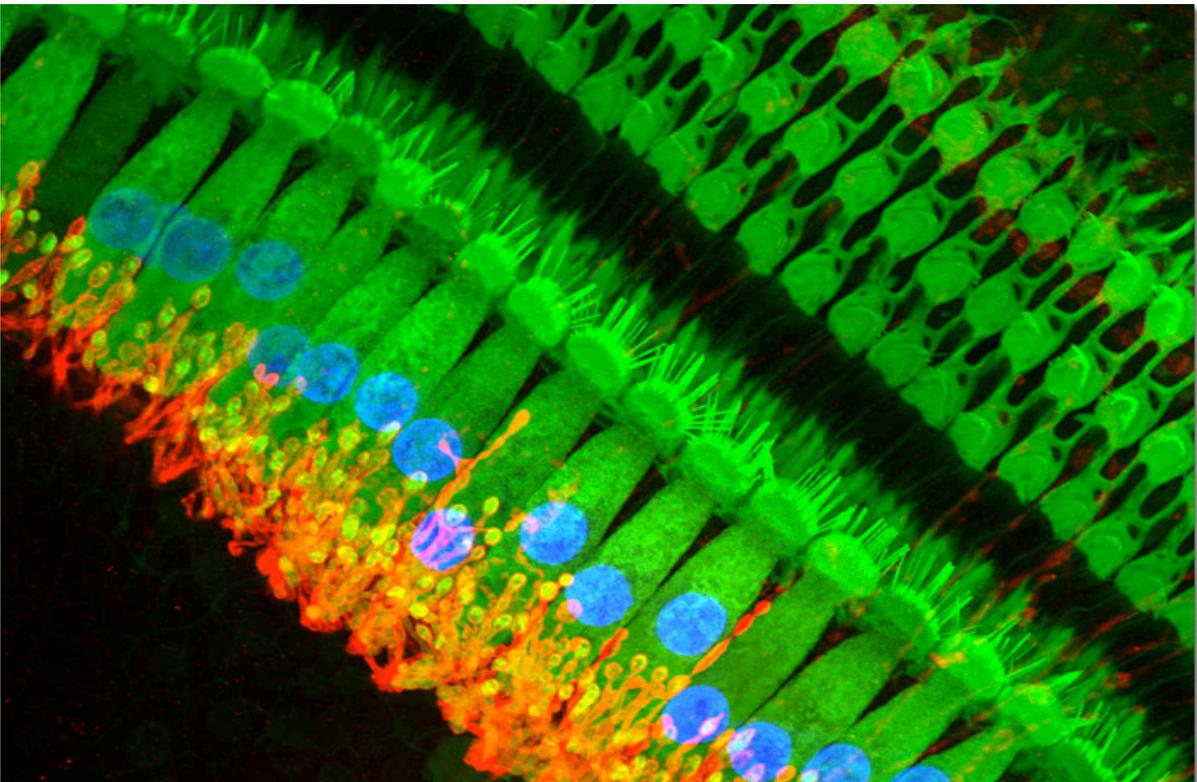


Figura 6. Fotomicrografia de microscopia eletrônica confocal evidenciando as células ciliadas internas. Corpo celular e cílios (verde); núcleos celulares (azul); fibras nervosas (laranja). Fonte: Banco de fotos do laboratório de osso temporal da Massachusetts Eye & Ear Infirmary.

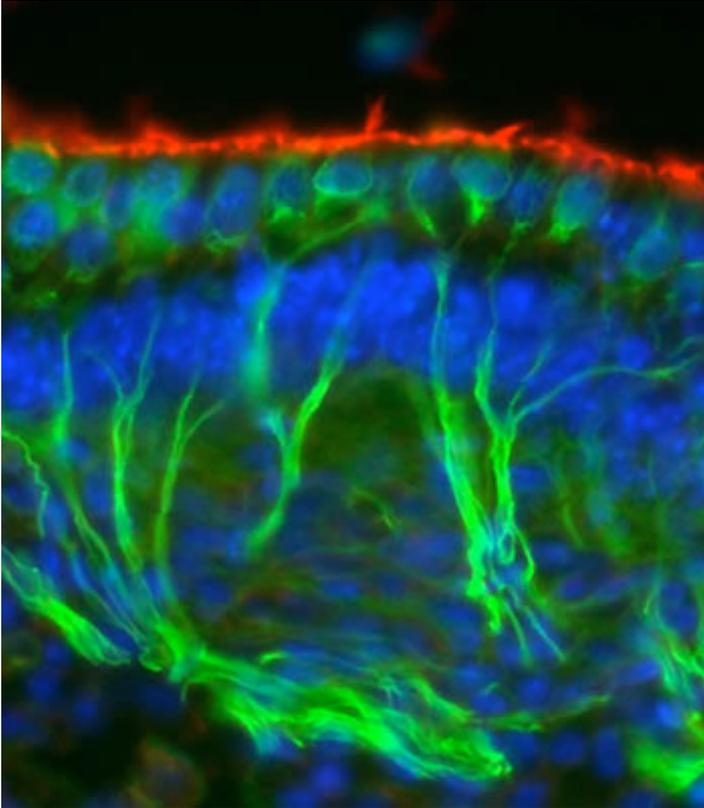


Figura 7. Fotomicrografia de microscopia eletrônica confocal evidenciando as células ciliadas vestibulares. Corpo celular (verde); cílios (vermelho); núcleos celulares (azul); fibras nervosas (verde). Fonte: Banco de fotos do laboratório de osso temporal da Massachusetts Eye & Ear Infirmary.

O nervo vestibulo-coclear (oitavo par craniano) divide-se perto da extremidade lateral do meato acústico interno em uma porção anterior ou coclear, e uma posterior ou vestibular. O nervo coclear, dividi-se em numerosos filamentos na base do modíolo; aqueles para os giros basal e médio do ducto coclear, passam pelos forames do trato espiral foraminoso, aqueles para o giro apical correm pelo canal central, e curvando-se para fora, transitam entre as lamelas da lâmina espiral óssea. O gânglio espiral constituído de células bi-polares das quais se originam as fibras do nervo, ocupa o canal espiral do modíolo. (Figura 8)

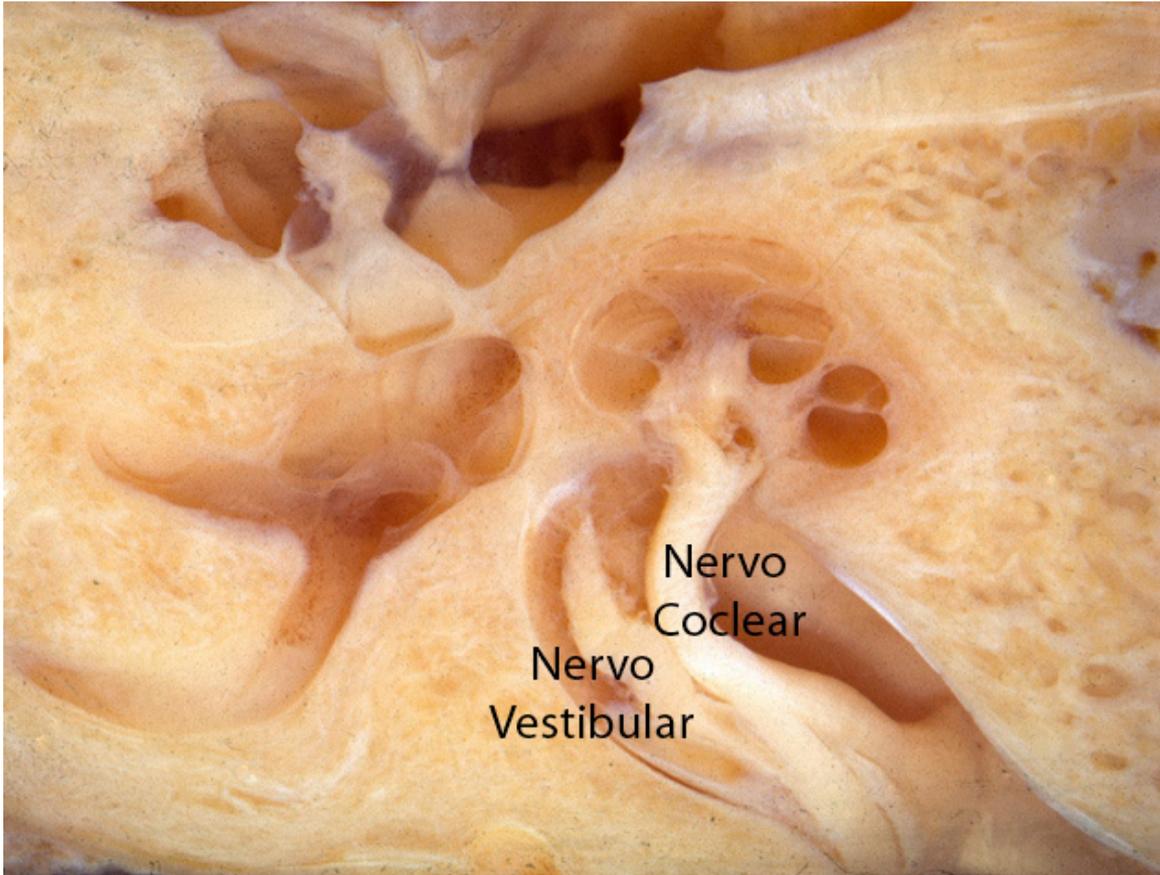


Figura 8. Fotomicrografia de osso temporal em secção médio-modiolar, evidenciando os nervos vestibulo-coclear. Fonte: Banco de imagens do laboratório de otopatologia da Massachusetts Eye & Ear Infirmary, Harvard Medical School, Boston – MA – EUA.

1.10 FISIOPATOLOGIA

A fisiopatologia da MAD ainda não foi totalmente esclarecida, mas suas manifestações clínicas podem ser das mais diversas formas. Alguns estudos têm documentado que as crises frequentes de enxaqueca podem deixar sequelas auditivo-vestibulares permanentes. Testes calóricos assimétricos podem ocorrer com mais frequência nestes pacientes, se comparados com a população controle.¹⁸

Baloh em 1997, estudou três famílias com numerosos indivíduos apresentando enxaqueca com episódios fugazes de vertigem e após alguns anos, esses pacientes apresentaram perda progressiva da função vestibular periférica.³⁹

No estudo genético por análise de linkage esses pacientes apresentaram suspeita de mutação na subunidade dos canais de cálcio que é expressa seletivamente nas células

ciliadas vestibulares o que explica os episódios de vertigem e vestibulopatia progressiva com audição normal destes pacientes.

Brown em 1941 relatou a frequência elevada de história familiar para hipoacusia e cefaléia, e sua possível relação, em cinco famílias. Acreditava no fator hereditário para hidropisia labiríntica, associada a hipoacusia neurosensorial e vertigem. Concluiu que Síndrome de Ménière e Enxaqueca poderiam ocorrer não somente na mesma família, mas também, no mesmo paciente.⁴³

Bernstein em 1965 analisou sete famílias com mais de um indivíduo afetado por vertigem e hipoacusia. As evidências sugeriram relação entre sintomas da Síndrome de Ménière, Enxaqueca e Sistema Nervoso Autônomo. Em alguns casos considerou, possível, o fator hereditário. A análise cuidadosa dos heredogramas estudados indicava uma herança autossômica dominante com penetrância incompleta. Contudo análises rigorosas da maioria dessas famílias revelaram que todos os indivíduos afetados nesses estudos, não tinham a forma clássica da Doença de Ménière. E acreditavam que isto seria possível se os indivíduos da família tivessem sido expostos aos mesmos agentes ambientais.⁴⁵

Paparella em 1991 demonstrou uma frequência acima de 20% de história familiar positiva sugestiva de Ménière em pacientes portadores dessa patologia, sugerindo, com isso, haver uma predisposição genética para essa doença em alguns pacientes.⁴⁶

Em 1992, Oliveira e Braga publicaram o relato de uma família afetada pela Síndrome de Ménière, a qual tem como modo de transmissão genética a forma autossômica dominante, e a cefaléia estava associada ao quadro em vários indivíduos da referida família. A partir desses dados, os autores citados propuseram não haver diferença entre a Síndrome de Ménière hereditária e a Síndrome de Ménière esporádica (idiopática). Apenas o modo de transmissão da primeira seria autossômico dominante, enquanto o da segunda seria uma mutação esporádica, distinguindo-se do pensamento defendido por Kognismark & Gorlin. Esse modo de transmissão era sugerido apenas pela análise do heredograma, necessitando assim de comprovação através de análise genética.¹²

Morrison em 1995, estudando 41 famílias com mais de um indivíduo afetado por sintomas auditivos e vestibulares, conclui que se trata de síndrome geneticamente

determinada. Famílias estudadas mostraram uma herança autossômica dominante com penetrância da mutação em mais de 60% das irmandades. Nestas famílias muitos indivíduos exibiam predominantemente sintomas vestibulares. Propôs o fenômeno da antecipação por meio de sucessivas gerações, em que os primeiros sintomas surgem precocemente nas gerações mais jovens e há tendência de maior severidade nas manifestações da doença. A penetrância incompleta do gene pode explicar o salto de gerações e alguns casos "esporádicos".³⁸

Fransen e colaboradores em 1999 através do estudo genético de ligação (*Linkage*) de uma família, com perda auditiva neurosensorial progressiva, não sindrômica, com disfunção vestibular, mapearam uma doença do locus DFNA9 no cromossomo 14.⁴⁷ Pela análise da mutação do gene COCH mostraram uma pequena mutação já descrita por BOM e colaboradores.⁴⁸

Esta mutação também estava presente na família descrita por Khetarpal e colaboradores em 2000, com perda auditiva neurosensorial não sindrômica autossômica dominante, o qual é originário da família DFNA9.⁴⁹ Como mais de 25% dos pacientes da família estudada por Fransen e colaboradores em 1999 apresentavam episódios de zumbido, vertigem, pressão auricular e perda auditiva, os autores estabeleceram que uma mutação genética específica num locus de gene conhecido poderia levar a Doença de Ménière. Porém, fizeram a observação de que a hipoacusia flutuante característica da Doença de Ménière não estava presente na maioria dos pacientes e a perda auditiva, quando presente, somente nas altas frequências.⁴⁷

1.11 O GENOMA HUMANO

Nos últimos anos, houve uma grande explosão no aprimoramento de técnicas para o desenvolvimento de estudo na área de genética molecular. A genética molecular é uma subdivisão da biologia molecular, sendo responsável pela pesquisa da localização cromossômica dos genes, do isolamento dos genes propriamente ditos, da detecção de mutações genéticas e de suas consequências, tanto em termos de funcionamento celular quanto de determinação de fenótipos.

Se os genes humanos representam somente 2 a 3% do total de DNA, os cientistas decidiram primeiro pela localização dos genes (descobertos atualmente cerca de 50.000) para, em seguida, isolá-los e decodificar a informação genética contida em cada um deles, determinando completamente a sequência de seus pares de bases.⁵⁰

1.11.1 Princípios da Genética

Os genes distribuem-se nos cromossomos de forma linear e cada um possui uma posição definida em um determinado cromossomo, chamada de *locos*. As formas alternativas de um gene, que podem ocorrer em um determinado *locos* cromossômico, são designadas por alelos. Quando um indivíduo possui alelos idênticos para um dado *locos*, afirma-se que é homozigoto. Caso presente, no mesmo *locos*, alelos diferentes em cada cromossomo homólogo, diz-se que é *heterozigoto* para aquela característica genética ou para aquele gene.

Os alelos presentes em um determinado *locos* constituem o genótipo, enquanto as características que se observam em um indivíduo, em nível morfológico ou bioquímico, representam seu fenótipo. O termo genótipo também designa o conjunto de todos os alelos presentes em um indivíduo, ou seja, sua constituição genética.

Se um fenótipo se expressa mesmo quando somente um cromossomo do par apresenta o alelo correspondente, afirma-se então que este fenótipo é dominante. Por outro lado, se a expressão de um fenótipo exige a presença de dois alelos do mesmo tipo, trata-se de um fenótipo recessivo. Quando o indivíduo possui alelos diferentes e a expressão de um dos alelos não se sobrepõe a expressão do outro, diz-se que os alelos são co-dominantes e ambos os genes apresentam expressão no fenótipo.

1.11.2 Organização do Genoma Humano

Genoma é o termo usado para designar um complemento total de genes em uma célula, um indivíduo ou uma espécie. Assim, os gametas (células haplóides) possuem uma cópia do genoma, enquanto as células somáticas (diplóides) apresentam duas cópias.

O GENOMA NUCLEAR

Cada cromossomo humano consiste de uma única molécula de DNA de tamanho variado. O menor cromossomo humano, de número 21, tem 50 Mb (cerca de 1,7 cm se a molécula estivesse completamente distendida), enquanto o maior deles, o cromossomo 1, contém 250 Mb (correspondendo a 8,5 cm).

A posição do centrômero nos permite distinguir três tipos de cromossomos humanos: metacêntrico, submetacêntrico e acrocêntrico. Diversos são os pares de cromossomos humanos que não podem ser distinguidos entre si somente pelas suas formas. Entretanto, existe uma variedade de tratamentos que causam o aparecimento de bandas ao longo dos cromossomos, permitindo assim a sua distinção.

No método conhecido como banda G, por exemplo, os cromossomos são tratados com tripsina, a fim de digerir, de modo controlado, os cromossomos, as *proteínas* cromossômicas, quando então são corados com Giemsa (daí o nome "*banda G*"). As bandas visualizadas são características de cada par de homólogos, pois refletem o seu conteúdo de DNA.

Cerca de 75% do genoma humano é constituído de sequências simples de DNA, isto é, sequências de nucleotídeos únicos ou aparecem muito poucas vezes representadas no genoma. O DNA restante é composto de sequências que se repetem de centenas a milhões de vezes, compondo o DNA repetido (rDNA). A partir dos genes é sintetizado um RNA e, portanto, os genes apresentam atividades de transição. De toda forma, o total de DNA codificador (genes) compõe somente cerca de 2 a 3% do genoma humano e encontra-se principalmente entre as sequências únicas de DNA.

O MAPA DO GENOMA HUMANO

Basicamente, existem dois tipos de mapas que podem ser construídos quando consideramos a localização dos genes do genoma: o mapa genético e o mapa físico.

- mapa genético - aquele que dá a posição de um gene em relação a

outro gene ou a uma sequência de DNA conhecida;

- mapa físico - refere-se a posição física de um determinado gene dentro do genoma, calculada em unidades físicas de comprimento (por ex: número de pares de bases).

a) O mapa genético

O mapa genético é determinado por meio da taxa de recombinação entre genes localizados no mesmo cromossomo. Entretanto, a taxa de recombinação entre dois genes, que se encontram no mesmo cromossomo, depende do *crossing-over*. Contudo, a ocorrência de um *crossing-over* entre dois genes depende da distância entre os mesmos. A unidade de distância usada em mapas genéticos é o centiMorgan (cM), como homenagem a *Thomas Hunt Morgan*, um grande geneticista. Cada centiMorgan representa 1% de chance de que dois genes ligados venham a separar-se durante a meiose.

A obtenção de um mapa genético de ligação (*Linkage*) é extremamente laboriosa. Depende da análise de um vasto número de experimentos de cruzamento entre indivíduos que diferem para as características que se deseja localizar. No caso da espécie humana, experimentos de cruzamentos são eticamente inaceitáveis. Assim, evidências de ligação entre dois genes dependem da análise de diversas gerações em várias famílias. Esse método ainda é, em alguns casos, o mais apropriado, permitindo assim a localização de um gene, mesmo que não se tenha qualquer conhecimento prévio sobre sua base bioquímica ou molecular. É, de fato, o que acontece com a maioria dos genes que determinam as doenças genéticas.

Devido a escassez de genes no genoma humano, muitas vezes os estudos de ligação para o mapeamento de um gene são feitos em relação a uma sequência de DNA conhecida que pode ser facilmente identificada, ao invés de serem feitos em relação a um segundo gene. Tais sequências são designadas como marcadores e, dada a sua abundância, desde a descoberta dos locos marcadores, o mapa do genoma humano teve um incremento significativo

Quando se tem um gene isolado é possível estudar sua estrutura e caracterizar as alterações moleculares, ou mutações, que resultam em doenças genéticas. A aquisição desses conhecimentos tem aplicações imediatas no diagnóstico de

doenças genéticas e pode permitir um dia o tratamento das sequências defeituosas de DNA nos pacientes por meio da terapia gênica.

1.11.3 DNA no Diagnóstico das Doenças Humanas

As doenças genéticas, quando consideradas isoladamente, costumam ser raras, mas são tantos os distúrbios com um componente genético importante que, se considerados na sua totalidade, afetam um número significativo de indivíduos. Felizmente, progressos alcançados no mapeamento dos genes humanos e a aquisição da tecnologia do DNA recombinante tem permitido, paralelamente, o desenvolvimento de novos métodos para se estudarem os genes responsáveis por várias doenças genéticas importantes.

ORIGEM DAS DOENÇAS GENÉTICAS

Praticamente, qualquer doença resulta da ação combinada dos genes com fatores do meio ambiente. Entretanto, a importância do papel desempenhado pelos genes no aparecimento de cada condição mórbida pode variar muito.

As doenças genéticas incluem:

a- doenças monogênicas - aquelas causadas pela alteração de um único par de genes. A mutação pode estar presente em apenas um alelo (acompanhado de um alelo normal no cromossomo homólogo e, neste caso, o indivíduo afetado é heterozigoto) ou em ambos os alelos (homozigoto). Nas duas situações a causa da doença é a mutação em um gene específico. Essas doenças apresentam um padrão claro de transmissão de uma geração a seguinte;

b- doenças multifatoriais - aquelas provindas de fatores ambientais (estresse, cigarro, dieta etc.) e da interação de vários genes. Assim, as doenças não resultam de um erro particular na informação genética, mas sim de pequenas variações que, somadas, predisõem a um defeito grave. Embora as doenças multifatoriais tendam a recorrer em

certas famílias, esses distúrbios não apresentam padrões de transmissão típicos como as doenças monogênicas;

c- doenças cromossômicas - aquelas decorrentes da deficiência ou do excesso de cromossomos inteiros ou de segmentos cromossômicos que se originam devido a erros na divisão celular. Assim, as alterações cromossômicas envolvem muitos genes e, geralmente, manifestam-se como uma síndrome que afeta vários órgãos e sistemas do indivíduo;

d- doenças genéticas das células somáticas - aquelas em que alguns indivíduos geneticamente "normais" ao nascerem possam vir a desenvolver certas mutações genéticas nas células somáticas. Fatores ambientais como vírus, radiação e agentes químicos podem estimular danos no material genético, vindo a causar muitas formas de câncer e o envelhecimento celular.

PADRÕES DE HERANÇA DAS DOENÇAS MONOGÊNICAS

As doenças monogênicas são também chamadas de mendelianas, pois seguem as leis de Mendel na transmissão de uma geração a outra e, em média, ocorrem em proporções fixas na prole de certos tipos de casamentos. Existem quatro padrões básicos pelos quais as doenças monogênicas podem ser herdadas e esses padrões dependem de dois fatores:

- se o gene está localizado no cromossomo "X" ou em qualquer outro cromossomo, a herança será ligada ao X ou autossômica, respectivamente;
- se a doença se manifesta como um fenótipo dominante (se expressa no heterozigoto, indivíduo com um alelo mutante) ou recessivo (somente se expressa no homozigoto, indivíduo com ambos os alelos mutantes).

Na herança autossômica dominante os indivíduos afetados pela doença são quase que exclusivamente heterozigotos (Aa), pois o aparecimento de um indivíduo homozigoto requer o casamento entre duas pessoas afetadas por uma doença que é, na maioria das vezes, extremamente rara na população.

As características típicas da herança autossômica dominante apresentadas no heredograma são:

- transmissão vertical - pacientes afetados tem um dos pais afetado, e a doença é transmitida sem saltar gerações;
- pessoa afetada, casada com outra normal - probabilidade 50% de gerar uma criança afetada;
- indivíduos de ambos os sexos - podem igualmente ser afetados;
- homens e mulheres - com possibilidades de transmitirem a doença.

Evidentemente, esses padrões de herança ajudam a reconhecer a origem genética de uma doença. Contudo, na prática, a determinação de que uma doença é de origem genética ou possui uma forte influência dos genes, é muito mais complicada do que se possa imaginar. O fato de uma doença manifestar-se em mais de um indivíduo de uma mesma família não chega a ser suficiente para afirmar de que ela é genética. A exposição da referida família a fatores como agentes infecciosos ou maus hábitos alimentares poderá ser determinante.

Pode-se dizer que, nem sempre, um indivíduo que carrega um gene para uma doença autossômica dominante manifesta os sinais clínicos dessa doença. Assim, diz-se que não houve penetrância do gene, mas, mesmo assim, ele pode transmitir o gene vindo a nascer um filho afetado pela doença.

A manifestação de um gene nem sempre acontece na mesma intensidade em todos os indivíduos portadores do gene, podendo apresentar expressão variável que, vez ou outra, permite que um indivíduo que carrega o gene, mesmo que dominante, passe despercebido. São situações que vem complicar sobremaneira o aconselhamento genético e a estimativa do risco desses indivíduos gerarem filhos afetados.

A introdução da tecnologia do DNA recombinante no diagnóstico de doenças genéticas veio permitir a superação de grande parte desses problemas. Quando se analisa o gene (DNA) ao invés de seu produto primário, estamos nos referindo diretamente à origem do problema.

1.11.4 Programas de Triagem Populacional

O diagnóstico era realizado em situações nas quais havia alto risco de aparecimento de uma doença genética, seja pelo fato de os casais já possuírem um filho afetado, seja pelo motivo dos indivíduos, sob análise, ser parentes de pessoa afetadas. De toda forma, a história familiar nesses casos é a principal indicação para o diagnóstico genético pela análise do DNA.

Eventualmente, entretanto, os testes genéticos são aplicados a toda uma população, mesmo naqueles indivíduos sem qualquer ocorrência prévia da doença na família. Programas de triagem populacional são realizados na expectativa de se detectar todos os indivíduos que apresentam um determinado genótipo, que os predispõe a desenvolver uma certa doença genética ou a ter filhos afetados.

1.11.5 Ética e Genética

Se por um lado o desvendamento completo do genoma humano dará margem a discriminação genética, por outro lado, teremos em mãos ferramentas concretas para lutar contra tais preconceitos. Um dos frutos que se espera do Projeto Genoma Humano é ampliar o nosso entendimento sobre a variabilidade genética e como ela é determinada.

2 OBJETIVOS

O presente trabalho tem por objetivo a:

- Caracterização clínica da enxaqueca associada a disfunção auditivo-vestibular
- Identificação do defeito genético responsável pela enxaqueca associada a disfunção auditivo-vestibular nos membros afetados.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina de Brasília – CEP-FM/UnB, pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa – CONEP, e pela Mesa Diretora de Projetos Científicos do Departamento de Genética da Harvard Medical School.

Membros de uma família brasileira, caucasiana, de cinco gerações de Brasília foram inicialmente avaliados no Departamento de Otorinolaringologia do Hospital Universitário de Brasília. Termos de consentimento informado foram obtidos de todos membros antes de sua participação no estudo.

Os indivíduos foram avaliados por uma equipe multi-profissional, incluindo um otorrinolaringologista, neurologista e audiólogista. Todos membros participantes preencheram um questionário previamente validado e descrito por Marcus *et al.*³³ O diagnóstico de enxaqueca com aura foi feito usando o critério da Sociedade Internacional da Cefaléia. Vertigem não foi considerado como aura para o diagnóstico de enxaqueca com aura.

3.1 ANÁLISE CLÍNICA

Todos pacientes com o diagnóstico confirmado de enxaqueca foram então reavaliados por um otoneurologista, e assim identificados como portadores ou não de Enxaqueca associada a Disfunção Auditivo Vestibular, usando o critério diagnóstico proposto por Neuhauser e colaboradores.²⁴

1. Sintomas vestibulares episódicos de ao menos moderada intensidade (Vertigem rotatótria, vertigem posicional).
2. Enxaqueca de acordo com o Critério da Sociedade Internacional da Cefaléia (IHS).

3. Pelo menos um dentre os sintomas de enxaqueca durante pelo menos 5 episódios de vertigem: cefaléia enxaquecosa, fotofobia, fonofobia, auras do tipo visual ou outras.
4. Outras causas excluídas através de investigação apropriada.

Todos indivíduos afetados foram submetidos a audiometria tonal e vocal com análise de discriminação da voz, e também a exames vestibulares constituídos de testes calóricos e prova rotatória, além de avaliação por exames de imagem do encéfalo com contraste (tomografia computadorizada e ressonância nuclear magnética em alguns casos).

3.2 ANÁLISE GENÉTICA

3.2.1 Obtenção do DNA Genômico

O DNA genômico foi isolado através de células nucleadas do sangue ou saliva de 46 membros da família:

- Sangue - o DNA foi extraído dos glóbulos brancos (leucócitos), uma vez que as hemácias não possuem núcleo (Figura 9);
- Saliva – o DNA foi extraído das células epiteliais da mucosa jugal

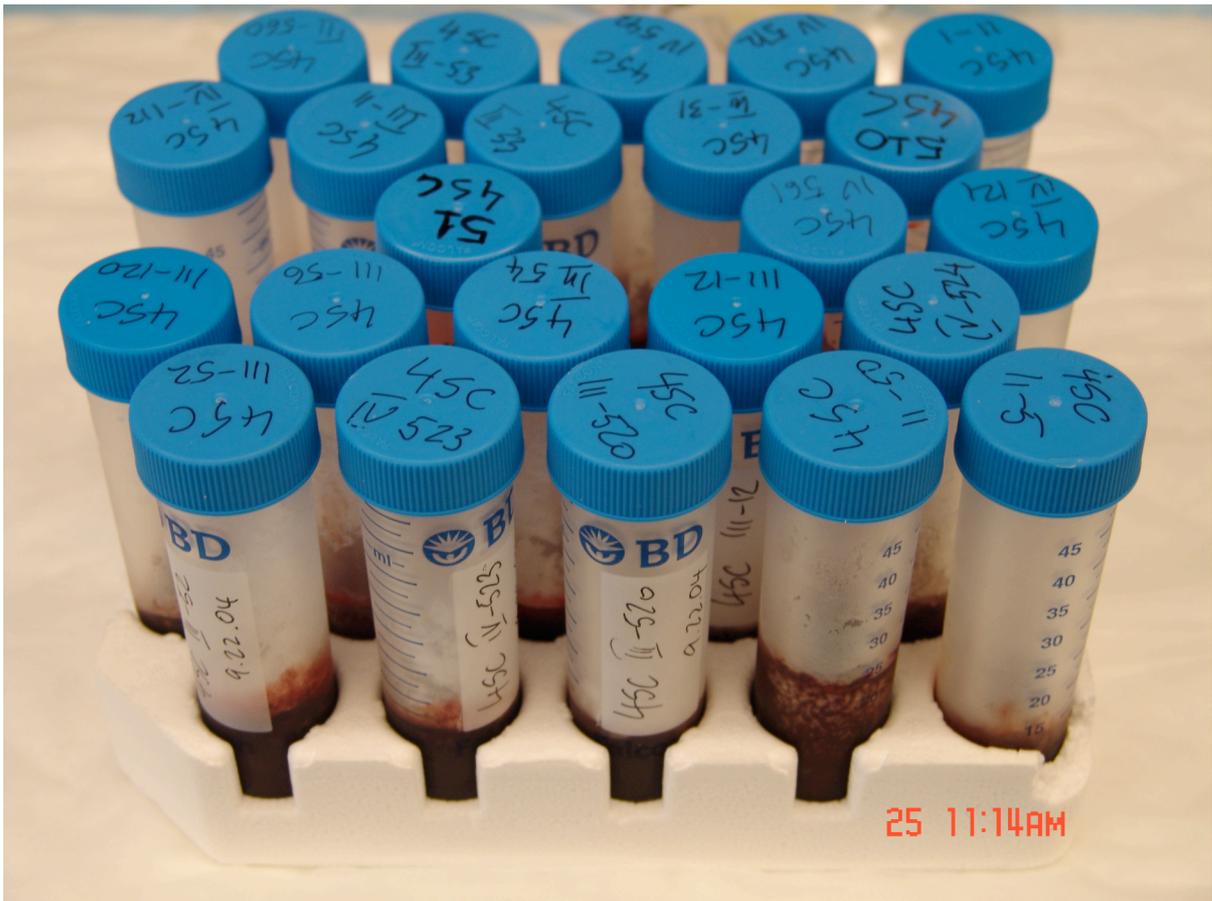


Figura 9. Amostras de sangue da família em estudo, material de onde foi extraído o DNA genômico.

A extração e a purificação do DNA genômico compreenderam vários passos que incluíram a lise das células, extração das proteínas e do RNA e precipitação do DNA.(Figura 10)

O DNA obtido foi quantificado e submetido a amplificação pela reação em cadeia da polimerase (PCR), gerando milhares de fragmentos. O gene que desejamos analisar está contido em um ou mais destes fragmentos.

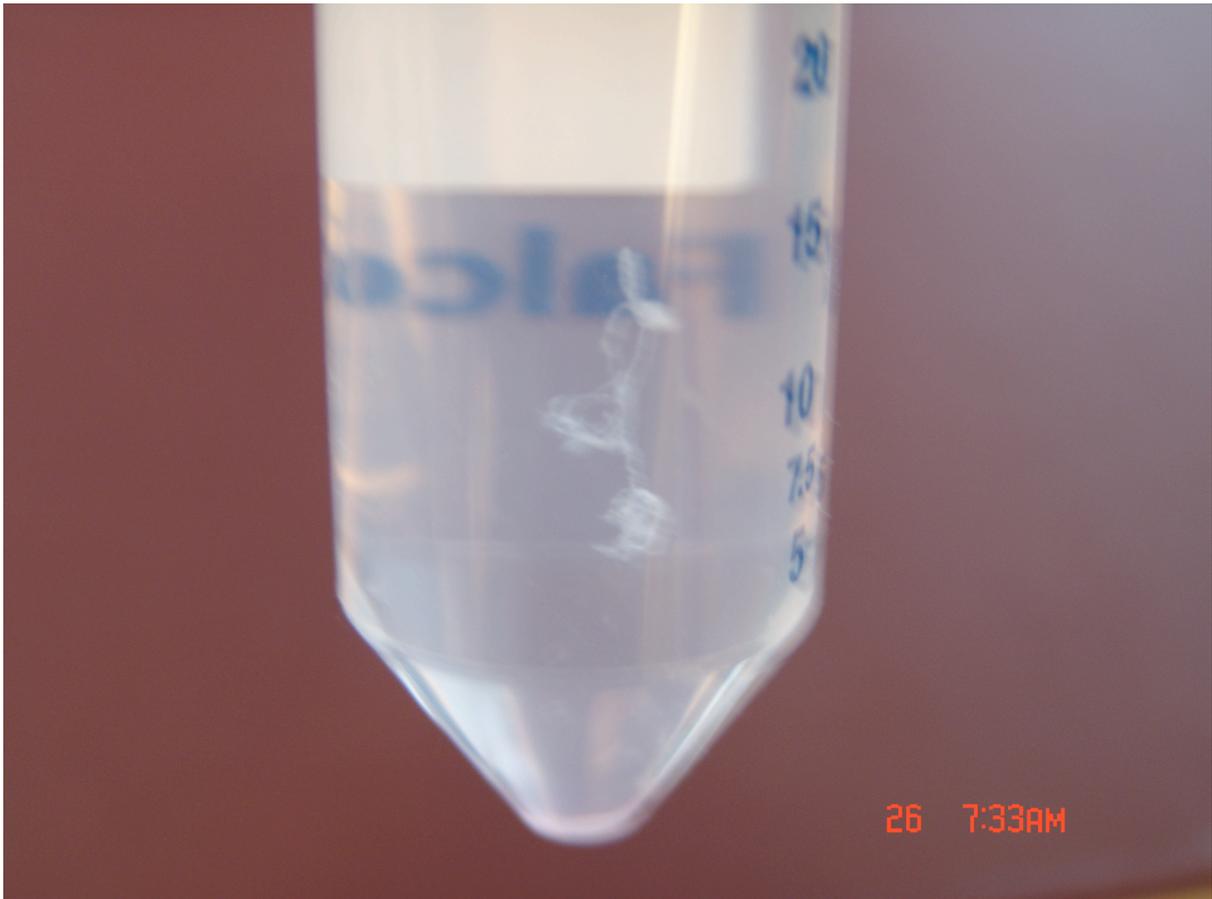


Figura 10. Tubo Falcon de 50 ml evidenciando a precipitação do DNA após purificação. Fonte: banco de fotos do próprio autor.

3.2.2 Eletroforese

Foi utilizada a técnica de eletroforese em gel de agarose para separar e visualizar os fragmentos de DNA produzidos pela digestão com enzimas de restrição. O método é conhecido há vários anos, mas a partir de 1970 passou a ser aplicado também na separação do DNA, tirando-se vantagem do fato uma vez que essa molécula apresenta cargas negativas devido a presença do ácido fosfórico.

O material a ser analisado foi submetido a um campo elétrico, em pH neutro. As moléculas de DNA são atraídas para o pólo positivo (anodo) e repelidas pelo pólo negativo (cátodo). Como resultado, ocorre uma migração diferencial dos fragmentos, a qual é inversa ao tamanho da molécula. Os fragmentos pequenos de DNA alcançam distâncias maiores em relação a origem, quando comparados com os

fragmentos grandes, os quais tem maior dificuldade para atravessar a resistência da matriz.

A molécula do DNA é grande e complexa que, após a digestão com as enzima de restrição, milhões de fragmentos foram gerados, de tal forma que é impossível individualizar os fragmentos quando o DNA é visualizado sob luz UV, após a eletroforese em gel de agarose.

Portanto, o que se observou não foram propriamente bandas separadas, mas sim uma faixa contínua dos fragmentos distribuídos por ordem de tamanho. Nessa fase, qualquer DNA humano tem o mesmo aspecto, quer ele provenha de um indivíduo normal ou de um paciente com doença genética grave. Mesmo assim, a observação do gel foi uma etapa muito importante do processo, pois nos indicou se a digestão do DNA foi bem feita e se a eletroforese foi bem sucedida.

Paralelamente ao DNA humano sob análise, foi colocado no mesmo gel uma amostra de DNA, que evidencie na eletroforese fragmentos de tamanhos conhecidos, os quais serviram como pontos de referência (marcador).

Uma vez que se conhece o tamanho de cada banda, foi possível construir uma curva que relaciona o tamanho do fragmento (em pb ou kb) com a distância (em cm ou mm) atingida por cada banda. Esta curva permitiu estimar o tamanho de um certo fragmento no DNA humano por meio da distância correspondente percorrida.

O próximo passo foi identificar, entre os milhões de fragmentos, aquele referente ao gene/locus que se quer diagnosticar, para verificar se trata de um gene normal ou mutante. Isso foi feito através da hibridização.

3.2.3 Hibridização com Oligonucleotídeos Alelo Específicos (Aso)

O DNA genômico, na concentração de 50ng/ μ l, foi fixado em filtro de nitrocelulose. Essa pequena amostra de DNA em solução foi gerada a vácuo, em um método conhecido como *dot-blot*. O DNA previamente desnaturado e hibridizado foi fixado na membrana com sondas que reconhecem um alelo particular. Para essa

hibridização utilizou-se, como sonda uma sequência de oligonucleotídeos perfeitamente complementar a cada elo possível do gene. (*Atlele-Specific Oligonucleotide - ASO*) (Figura.11).

Dessa forma, foi possível distinguir diferentes alelos de um mesmo gene, pois essa hibridização é tao sensível, que somente ocorre em caso do oligonucleotídeo ser absolutamente complementar ao alelo.

Fragmentos de RNA do paciente a ser testado (com o sinal vermelho)

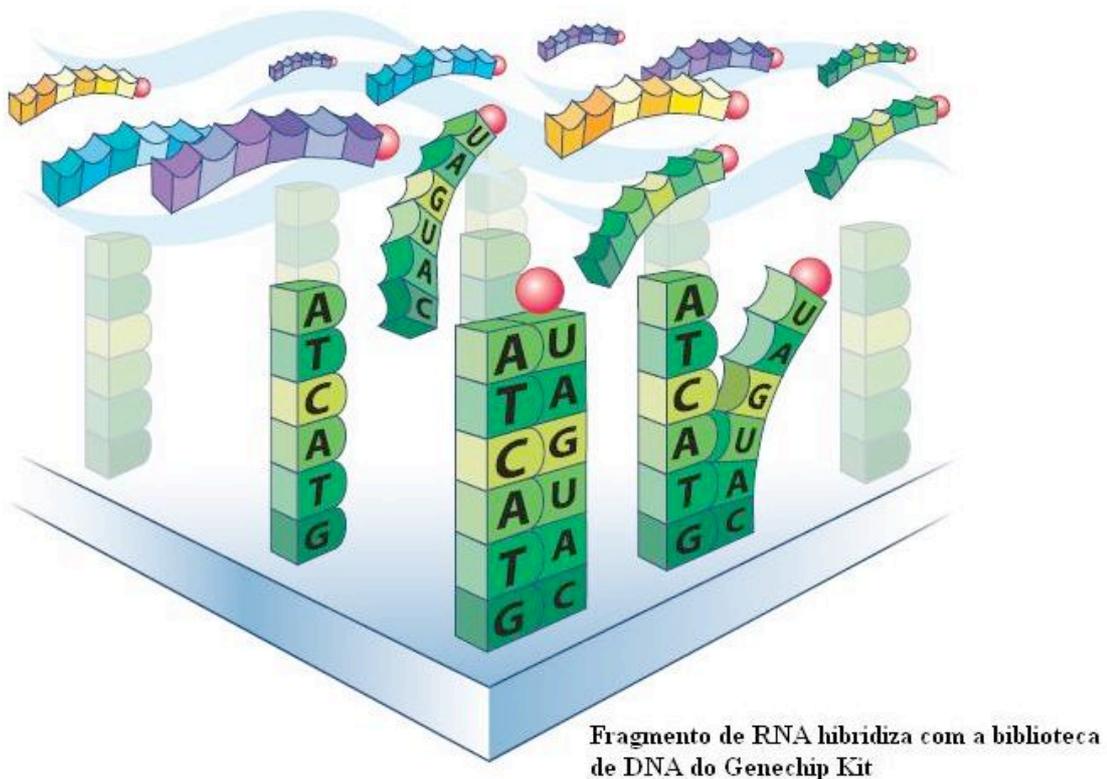


Figura 11. Ilustração do processo de hibridização através do Genechip Kit[®]. Fonte: Manual oferecido pela Affymetrix Corporation.

3.2.4 Análise de Ligação (*Linkage*)

O DNA genômico amplificado pela técnica de reação em cadeia da polimerase (*Polymerase Chain Reaction - PCR*) foi submetido a análise de ligação ou análise de

Linkage, do inglês, que é uma técnica bioestatística para localização de regiões cromossômicas contendo os genes com mutações.

O poder da evidência em favor da ligação (linkage) é convencionalmente medido como LOD Score. Quando LOD scores >1.5 ($p < 0.01$), denomina-se Linkage Sugestiva: ou sugestivo de ligação. E resultados de LOD scores >3.0 ($p < 0.0001$), diz-se tratar de evidência muito forte de ligação (Lander et al, 1995).

O gráfico abaixo ilustra a relação do LOD score com outras formas de análises bioestatísticas como o valor de p e o z-score (Gráfico 1).

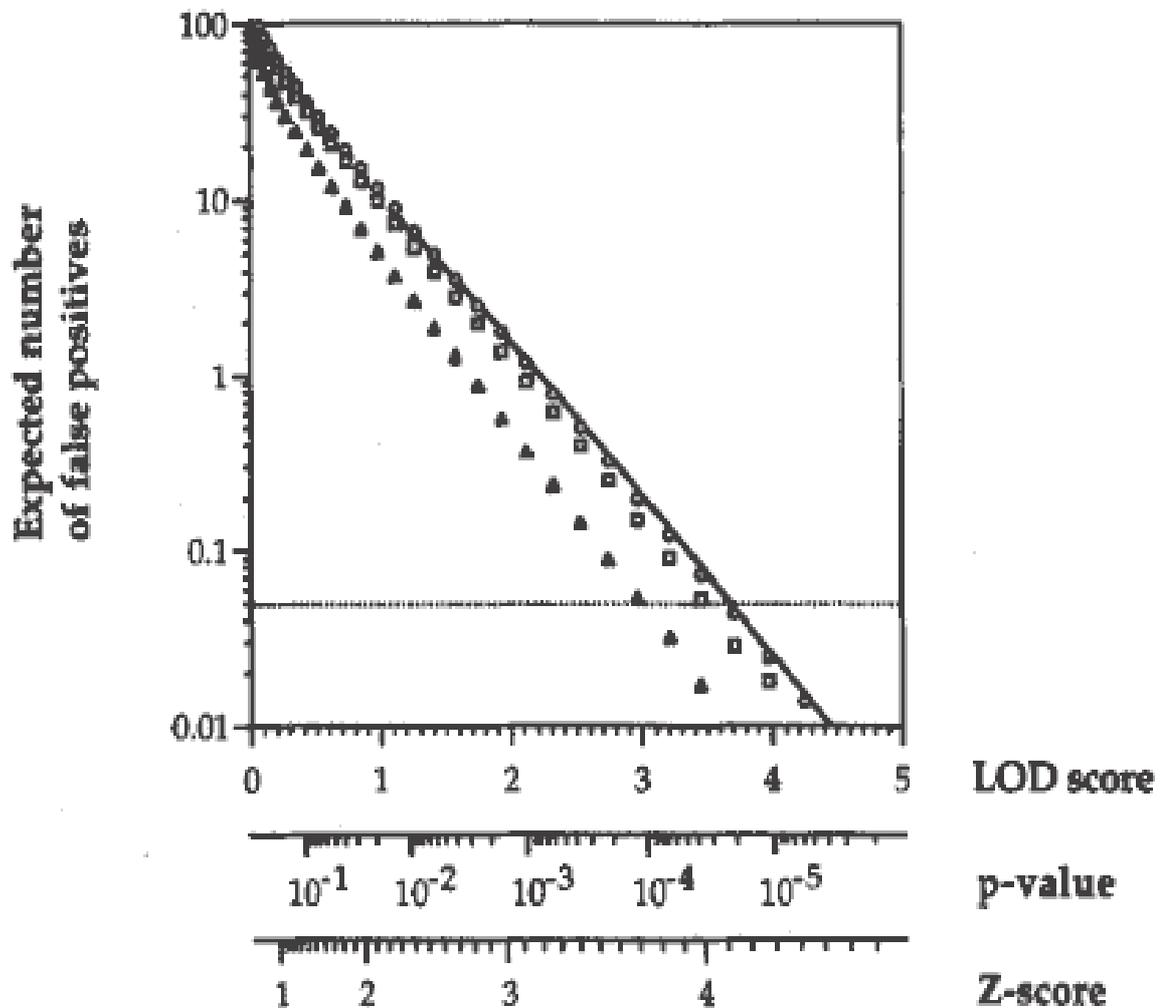


Gráfico 1. Análise ilustrativa e comparativa entre LOD score, valor de “p” e Z score. Fonte: Lander et al. Nature Genetics 1995; 11: 241-7.

Esse tipo de estratégia diagnóstica tem a vantagem de poder ser aplicado mesmo se o gene não foi ainda identificado e clonado, desde que se detecte um polimorfismo de DNA que esteja próximo do gene da doença; isto é, esteja ligado ao gene e, dessa forma, seja transmitido junto com ele. Entretanto, diagnósticos por polimorfismos de DNA apresentam algumas limitações. A principal é que a família deverá ser informativa, isto é, a ligação entre cada alelo do gene deve ser, inequivocamente, estabelecida com um determinado padrão do polimorfismo de DNA.

3.2.5 Mapeamento Genético de Todo Genoma e Mapeamento Fino com Marcadores Microsatélites

Todos membros foram primeiramente genotipados usando marcadores microsatélite com o objetivo de verificar locus previamente identificados para doenças correlatas como Enxaqueca com Aura e Vertigem Benigna Recorrente Familiar. Foram então excluídas regiões candidatas, previamente identificadas para Enxaqueca com aura (4q24; 11q24; 15q11- q13; 19p13)⁵¹⁻⁵⁴ e Vertigem Benigna Recorrente Familiar (22q12).⁵⁵

Em seguida foi realizado mapeamento genético de todo genoma com o DNA de 21 membros da família, usando o Kit GeneChip Mapping 10K 2.0 Array (Figura 12) da indústria Affymetrix (Santa Clara, Califórnia).



Figura 12. Esquema demonstrando o mapeamento do genoma realizado pelo GeneChip 10K Kit. Fonte: Manual da Affimetrix Corporation para o 10K Kit.

Análises preliminares de todo genoma foi realizada com o programa Vitesse®⁵⁶ usando janelas de 6-marcadores para todos os cromossomos. Assumindo o modo de herança autossômico-dominante com uma frequência de alelos de 0.001 e penetrância de 85%.

Para confirmação diagnóstica foram utilizados marcadores microsatélite com distância sempre menores do que 5 centiMorgans (cM) da área suspeita, o que significa uma sequência de recombinação de 5%, ou seja, 5% de erro no diagnóstico.

O maior pico de lod scores encontrado desta forma foi investigado utilizando marcadores microsatélites com pigmentação fluorescente através de um analisador especial da empresa Applied Biosystems 3730xl DNA Analyzer (Foster City, California). Análise de

dois pontos e multi-pontos foram realizadas utilizando-se os genótipos obtidos a partir dos marcadores microsátélites usando o programa anteriormente citado, o Vitesse®.

Frequências dos alelos para os marcadores microsátélite para o cromossomo 5 foram estimadas através do genótipo realizado de 25 indivíduos brasileiros sadios como grupo controle. As posições de Megabase usadas foram do NCBI Build 35. As posições em Centimorgan foram obtidas do deCODE genetic map.⁵⁷

4 RESULTADOS

A família selecionada, Caucasiana, originária de Brasília, compreende cinco gerações. 146 membros dessa família foram analisados do ponto de vista clínico e 32 membros, do ponto de vista genético–molecular. Desses 32 membros analisados geneticamente, 10 são portadores de enxaqueca associada a disfunção auditivo-vestibular.(Figura 13)

4.1 ANÁLISE CLÍNICA

O paciente índice, apresenta em sua história natural, zumbido, vertigem e perda auditiva associados com quadro de cefaléia do tipo Enxaqueca, baseado nos critérios do Comitê de Classificação de Cefaléia da Sociedade Internacional de Cefaléia (2004) e critério propostos por Neuhauser et al em 2001 para enxaqueca associada a disfunção auditivo-vestibular.²⁴

Dentre os 10 portadores de enxaqueca associada a disfunção auditivo-vestibular seis estavam vivos no final dos doze anos de seguimento dessa pesquisa (1995 a 2006). Dos seis membros afetados vivos, três eram da terceira geração e três eram da quarta geração. A idade média dos portadores vivos de enxaqueca associada a disfunção auditivo-vestibular da terceira geração era de 86 anos (variando de 81 a 92 anos), enquanto que a idade média daqueles afetados da quarta geração era de 63 anos (variando entre 60 e 68 anos). Todos os seis membros afetados preencheram os critérios de Neuhauser et al, 2001 para Enxaqueca associada a disfunção auditivo-vestibular na categoria tipo Definida.

Todos os membros da família foram avaliados para enxaqueca associada a disfunção auditivo-vestibular (Tabelas 1 e 2).

Todos os membros afetados da família iniciaram os sintomas de enxaqueca com aura na adolescência (idade média de 12 anos). Sintomas vestibulares ocorreram décadas após na quarta ou quinta décadas (idade média de 42,2 anos). A avaliação audiométrica tipicamente demonstrou perda auditiva neurossensorial em altas frequências, o qual foi consistente com diagnóstico de presbiacusia. A média tritonal avaliada através da audiometria tonal manteve-

se estável durante o curso do estudo (doze anos). Perda auditiva em frequências graves ou perda auditiva flutuante foram observados em apenas dois pacientes.

Achados neurológicos entre as crises foram normais em todos os pacientes afetados. Os testes calóricos realizados em todos os paciente afetados foram normais exceto no paciente III-1 que apresentou preponderância direcional para esquerda. Exames de imagem (tomografia computadorizada e ressonância nuclear magnética contrastadas) foram normais nos seis pacientes afetados.

Dois membros da família (IV-7 e IV-12) também apresentaram plenitude auricular, sensação de perda auditiva e fonofobia durante os episódios de vertigem. Apesar da avaliação clínica em ambos os casos ser sugestiva de síndrome de Ménière, fomos incapazes de documentar um significante perda auditiva ou perda auditiva flutuante pelas audiometria seriadas, durante os doze anos de acompanhamento em ambos indivíduos.

A intensidade e frequência das crises de enxaqueca e intensidade e frequência dos episódios de vertigem foram analisadas através de um questionário previamente testado (Anexo I) e revelaram um padrão de redução da intensidade e frequência de sintomas da enxaqueca enquanto que a intensidade e frequência dos sintomas vestibulares tendem a se agravar nesta família (Tabela 2 e Gráfico 2).