

Impact of genetics in childhood asthma

O impacto da genética na asma infantil

Leonardo A. Pinto¹, Renato T. Stein², Michael Kabesch³

Resumo

Objetivo: Apresentar os resultados dos estudos mais importantes e recentes sobre a genética da asma. Estes dados devem auxiliar os clínicos gerais a compreender o impacto da genética sobre este distúrbio complexo e como os genes e polimorfismos influenciam a asma e a atopia.

Fontes dos dados: Os dados foram coletados do banco de dados MEDLINE. Os estudos de associação genética foram selecionados do Genetic Association Database, um repositório de estudos de associação genética de doenças e distúrbios complexos organizado pelo National Institutes of Health.

Síntese dos dados: Considerando os dados de diversos importantes estudos de gêmeos sobre a genética da asma, a heritabilidade, que mensura a contribuição dos fatores genéticos para a variância da asma, pode ser estimada entre 0,48 e 0,79. Uma grande quantidade de estudos de associação genética tentou identificar genes de susceptibilidade à asma. Os resultados mais replicados nos estudos de associação genética envolvem as cinco regiões do genoma humano a seguir: 5q31-32, 6p21, 11q12-13, 16p11-12, e 20p13. Recentemente, outro gene de susceptibilidade à asma (ORMDL3), considerado determinante crítico para a asma infantil, foi identificado por um estudo genômico de associação.

Conclusões: É possível estimar que a contribuição genética à asma varia entre 48 e 79%. Diversos loci parecem influenciar a susceptibilidade à asma. Os genes localizados no cromossomo 5q (ADRB2, IL13 e IL4) e o gene ORMDL3, no cromossomo 17, identificado recentemente, parecem ser determinantes para a asma infantil. O diagnóstico e a farmacogenética podem ser as primeiras implicações clínicas de estudos extensivos sobre a genética da asma.

J Pediatr (Rio J). 2008;84(4 Supl):S68-75: Asma, genética, infância, farmacogenética.

Introdução

A asma é de natureza hereditária, mas a hereditariedade da doença não segue os padrões mendelianos clássicos. Diversos estudos de famílias evidenciam um forte padrão de agregação familiar no caso da asma^{1,2}, mas a genética da doença é especialmente complicada por sua natureza poligênica e pela interação entre fatores genéticos e ambientais³. A

Abstract

Objective: To present the most important and recent results of studies on asthma genetics. These data may help general physicians understand the impact of genetics on this complex disorder and how genes and polymorphisms influence asthma and atopy.

Sources: Data were collected from MEDLINE. Genetic association studies were selected from the Genetic Association Database, which is an archive of human genetic association studies of complex diseases and disorders organized by the National Institutes of Health.

Summary of the findings: Considering the data from several important twin studies on asthma genetics, heritability, which measures the contribution of genetic factors to the variance of asthma, may be estimated in 0.48-0.79. A huge number of genetic association studies have been trying to identify asthma susceptibility genes. The most replicated results in the genetic association studies involve the following five regions of the human genome: 5q31-32, 6p21, 11q12-13, 16p11-12, and 20p13. Only recently a new asthma susceptibility gene (ORMDL3) has been identified by a whole genome association study, considered to be a major determinant for childhood asthma.

Conclusions: Genetic contribution to asthma may be estimated ranging from 48 to 79%. Several different loci seem to influence asthma susceptibility. Genes located on chromosome 5q (ADRB2, IL13 and IL4) and the recently identified ORMDL3, on chromosome 17, seem to be determinants of childhood asthma. Diagnostics and pharmacogenetics may be the first clinical implication of extensive studies on asthma genetics.

J Pediatr (Rio J). 2008;84(4 Supl):S68-75: Asthma, genetics, childhood, pharmacogenetics.

melhor compreensão dos mecanismos genéticos da asma e da alergia fortalecerá nosso conhecimento de sua patofisiologia e representará um avanço importante para os esforços futuros de prevenção e tratamento da doença.

Alguns aspectos deste campo de pesquisa básica podem influenciar diretamente a prática clínica. A determinação

1. Instituto de Pesquisas Biomédicas, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS), Porto Alegre, RS. Programa de Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente, Universidade Estadual de Campinas (Unicamp), Campinas, SP.
2. Doutor. Instituto de Pesquisas Biomédicas, PUCRS, Porto Alegre, RS.
3. Children's Hospital, Ludwig Maximilian's University of Munich, Munich, Germany.

Não foram declarados conflitos de interesse associados à publicação deste artigo.

Como citar este artigo: Pinto LA, Stein RT, Kabesch M. Impact of genetics in childhood asthma. *J Pediatr (Rio J)*. 2008;84(4 Supl):S68-75.

doi:10.2223/JPED.1781

genética das respostas alérgicas a estímulos ambientais e o papel da farmacogenética no manejo da asma são consideradas questões de pesquisa de suma importância⁴. O mapeamento de traços complexos, como a asma, é uma das áreas de pesquisa mais importantes na genética humana.

Apesar de sabermos que a susceptibilidade genética contribui para o risco de asma, poucos estudos de associação genética ou de ligação foram realizados com populações não-européias. Alguns estudos indicaram evidências de controles genéticos que diferem entre grupos étnicos^{5,6}, mas estas evidências são raras. Mais estudos sobre a genética da asma em populações não-européias são necessários para ajudar a determinação das diferenças mundiais no papel das variações genéticas no desenvolvimento da asma e de alergias.

Um desenho clássico para estudos do impacto da genética sobre traços complexos e para distinguir entre a influência ambiental e a genética é o estudo de pares de gêmeos, em que a concordância entre gêmeos monozigóticos (MZ) e dizigóticos (DZ) é comparada. Os gêmeos MZ compartilham 100% de sua constituição genética, enquanto os gêmeos DZ compartilham, em média, 50% de seus genes. Esse tipo de estudo permite o cálculo da heritabilidade (h^2) da asma. Na genética, a heritabilidade é a proporção da variação fenotípica em uma população que pode ser atribuída à variação genética⁷. A heritabilidade estima a contribuição relativa dos fatores genéticos e não-genéticos à expressão fenotípica total em uma população.

Estudos de gêmeos na genética da asma

Se os genes influenciam um traço específico, pares de gêmeos MZ, devido à sua maior semelhança genética, devem compartilhar o traço mais do que os gêmeos DZ. Um estudo australiano investigou 3.808 pares de gêmeos⁸ e as correlações para a asma foram maiores para os gêmeos MZ do que para os gêmeos DZ (0,48 para MZ, 0,09 para DZ, masculinos; e 0,33 para MZ, 0,12 para DZ, femininos), o que implica que uma parcela significativa da variância é de responsabilidade genética na patogênese da asma ($h^2 = 0,60$). Duffy et al.⁹ reanalisaram os 3.808 pares de gêmeos australianos em 1990, e a correlação para asma auto-informada foi de 0,65 em gêmeos MZ e 0,24 em gêmeos DZ. A heritabilidade foi estimada em 0,60 para mulheres e 0,75 para homens.

Nieminen et al.¹⁰ publicaram um grande estudo populacional de mais de 13.000 pares de gêmeos finlandeses adultos. O diagnóstico de asma foi realizado por meio da ligação entre os registros dos gêmeos e os bancos de dados de baixas hospitalares e utilização de medicamentos. Os dados foram coletados do escritório central de epidemiologia. Um total de 4.307 pares de gêmeos MZ e 9.581 pares DZ entre 18 e 70 anos foram incluídos. A estimativa de heritabilidade foi de 0,68 para mulheres e 0,48 para homens (entre 28 e 59 anos). Uma forte diferença de heritabilidade entre os sexos foi encontrada neste estudo. Também foi encontrada uma forte diferença de heritabilidade entre as faixas etárias, com

a heritabilidade inversamente proporcional à idade, o que está de acordo com evidências clínicas e epidemiológicas.

Outro estudo de gêmeos publicado em 1997 incluiu 1.480 pares de gêmeos suecos de 7 a 9 anos (do Registro Sueco de Gêmeos)¹¹. Todos os gêmeos nascidos na Suécia entre 1985 e 1986 receberam um questionário detalhado sobre asma. A correlação para informação de asma por parte dos pais foi de 0,79 para pares de gêmeos masculinos MZ e 0,64 para pares de gêmeos femininos MZ, com correlações de 0,25 e 0,27 para pares DZ masculinos e femininos, respectivamente. A contribuição dos fatores genéticos para a variância da asma neste estudo foi de cerca de 0,76 para meninos e 0,64 para meninas.

Em um estudo norueguês, todos os gêmeos nascidos entre 1967 e 1974 (5.864 crianças) foram identificados através do Registro Nacional de Nascimentos norueguês¹². A prevalência de asma auto-informada foi de cerca de 5%, e não houve qualquer diferença significativa entre os sexos. A concordância para a asma foi de 0,45 para gêmeos MZ e 0,12 para gêmeos DZ. Este estudo mostrou que os efeitos genéticos explicam 75% da variação para ambos os sexos, enquanto os 25% restantes são de responsabilidade de influências ambientais.

Outro estudo de gêmeos finlandeses, com gêmeos de 16 anos e seus pais, apresentou dados combinados de gêmeos e famílias sobre a genética da asma. A heritabilidade da asma foi de aproximadamente 79%. Os 21% restantes se deveram a influências ambientais¹³. Se considerarmos apenas famílias com pais asmáticos, a influência genética explica até 87% do desenvolvimento da asma entre os filhos.

Outro estudo em larga escala, com uma população de 11.688 pares de gêmeos entre 12 e 41 anos, foi publicado em 1999. Nele, a heritabilidade é estimada em 0,73 (amostra populacional dinamarquesa)¹⁴. Um estudo de gêmeos sobre a asma mais recente foi publicado em 2001¹⁵, estimando a heritabilidade em 0,68 na população do Reino Unido.

Todos esses estudos de gêmeos demonstram a importância da genética sobre a variância da asma, com resultados de heritabilidade que variam entre 48% e 79%. Um achado importante é que a maioria dos estudos de gêmeos em diferentes partes do mundo (especialmente no Norte da Europa) demonstram resultados semelhantes e consistentes, e destacam o fato da asma (especialmente em sua variedade infantil) ter um forte fundo genético. A Tabela 1 resume esses importantes estudos populacionais de gêmeos.

Apesar de podermos estimar até que ponto a susceptibilidade genética contribui para o risco de asma, ainda demorará muito para que os loci específicos que influenciam os fenótipos clínicos sejam identificados. Uma quantidade significativa de estudos de associação genética descrevem genes de susceptibilidade à asma, mas estes dados demonstram a extrema complexidade da doença. Assim, a identificação destes genes e polimorfismos ainda pode ser considerada um grande desafio.

Tabela 1 - Estudos de gêmeos revisados com desfecho asma e a estimativa de heritabilidade (h^2)

População do estudo	N*	Faixa de idade	h^2	Referências Bibliográficas
Australiana	3.808	18-88	0,60-0,75	Duffy et al. (1990) ⁹
Finlandesa	13.888	18-59	0,48-0,68	Nieminen et al. (1991) ¹⁰
Sueca	1.480	7-9	0,64-0,76	Lichtenstein et al. (1997) ¹¹
Norueguesa	5.864	18-25	0,75	Harris et al. (1997) ¹²
Finlandesa	1.713	16	0,79	Laitinen et al. (1998) ¹³
Dinamarquesa	11.668	12-41	0,73	Skadhauge et al. (1999) ¹⁴
Inglesa	4.910	4	0,68	Koeppen-Schomerus et al. (2001) ¹⁵

* Quantidade de pares de gêmeos incluídos no estudo de população de gêmeos.

Estudos de associação de genes candidatos

Uma abordagem muito utilizada na identificação de genes de susceptibilidade à asma é o estudo de polimorfismos em genes candidatos. Os estudos de associação genética testam se uma variante genética específica é mais comum entre asmáticos ou não-asmáticos. Os controles em estudos de associação devem ser recrutados de populações que compartilham semelhanças étnicas ou geográficas com os indivíduos afetados. As vantagens desse tipo de estudo incluem a capacidade de detectar genes de susceptibilidade e sua aplicabilidade a populações gerais. Esta abordagem é poderosa se, e apenas se, o candidato selecionado para o estudo está claramente envolvido na patogênese da doença¹⁶.

No entanto, devido à diversidade de genes candidatos em potencial para cada traço complexo, o trabalho envolvido em estudos completos com a abordagem dos genes candidatos pode ser demais para qualquer pesquisador. Além disso, hoje reconhece-se que os resultados de estudos de polimorfismos podem ser enganosos, especialmente devido ao desequilíbrio de ligação (linkage disequilibrium). Assim, a abordagem dos genes candidatos precisa incluir a análise simultânea de múltiplas variantes. Com isto em mente, a correção para comparações múltiplas ou a replicação em diferentes amostras populacionais e/ou a análise funcional são exigidas para que se possa definir causalidade nestes estudos de associação^{17,18}.

Diversos genes candidatos (mais de 100 loci) foram propostos e estudados em relação à asma. Diversos fatores contribuem para esta abundância de candidatos. Os resultados de triagens genômicas deram evidências de associações em múltiplos locais no genoma. Portanto, há muitas posições que incluem diversos genes candidatos. Além disso, os caminhos imunológicos associados com a resposta asmática envolvem uma grande variedade de mediadores inflamatórios, como as citocinas e as quimiocinas. No entanto, os melhores resultados replicados em estudos de associação genética envolvem

as seguintes cinco regiões do genoma humano: 5q31-32, 6p21, 11q12-13, 16p11-12, and 20p13 (<http://geneticassociationdb.nih.gov>)¹⁹.

Genetic Association Database

O Genetic Association Database (GAD, ou Banco de Dados de Associação Genética) é um repositório de estudos de associação da genética humana de doenças complexas organizado pelo National Institutes of Health (<http://geneticassociationdb.nih.gov>). O objetivo deste banco de dados é permitir que os pesquisadores identifiquem rapidamente polimorfismos clinicamente relevantes a partir de um grande volume de variações genéticas no contexto de uma nomenclatura padronizada para genes e polimorfismos (números rs). O banco de dados inclui artigos científicos publicados seletos. Os dados de estudos são registrados com a nomenclatura oficial usada para o genoma humano. Se um estudo investiga mais de um gene para um distúrbio específico, há mais de um registro. Os registros enviados pelos pesquisadores são revisados antes de serem incluídos no GAD¹⁹.

Selecionamos oito genes associados à asma em mais de cinco estudos populacionais de associação genética, usando o GAD, para a presente revisão. Os genes estão localizadas nas cinco regiões do genoma mencionadas acima. Estes genes relevantes para a susceptibilidade à asma são discutidos detalhadamente a seguir (Tabela 2).

Cromossomo 5: ADRB2, IL13 e IL4

O gene receptor beta-2-adrenérgico (ADRB2) é membro da superfamília de receptores acoplados a proteínas G. Este complexo receptor-canal contém a proteína G, uma adenilil ciclase e a fosfatase alcalina. A configuração do complexo de sinalização cria um mecanismo que garante sinalização específica por parte deste receptor acoplado à proteína G. Diferentes loci polimórficos deste gene estão associados ao diagnóstico de asma, à asma noturna, a exacerbações da asma e à resposta a beta-2 agonistas no tratamento da asma.

Tabela 2 - Genes com mais de cinco estudos de associação genética positivos com o resultado de asma (dados do Genetic Association Database do National Institutes of Health, <http://geneticassociationdb.nih.gov>)¹⁹

Posição	Gene	Número de estudos positivos	Polimorfismos	Referências bibliográficas (primeiro autor e ano)
5q31-32	ADRB2	11	rs1042713	Holloway JW (2000), Wang Z (2001), Ohe M (1995), Turki J (1995), Barr RG (2001), Dai LM (2004), Gao JM (2002), Gao G (2000), Xu X (2002), Summerhill E (2000), Fu J (2002)
	IL13	13	rs1800925 rs20541	van der Pouw Kraan TC (1999), Arima K (2002), Xi D (2004), Heinzmann A (2000), Kim HB (2006), Hosseini-Farahabadi S (2007), Hunninghake GM (2007), Kabesch M (2006), Battle NC (2007), Leung TF (2001), Howard TD (2001), Tsunemi Y (2002), Noguchi E (2001)
	IL4	11	rs2243250	Zhu S (2000), Chouchane L (1999), Burchard EG (1999), Rosenwasser LJ (1995), Noguchi E (2001), Kabesch M (2003), Gervaziev YV (2006), Hosseini-Farahabadi S (2007), Kabesch M (2006), Kabesch M (2003), Suzuki I (2000)
6p21.3	HLA-DQB1	10	rs12722107 rs1049086 rs1049107 rs1130386 rs1049133	Gao J (2003), Guo X (2001), Torio A (2003), Kim SH (2005), Schubert MS (2004), Lara-Marquez ML (1999), Lin YC (2002), Cho SH (2000), Kim YK (2002)
	TNF	6	rs1800629	Witte JS (2002), Albuquerque R (1998), Winterton DL (2001), Noguchi E (2002), Hong SJ (2006), Kim SH (2006)
11q12-13	SCGB1A1	6	rs3741240	Choi M (2000), Sharma S (2004), Gui Q (2003), Sengler C (2003), Laing IA (1998), Candelaria PV (2005)
16p11-12	IL4R	9	rs1805015	A-M Hytonen CEA (2004), Ober C (2000), Mitsuyasu H (1999), Cui T (2003), Risma KA (2002), Mitsuyasu H (1998), Zhang AM (2006), Loza MJ (2007), Battle NC (2007)
20p13	ADAM33	9	SNP *	Werner M (2004), Howard TD (2003), Lee JH (2004), Jongepier H (2004), Noguchi E (2006), Kedda MA (2006), Hirota T (2006), Qiu YM (2007), Sakagami T (2006)

* Mais de 15 polimorfismos de ADAM33 estão associados com a asma ou com fenótipos relacionados com a asma.
SNP = polimorfismos de nucleotídeo único; TNF = fator de necrose tumoral.

Turki descobriu uma frequência maior de glicina na posição 16 (Gly16, SNP rs1042713), em comparação com Arg16, em indivíduos com asma noturna.²⁰ Outras evidências sugerem que a presença de Gly16 (seqüência de aminoácidos) de ADRB2 confere a regulação negativa promovida por agonistas do tipo que caracteriza esta forma de asma.

Em uma meta-análise publicada recentemente, Contopoulos-Ioannidis et al. confirmam a associação entre o

polimorfismo de Gly16 e a asma noturna, mas não encontram qualquer associação entre essa variante e a hiperresponsividade brônquica²¹. Outros estudos não encontraram qualquer associação entre rs1042713 e respostas diferentes a agonistas beta-2 (especialmente albuterol e salmeterol)²².

O IL13 codifica uma citocina imunorregulatória produzida principalmente por células Th2 ativadas. A citocina regula positivamente a expressão do complexo maior de histocompatibilidade classe II (MHCII) e promove a comutação isotí-

pica de IgE. O IL13 inibe a produção de citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias. Esta citocina é crítica para a patogênese da asma induzida por alérgenos, mas opera por meio de mecanismos independentes de IgE. IL3, IL5, IL4, IRF1 e CSF2 formam um agrupamento gênico no cromossomo 5q, sendo que o IL13 está localizado particularmente próximo ao IL4.

Howard et al. informam que a variante promotora (C-1112T, rs1800925) do gene IL13 contribuiu significativamente para a hiperresponsividade brônquica e para a susceptibilidade à asma, mas não para os níveis séricos totais de IgE.²³ Heinzmann²⁴ determinou que uma variante R130Q de IL13 (rs20541) está associada à asma em populações de estudos de caso-controle da Grã-Bretanha e do Japão (*odds ratio*, OR = 2,31, IC95% 1,33-4,00); a variante também previu asma e níveis séricos elevados de IL13 em uma população pediátrica japonesa.

A proteína codificada pelo gene IL4 é uma citocina de Th2 produzida pelas células-T ativadas que influenciam uma resposta imune alérgica. O receptor IL4 também se liga ao IL13, o que pode contribuir para as muitas funções redundantes de IL4 e IL13. Sabe-se que IL4, IL13 e IL5 são regulados de maneira coordenada pelos elementos regulatórios no cromossomo 5.

Kabesch²⁵ demonstrou um possível envolvimento de SNP no gene IL4 no desenvolvimento da asma e na regulação do IgE sérico total. Além disso, em 2006²⁶, este grupo demonstrou que especialmente as análises combinadas de alterações genéticas nas vias de IL-4/IL-13 revelam sua importância para o desenvolvimento da atopia e da asma infantil. Outros genes portados no locus, como CD14 e IRF1, também podem contribuir para a asma e alergias.

Cromossomo 6: HLA-DQB1 e TNF

O HLA-DQB1, que pertence às cadeias beta do antígeno do leucócito humano (HLA), é um heterodímero que consiste de uma cadeia alfa (DQA) e uma beta (DQB), ambas ancoradas na membrana. O HLA-DQB1 tem um papel crucial no sistema imunológico, pois apresenta peptídeos derivados de proteínas extracelulares. Dentro da molécula DQ, tanto a cadeia alfa quanto a beta contêm polimorfismos, o que produz quatro moléculas diferentes. Diversos estudos²⁷⁻²⁹ demonstraram associação entre as variações de HLA-DQB1 e a asma ou a asma induzida por aspirina (Tabela 2).

O gene do fator de necrose tumoral (TNF) codifica uma citocina pró-inflamatória multifuncional que pertence à superfamília do TNF. Esta citocina é secretada principalmente por macrófagos e está envolvida na regulação de um espectro amplo de processos biológicos que inclui a proliferação, diferenciação e apoptose celular.

Witte³⁰ avaliou a relação entre o polimorfismo promotor G-308A (rs1800629) do gene TNF e o risco de asma em 236 casos e 275 controles não-asmáticos. Este estudo indicou que ter uma ou duas cópias do alelo -308A aumenta o risco de asma (OR = 1,58), magnitude esta que aumenta quando se

restringe os casos apenas àqueles com asma aguda (OR = 1,86, p = 0,04) ou apenas aos pacientes com histórico familiar de asma ou àqueles de descendência europeia-americana (OR = 3,16, p = 0,04).

Aoki et al.³¹, ao contrário, não encontrou qualquer associação significativa entre este polimorfismo G-308A (rs1800629) de TNF e a asma atópica infantil em duas populações japonesas independentes, mas a meta-análise de um total de 2.477 pacientes asmáticos e 3.217 indivíduos-controle mostrou que o polimorfismo G-308A está associado significativamente à asma. O OR combinado foi de 1,46 para efeitos fixos ou aleatórios (p < 0,001).

Cromossomo 11: SCGB1A1 (ou UGB; CC16; CCSP)

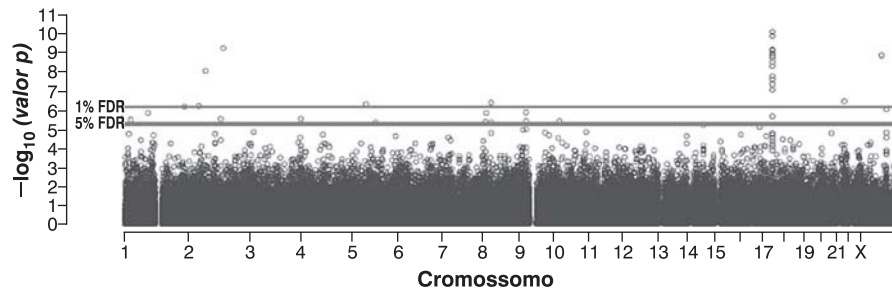
A proteína secretória das células de Clara (CC16) é uma proteína expressa principalmente no trato respiratório por células secretórias bronquiolares não-ciliadas³². Sua atividade imunomodulatória está amplamente documentada. Camundongos com deficiência na expressão de CC16 exibem maior susceptibilidade a ferimentos pulmonares e respostas inflamatórias excessivas.

Realizou-se uma triagem em busca de mutações no gene CC16. Um polimorfismo (A38G, rs3741240) foi identificado e associado ao risco maior de asma diagnosticada por médicos em uma população de crianças australianas³³. Em um estudo com adultos, o alelo CC16 38A foi associado a um risco moderado de asma³⁴. Laing et al. demonstraram que a sequência 38A está associada a níveis reduzidos de CC16 no plasma, e que indivíduos com níveis menores de CC16 no plasma possuem maior probabilidade de sofrer de asma³⁴, mas são necessários estudos com amostras populacionais maiores para confirmar esta associação.

Cromossomo 16: IL4R

O gene IL4R codifica o receptor IL4, a proteína transmembranaral que pode ligar o IL4 e o IL13 para regular a produção de IgE. A ligação do IL13 ou IL4 ao receptor de IL4 (IL4R) induz a resposta inicial para a polarização do linfócito Th2. Ambos IL13 e IL4 são produzidos por células Th2 e são capazes de induzir a comutação de classe isotípica de células B para produzir IgE após exposição ao alérgeno.

As variações alélicas nesse gene estão associadas à atopia, uma condição que pode se manifestar como rinite alérgica, asma ou eczema. Howard et al. investigou 5 polimorfismos de nucleotídeo único de IL4RA em uma população de famílias holandesas verificada através de um caso-índice com asma³⁵. Os autores observaram associações significativas entre diversos polimorfismos de IL4RA e fenótipos relacionados com asma e atopia, especialmente S503P (rs1805015). Detectou-se uma interação gene-gene significativa entre S503P no IL4RA e a variação promotora C-1112T no IL13, que havia sido associada anteriormente a hiperresponsividade brônquica. Os indivíduos com o genótipo de risco para ambos os genes estavam sob risco quase cinco vezes



FDR = taxa de falsas descobertas.

Figura 1 - Associação genômica de 317.447 SNP e asma em 994 crianças asmáticas e 1.243 crianças não-asmáticas (Figura de Moffat et al.³⁸). A posição no genoma é dividida por cromossomo. A força da associação é mostrada no eixo y. O resultado para cada marcador individual é indicado por um círculo negro. Os limites genômicos para 1% e 5% de FDR são indicados por linhas vermelhas horizontais. Diversos marcadores no cromossomo 17q21 mostram associação à asma

maior de desenvolver asma do que os indivíduos com genótipos sem risco. Estes dados sugerem que as variações no IL4RA contribuem para níveis séricos totais de IgE elevados, e a interação entre IL4RA e IL13 aumenta consideravelmente a susceptibilidade do paciente à asma.

Cromossomo 20: ADAM33

Este gene codifica um membro da família do domínio de disintegrina e metaloprotease (ADAM). Os membros desta família são proteínas ancoradas em membranas que estão implicadas em diversos processos biológicos, incluindo o desenvolvimento muscular e a neurogênese. Esta é uma proteína transmembranar implicada na asma e na hiperresponsividade brônquica. O splicing alternativo deste gene resulta em duas variantes de transcrição codificando diferentes isoformas. Este foi o primeiro gene candidato para a asma a ser detectado por clonagem posicional.

Van Eerdevgh³⁶ realizou uma análise genômica de 460 famílias caucasianas e identificou um locus no cromossomo 20p13 que está ligado à asma e à hiperresponsividade brônquica. Uma pesquisa de 135 polimorfismos em 23 genes identificou o gene ADAM33 como associado significativamente à asma em análises de caso-controle, de desequilíbrio de transmissão e haplotípicas ($p = 0,04-0,000003$). No entanto, estes resultados não foram replicados por diversos outros estudos de associação do gene ADAM33. Estudos com populações islandesas e britânicas não revelaram qualquer associação quando analisados isoladamente.

Recentemente, uma meta-análise demonstrou que as variantes rs511898 e rs574174 (localizadas no gene ADAM33) estão associadas significativamente à asma³⁷. O risco adicional conferido por estas variantes pode ser responsável por 50.000 casos excessivos de asma apenas no Reino Unido.

Estudos genômicos de associação

Com a conclusão do Projeto Genoma Humano em 2003 e do International HapMap Project em 2005, os pesquisadores

agora têm à sua disposição um conjunto de ferramentas de pesquisa avançadas que facilitam a identificação da contribuição genética a doenças comuns. Estas ferramentas incluem bancos de dados computadorizados que contêm a seqüência genômica humana de referência e um mapa da variação genética humana. Um estudo genômico de associação (GWA, ou genome-wide association study) é uma abordagem que envolve a análise de marcadores através de conjuntos completos de polimorfismos humanos.

Recentemente, o primeiro estudo GWA sobre a asma³⁸ caracterizou mais de 317.000 SNP no DNA de 994 pacientes com asma de início infantil e 1.243 não-asmáticos usando painéis familiares e de caso-referência. Os autores demonstraram que múltiplos marcadores no cromossomo 17q21 estão associados à asma infantil de maneira forte e consistente. Seu valor p combinado é $< 10^{-12}$. Um estudo de replicação independente demonstrou que o locus 17q21 possui associação significativa com o diagnóstico de asma infantil em 2.320 pacientes de uma coorte de crianças alemãs ($p = 0,0003$) e em 3.301 pacientes da Coorte de Nascimento em 1958 do Reino Unido ($p = 0,0005$). Este estudo³⁸ avalia a relação entre os marcadores do locus 17q21 e os níveis de transcrição dos genes. O SNP (rs7216389) associado à asma infantil foi associado de maneira forte e consistente ($p = 10^{-22}$) a níveis de transcrição de ORMDL3, um membro da família genética que codifica as proteínas transmembranais ancoradas no retículo endoplasmático. Moffat et al.³⁸ concluíram que as variantes genéticas que regulam a expressão de ORMDL3 são determinantes da susceptibilidade à asma infantil. Dentro do subconjunto de indivíduos para os quais os dados de expressão estavam disponíveis, o alelo T do SNP rs7216389 foi o marcador com associação mais forte à doença no GWA combinado (Figura 1).

Conclusões e perspectivas futuras

Diversos loci diferentes parecem influenciar a susceptibilidade à asma. Os genes localizados no cromossomo 5q

(ADRB2, IL13 e IL4) e o gene ORMDL3, no cromossomo 17, identificado recentemente, parecem ser determinantes importantes para a asma infantil.

No entanto, há poucos estudos sobre a genética da asma na América Latina, e menos ainda nas áreas subdesenvolvidas do mundo onde há alta prevalência de asma. Um estudo recente do grupo ISAAC-Phase II³⁹ demonstrou que a asma em comunidades não-afluentas está significativamente menos associada a alergias do que em áreas mais socialmente desenvolvidas.

Não está claro se os resultados de estudos genéticos em populações europeias podem ser transferidos facilmente para populações de etnias diferentes. São necessários estudos genéticos epidemiológicos na América Latina, Ásia e África para determinar o impacto dos genes e do ambiente nestas regiões, o que pode diferir dramaticamente dos achados em amostras populacionais da Europa e dos EUA.

As melhorias no diagnóstico e na farmacogenética podem ser as primeiras implicações clínicas destes estudos extensivos sobre a genética da asma. Em um estudo randomizado, com um grupo controle tratado com placebo, que envolvia 78 pacientes com asma leve (41 com o genótipo G/G (rs1042713) e 37 com o genótipo R/R), Israel²² descobriu que havia diferenças significativas na resposta ao albuterol, em contraste com o placebo, relacionadas ao genótipo. Os pacientes com o genótipo R/R melhoraram quando a terapia com beta-agonistas foi interrompida e substituída por brometo de ipratrópio, enquanto aqueles com o genótipo G/G tiveram resultados melhores com a terapia normal com beta-agonistas do que quando ela foi interrompida. O genótipo no aminoácido 16 de ADRB2 afeta significativamente a resposta ao albuterol. Além disso, tratamentos broncodilatadores que evitam o albuterol podem ser adequados para pacientes com o genótipo R/R²². Este é apenas um exemplo de como a genética pode influenciar nossa prática clínica no futuro próximo.

Referências

- Schwartz M. *Heredity in bronchial asthma: a clinical and genetic study of 191 asthma probands and 50 probands with Baker's asthma*. *Acta Allergol Suppl (Copenh)*. 1952;2:1-288.
- Speizer FE, Rosner B, Tager I. *Familial aggregation of chronic respiratory disease: use of National Health Interview Survey data for specific hypothesis testing*. *Int J Epidemiol*. 1976;5:167-72.
- Bierbaum S, Heinzmann A. *The genetics of bronchial asthma in children*. *Respir Med*. 2007;101:1369-75.
- Lima JJ. *Treatment heterogeneity in asthma: genetics of response to leukotriene modifiers*. *Mol Diagn Ther*. 2007;11:97-104.
- Barnes KC, Grant AV, Hansel NN, Gao P, Dunston GM. *African Americans with asthma: genetic insights*. *Proc Am Thorac Soc*. 2007;4:58-68.
- Choudhry S, Ung N, Avila PC, Ziv E, Nazario S, Casal J, et al. *Pharmacogenetic differences in response to albuterol between Puerto Ricans and Mexicans with asthma*. *Am J Respir Crit Care Med*. 2005;171:563-70.
- Koppelman GH, Los H, Postma DS. *Genetic and environment in asthma: the answer of twin studies*. *Eur Respir J*. 1999;13:2-4.
- Hopper JL, Hannah MC, Macaskill GT, Mathews JD. *Twin concordance for a binary trait: III. A bivariate analysis of hay fever and asthma*. *Genet Epidemiol*. 1990;7:277-89.
- Duffy DL, Martin NG, Battistutta D, Hopper JL, Mathews JD. *Genetics of asthma and hay fever in Australian twins*. *Am Rev Respir Dis*. 1990;142:1351-8.
- Nieminen MM, Kaprio J, Koskenvuo M. *A population-based study of bronchial asthma in adult twin pairs*. *Chest*. 1991;100:70-5.
- Lichtenstein P, Svartengren M. *Genes, environments, and sex: factors of importance in atopic diseases in 7-9-year-old Swedish twins*. *Allergy*. 1997;52:1079-86.
- Harris JR, Magnus P, Samuelsen SO, Tambs K. *No evidence for effects of family environment on asthma. A retrospective study of Norwegian twins*. *Am J Respir Crit Care Med*. 1997;156:43-9.
- Laitinen T, Rasanen M, Kaprio J, Koskenvuo M, Laitinen LA. *Importance of genetic factors in adolescent asthma: a population-based twin-family study*. *Am J Respir Crit Care Med*. 1998;157:1073-8.
- Skadhauge LR, Christensen K, Kyvik KO, Sigsgaard T. *Genetic and environmental influence on asthma: a population-based study of 11,688 Danish twin pairs*. *Eur Respir J*. 1999;13:8-14.
- Koepfen-Schomerus G, Stevenson J, Plomin R. *Genes and environment in asthma: a study of 4 year old twins*. *Arch Dis Child*. 2001;85:398-400.
- Ober C, Hoffjan S. *Asthma genetics 2006: the long and winding road to gene discovery*. *Genes Immun*. 2006;7:95-100.
- Cordell HJ, Clayton DG. *Genetic association studies*. *Lancet*. 2005;366:1121-31.
- Hattersley AT, McCarthy MI. *What makes a good genetic association study?* *Lancet*. 2005;366:1315-23.
- Becker KG, Barnes KC, Bright TJ, Wang SA. *The genetic association database*. *Nat Genet*. 2004;36:431-2
- Turki J, Pak J, Green SA, Martin RJ, Liggett SB. *Genetic polymorphisms of the beta 2-adrenergic receptor in nocturnal and nonnocturnal asthma. Evidence that Gly16 correlates with the nocturnal phenotype*. *J Clin Invest*. 1995;95:1635-41.
- Contopoulos-Ioannidis DG, Manoli EN, Ioannidis JP. *Meta-analysis of the association of beta2-adrenergic receptor polymorphisms with asthma phenotypes*. *J Allergy Clin Immunol*. 2005;115:963-72.
- Israel E, Chinchilli VM, Ford JG, Boushey HA, Cherniack R, Craig TJ, et al. *Use of regularly scheduled albuterol treatment in asthma: genotype-stratified, randomised, placebo-controlled cross-over trial*. *Lancet*. 2004;364:1505-12.
- Howard TD, Whittaker PA, Zaiman AL, Koppelman GH, Xu J, Hanley MT, et al. *Identification and association of polymorphisms in the interleukin-13 gene with asthma and atopy in a Dutch population*. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2001;25:377-84.
- Heinzmann A, Mao XQ, Akaiwa M, Kreomer RT, Gao PS, Ohshima K, et al. *Genetic variants of IL-13 signalling and human asthma and atopy*. *Hum Mol Genet*. 2000;9:549-59.
- Kabesch M, Tzotcheva I, Carr D, Hofler C, Weiland SK, Fritzsche C, et al. *A complete screening of the IL4 gene: novel polymorphisms and their association with asthma and IgE in childhood*. *J Allergy Clin Immunol*. 2003;112:893-8.
- Kabesch M, Schedel M, Carr D, Woitsch B, Fritzsche C, Weiland SK, et al. *IL-4/IL-13 pathway genetics strongly influence serum IgE levels and childhood asthma*. *J Allergy Clin Immunol*. 2006;117:269-74.

27. Gao J, Lin Y, Qiu C, Liu Y, Ma Y. [Association between HLA-DQA1, -DQB1 gene polymorphisms and susceptibility to asthma in northern Chinese subjects](#). Chin Med J (Engl). 2003; 116:1078-82.
28. Torio A, Sanchez-Guerrero I, Muro M, Villar LM, Minguela A, Marin L, et al. [HLA class II genotypic frequencies in atopic asthma: association of DRB1*01-DQB1*0501 genotype with Artemisia vulgaris allergic asthma](#). Hum Immunol. 2003; 64:811-5.
29. Schubert MS, Hutcheson PS, Graff RJ, Santiago L, Slavin RG. [HLA-DQB1 *03 in allergic fungal sinusitis and other chronic hypertrophic rhinosinusitis disorders](#). J Allergy Clin Immunol. 2004;114:1376-83.
30. Witte JS, Palmer LJ, O'Connor RD, Hopkins PJ, Hall JM. [Relation between tumour necrosis factor polymorphism TNFalpha-308 and risk of asthma](#). Eur J Hum Genet. 2002;10:82-5.
31. Aoki T, Hirota T, Tamari M, Ichikawa K, Takeda K, Arinami T, et al. [An association between asthma and TNF-308G/A polymorphism: meta-analysis](#). J Hum Genet. 2006;51:677-85.
32. Hermans C, Lesur O, Weynand B, Pieters T, Lambert M, Bernard A. [Clara cell protein \(CC16\) in pleural fluids: a marker of leakage through the visceral pleura](#). Am J Respir Crit Care Med. 1998;157:962-9.
33. Laing IA, Goldblatt J, Eber E, Hayden CM, Rye PJ, Gibson NA, et al. [A polymorphism of the CC16 gene is associated with an increased risk of asthma](#). J Med Genet. 1998;35:463-7.
34. Laing IA, Hermans C, Bernard A, Burton PR, Goldblatt J, Le Souef PN. [Association between plasma CC16 levels, the A38G polymorphism, and asthma](#). Am J Respir Crit Care Med. 2000; 161:124-7.
35. Howard TD, Koppelman GH, Xu J, Zheng SL, Postma DS, Meyers DA, et al. [Gene-gene interaction in asthma: IL4RA and IL13 in a Dutch population with asthma](#). Am J Hum Genet. 2002; 70:230-6.
36. Van Eerdewegh P, Little RD, Dupuis J, Del Mastro RG, Falls K, Simon J, et al. [Association of the ADAM33 gene with asthma and bronchial hyperresponsiveness](#). Nature. 2002;418:426-30.
37. Blakey J, Halapi E, Bjornsdottir US, Wheatley A, Kristinsson S, Upmanyu R, et al. [Contribution of ADAM33 polymorphisms to the population risk of asthma](#). Thorax. 2005;60:274-6.
38. Moffatt MF, Kabesch M, Liang L, Dixon AL, Strachan D, Heath S, et al. [Genetic variants regulating ORM DL3 expression contribute to the risk of childhood asthma](#). Nature. 2007;448:470-3.
39. Weinmayr G, Weiland SK, Bjorksten B, Brunekreef B, Buchele G, Cookson WO, et al. [Atopic sensitization and the international variation of asthma symptom prevalence in children](#). Am J Respir Crit Care Med. 2007;176:565-74.

Correspondência:

Leonardo A. Pinto
Instituto de Pesquisas Biomédicas
Hospital São Lucas – PUCRS
Av. Ipiranga, 6690, 2º andar
CEP 90610-000 – Porto Alegre, RS
Tel.: (51) 3384.5104