

Como resultado de estudos na área, mapas genéticos e mapas físicos vêm sendo desenvolvidos. Para a organização de um mapa genético, usa-se a análise da *seqüência genética* que é um método para localizar gens que contribuem para doenças numa determinada região cromossomial (10). Por definição, a *seqüência genética* (articulação entre gens) existe quando dois gens herdados dos pais geram um "produto" mais freqüentemente do que o acaso determinaria, e eles estão localizados muito próximos no cromossomo. Como se forma a seqüência genética? Durante a meiose (na formação de um óvulo ou um espermatozóide) há um intercâmbio, ao acaso, do material genético entre os cromossomos homólogos (recombinação) que tende a separar regiões genéticas (gens ou marcadores). Quanto mais próximas duas regiões são, menor a chance de que elas se separem durante os eventos da meiose. Quando duas regiões são transferidas consistentemente unidas durante múltiplas meioses, descreve-se como havendo uma articulação entre elas, e isso indica que elas estão fisicamente muito próximas. Os mapas físicos são construídos através da análise de seqüências únicas de DNA, detectáveis por uma reação em cadeia da polimerase (PCR), e são úteis para determinar a posição de gens associados a doenças.

As técnicas utilizadas para identificar gens responsáveis por doenças incluem *clonagem funcional*, *abordagem de gen candidato* e *clonagem posicional*. Na primeira, parte-se do princípio de que, se a proteína anormal causadora da doença é conhecida, o gen responsável pode ser identificado (pelo conhecimento de sua "função"). É uma técnica relativamente simples, porém pouco utilizável posto que não se conhecem a(s) proteína(s) anormal(is) envolvida(s) na maior parte das doenças (11). Por essa técnica foram identificados os gens responsáveis pela fenilcetonúria, pela deficiência de alfa-1-antitripsina e pela anemia falciforme. A abordagem do gen candidato parte da premissa de que existe fundamentação genética na doença em questão. Daí, um gen ou um grupo de gens com chances de estar(em) envolvido(s) no processo é escolhido e investigado. Obviamente, a escolha não deixa de ser uma adivinhação "refinada" e é um passo fundamental no processo de investigação. O sucesso da pesquisa está diretamente relacionado com a probabilidade do(s) gen(s) candidato(s) estar(em) relacionado(s) com a patogênese da doença (12). Normalmente, a escolha é fundamentada na crença de que o(s) gen(s)

está(ão) envolvido(s) no mecanismo fisiológico ou se sabidamente causa(m) doença em cobaias. Idealmente, o(s) gen(s) estaria(m) numa área do cromossomo previamente relacionado à doença (clonagem posicional) (11). O passo seguinte é identificar os polimorfismos genéticos (variantes do gen; cada um é chamado *alelo*). Essa informação pode estar disponível numa base de dados genéticos (mapas genéticos). Os mapas genéticos são usados na identificação dos possíveis gens responsáveis por doenças. Análises da associação e da articulação entre gens em famílias afetadas pela doença em questão são empregadas para a definição inicial de uma região "candidata" onde, acredita-se, o gen responsável esteja localizado. A partir daí, tomando como base informações genéticas obtidas de portadores da doença que tenham grandes rearranjos citogenéticos e/ou deleções, a região cromossomial suspeita vai sendo estreitada. Seguem-se estudos detalhados, com análise de alta-resolução dos eventos cromossomiais que ocorrem durante a meiose, que podem reduzir ainda mais a área suspeita. Se não houver a informação em mapas genéticos, a análise do gen tem que ser feita em uma amostra de indivíduos para avaliar se existe polimorfismo. A partir daí, são conduzidos estudos de associação com os alelos. São estudos do tipo caso-controle nos quais a freqüência de cada um dos alelos é comparada em pessoas com e sem a doença em questão (afetados e não-afetados). Diz-se que o alelo está relacionado com a doença quando sua freqüência é significativamente maior entre os afetados, quando comparados aos não-afetados. É feito inventário exaustivo dos gens e seqüências expressas naquela região cromossomial suspeita e, a seguir, fazem-se *screenings* de mutações para identificar o gen causal. Cada gen "candidato" é investigado para mutações e o gen responsável é identificado por suas alterações nos indivíduos afetados pela doença em estudo. A associação positiva pode ser interpretada de diferentes maneiras (13):

1. O alelo em questão é a verdadeira causa da doença, ou seja, a variação no alelo altera a função do gen e causa a doença.
2. O alelo não causa a doença mas está relacionado à outra alteração em outro gen que causa a doença.
3. A associação positiva é um artefato e é devida à heterogeneidade genética na população estudada, na qual os casos e os controles não foram adequadamente pareados.

4. A associação positiva deveu-se ao acaso somente.

Uma vez definido(s) o(s) gen(s) suspeito(s), segue-se um teste de desequilíbrio na transmissão (TDT). Os pais e a pessoa afetada são genotipados. A premissa básica é que um pai heterozigoto - tem o alelo A1 verdadeiramente associado à doença e o alelo A2 não associado à doença - transmitiria A1 mais freqüentemente que o A2 para a criança afetada. O TDT eliminaria as associações artificiais (13,14), mas não poderia definir se o alelo A1 é a causa da doença ou apenas participa de mecanismo que levaria à formação do verdadeiro gen causal da doença (15). Finalmente, teriam que ser desenhados estudos para avaliar se o polimorfismo tem significância funcional. O gen em questão só pode ser suspeito de ser fator causal da doença se for demonstrado que o polimorfismo altera a sua função de um modo que, indubitavelmente, contribui para a doença.

Na técnica da *clonagem posicional*, os gens são identificados de acordo com sua posição no mapa genético. Nesse método, não é necessário qualquer conhecimento sobre a fisiopatologia da doença. O passo inicial é dado com a identificação de famílias com a doença e subsequente definição do fenotipo dos indivíduos. A seguir, utilizando-se marcadores genéticos, faz-se a análise da articulação entre gens a fim de estabelecer uma ligação entre um marcador e a doença, o que resulta no mapeamento do gen em uma determinada posição do genoma. Diferentes indivíduos tendem a ter diferentes variantes (alelos) do marcador, e os transmitem à sua prole. Assim, é possível traçar a linha hereditária de um marcador numa família. Quando uma doença é consistentemente transmitida junto com um determinado alelo (marcador) numa família, diz-se que a doença está ligada ao marcador e pode-se imaginar que o gen responsável esteja na área próxima a ele. Chama-se a isso *mapeamento genético da doença*. A partir daí, um mapa físico pode ser suposto e o(s) gen(s) suspeito(s) analisados com relação às mutações. Partir de uma posição num mapa para o gen ainda é um passo complexo. A técnica de mapeamento genético permite localizar regiões na faixa de 2 a 5 megabases (Mb) (16), e estima-se haver de 20 a 50 gens em cada megabase. Para identificar o gen da doença é necessário: 1) identificar os gens presentes na região; 2) decidir qual(is) gen(s) analisar quanto às mutações; 3) identificar as mutações (se houver); e 4) demonstrar que a mutação altera a

função do gen e que a função genética alterada contribui para o fenotipo da doença. Até o momento, como resultado dessa metodologia, houve sucesso na localização e na caracterização de gens responsáveis por mais de 40 doenças monogênicas (11).

Embora o interesse epidemiológico nas doenças monogênicas possa ser limitado, o sucesso inicial obtido usando a tecnologia do genoma pode ser usado como base na definição de técnicas para localizar/identificar gens que contribuam para doenças complexas. As doenças monogênicas são caracterizadas pela baixa freqüência de alelos da doença na população geral e pela alta penetrância (grande proporção de indivíduos com sinais e sintomas da doença tem o alelo). A relação entre um único gen e uma doença obedece aos padrões clássicos de herança Mendeliana (autossômica dominante, autossômica recessiva e ligada ao sexo). Como exemplos de doenças monogênicas pode-se citar a fibrose cística e a deficiência de alfa-1-antitripsina. As doenças complexas são aquelas resultantes da interação de n gens com n fatores ambientais. São caracterizadas por altos níveis de complexidade genética, dificuldades no diagnóstico precoce, início tardio dos sintomas clínicos e interações gens/meio-ambiente. Como exemplos de doenças complexas pode-se citar a asma, a hipertensão arterial sistêmica e a diabetes. A complexidade dos fatores genéticos envolvidos no processo de herança genética (quadro 1) torna ainda mais difícil a investigação genética nas doenças complexas.

Ao contrário do observado nas doenças monogênicas, os alelos associados com susceptibilidade aumentada para doenças multifatoriais são, geralmente, freqüentes na população geral, e um dado gen pode contribuir apenas em pequena proporção para a variância genética total subjacente à doença. Por isso, técnicas tradicionais para localização de gens em doenças de herança Mendeliana podem não ser aplicáveis em doenças geneticamente complexas. Na investigação dessas doenças, uma vez identificado um gen possivelmente envolvido em sua determinação, todos os gens previamente mapeados na mesma região crítica tornam-se fortes candidatos. Uma vez identificados os candidatos potenciais, inicia-se busca exaustiva de variações no DNA na região suspeita. Os métodos existentes de detecção de mutação identificam variantes do DNA, mas não oferecem informações sobre sua significância biológica. Alterações na seqüência dos desoxirribonucleotídeos podem ser ou não funcionalmente relevantes.

Distinguir variantes do DNA que contribuam para doenças de polimorfismos neutros é um dos grandes desafios com que se confrontam os geneticistas.

Avaliando a interação gen/meio-ambiente

Interação pode ser conceituada de duas maneiras: *estatística* e *biológica*. Sob a perspectiva da estatística, a interação de dois ou mais fatores de risco é simplesmente o coeficiente do produto dos fatores de risco. Desse modo, a interação é medida em termos de um modelo multiplicativo. A visão estatística tem vantagens: tem propriedades matemáticas, o que é conveniente na análise dos fatores; permite estimar o grau dos fatores de confusão, ou vieses; e torna fácil criar um modelo estatístico minimizando as interações. Entretanto, na área da Biologia, modelos interativos, sinérgicos, não seguem rígidas regras matemáticas. Sob a óptica biológica, interação entre dois fatores é definida como a co-participação desses fatores no mesmo mecanismo causal de desenvolvimento de uma doença (17,18). A interação é medida em termos de um modelo aditivo. Nesse modelo, o efeito causal interativo pode ser compreendido como a diferença hipotética do desfecho (desenvolvimento da doença) em um indivíduo, quando exposto a diferentes fatores. O exemplo a seguir tenta tornar esse ponto mais claro. Assumindo dois fatores de risco dicotômicos (A e B) para uma determinada doença, uma pessoa desenvolveria essa doença aos 70 anos se exposta a A somente; aos 60 anos, se exposta a B somente; e aos 50 anos, se exposta a A e a B. A porção do avanço de 60 para 50 anos de idade é chamada de efeito interativo de A sobre B. Em outras palavras, em níveis populacionais, se dois fatores de risco podem causar uma doença, alguns casos da doença seriam produto da exposição a ambos; na ausência de um deles, esses casos não ocorreriam.

Há evidências de que variações em alelos de muitos gens podem ter importante papel na determinação individual para câncer (19) e outras doenças crônicas (20,21). Para estimar o papel de alelos susceptíveis no risco para a doença, deve-se considerar o efeito da interação gen/meio-ambiente na etiologia da doença. Essa interação pode ser medida pelos diferentes efeitos de uma exposição sobre o risco da doença entre indivíduos com diferentes genótipos, ou pelos efeitos de diferentes genótipos no risco da doença entre indivíduos com diferentes exposições (22). O conceito de interação gen/meio-ambiente ocupa lugar especial nos estudos ecogenéticos que examinam as diferenças geneticamente determinadas entre indivíduos na susceptibilidade para fatores de riscos ambientais. Com base num modelo de interação simples (um gen / um fator ambiental) pode-se montar seis possíveis padrões de interação para estimar sua importância relativa no risco de uma doença. No modelo de interação tipo 1, o maior risco da doença só é observado quando ambos os fatores genético e ambiental co-participam no mesmo mecanismo patogênico (nem o genótipo sozinho, ou a exposição sozinha causam excesso de risco). No modelo de interação tipo 2, exposição ambiental aumenta o risco em indivíduos sem o genótipo correspondente. Na interação tipo 3, o genótipo está associado com aumento do risco, e a exposição ambiental isoladamente não. No modelo tipo 4, ambos os fatores isoladamente estão associados com maior risco da doença. Nos modelos 5 e 6, as interações ocorrem quando há reversão do efeito do genótipo, dependendo da presença ou ausência do fator ambiental, ou vice-versa com relação ao fator ambiental. Nesses casos, ou o genótipo é protetor na ausência do fator ambiental, mas é deletério na sua presença, ou a mesma coisa se dá com relação ao fator ambiental. Obviamente, transpor esses modelos para múltiplos gens e fatores ambientais,

Quadro 1 - Fatores genéticos envolvidos na herança genética

<i>Penetrância incompleta</i>	O indivíduo herda o gen anormal mas não demonstra a doença.
<i>Fenocópia</i>	O indivíduo pode herdar uma cópia normal do gen e mesmo assim demonstrar o fenotipo da doença como resultado de causas ambientais.
<i>Heterogeneidade genética</i>	Mutação em qualquer um dos vários gens pode resultar num fenotipo idêntico.
<i>Herança poligênica</i>	O fenotipo resulta da presença simultânea de mutações em múltiplos gens.
<i>Epistase (sinergismo)</i>	O efeito combinado de dois ou mais gens no fenotipo é diferente da soma de seus efeitos separadamente.

que é o caso da asma, requer experiência, tempo, *hardware*, *software* e dinheiro.

A escolha de modelos de desenhos de investigação (coortes, corte transversal ou caso-controle) e de controles (população vs familiares) vai depender do objeto em investigação. Quando um número relativamente grande de marcadores polimórficos está localizado próximo ao local do gen "candidato", o modelo de caso-controle é um meio efetivo de estudar diferenças na susceptibilidade genética e na interação com o meio-ambiente (23). Num estudo de caso-controle, os marcadores genéticos e os fatores de risco ambientais são examinados isoladamente como preditores independentes da doença e como fatores interativos com a exposição ambiental. Num estudo de coorte, a exposição ambiental e os fatores genéticos de risco são medidos em todos os indivíduos no início do período de seguimento e, possivelmente, durante o acompanhamento. Apesar das vantagens do estudo de coorte (a doença ocorre ou é detectada após a seleção e os vieses de seleção são minimizados), poucos estudos de coorte usam marcadores genéticos para testar os efeitos da interação gen/meio-ambiente na etiologia da doença. Em estudos transversais, os investigadores randomicamente sorteiam um grupo de indivíduos numa população, tomando como base uma definição única de doentes. Indivíduos com diferentes características de risco (genéticas e ambientais) são comparados com respeito à prevalência da condição, e a interação gen/meio-ambiente pode ser testada (24).

Também na definição dos controles, os objetivos do estudo são fundamentais. Se a investigação visa estimar a prevalência de genótipos susceptíveis para a doença na população geral, e examinar as interações desse genótipo com as exposições ambientais para o risco da doença em questão, os controles devem sair da população geral. Se a investigação visa avaliar a agregação familiar de uma doença, avaliando se essa agregação é causada pela presença da interação gen/meio-ambiente, o grupo controle deve ser tomado em grupos familiares. O propósito do estudo é examinar a agregação familiar de uma doença e não fazer inferências na população geral. Assim, apenas membros de uma família são apropriados como controles e possibilitarão a informação desejada. Para demonstrar como é complexo estudar os componentes genéticos envolvidos no desenvolvimento de doenças, vale a pena citar que, além dos fato-

res expostos acima, outros (quadro 2), também muito importantes, devem ser considerados na definição da metodologia da investigação.

Genética da atopia e da asma

A agregação familiar da asma é reconhecida há muito tempo (25,26). Salter, em 1860, publica em seu livro texto: "A asma é hereditária? - Eu acho que não pode haver dúvida que é... o número de casos em que há uma história familiar de asma é maior do que... se daria ao acaso... Em trinta e cinco casos... achei traços de hereditariedade em quatorze... dois casos em cada cinco" (27). Dois grandes estudos sobre o tema foram publicados em 1916 (28) e 1924 (29). O primeiro examinava asma, febre do feno, urticária, edema angioneurótico e gastroenterite aguda em 504 indivíduos. No segundo, apenas asma e febre do feno foram usados para definir atopia em 462 pessoas. Com base nos dois estudos, o autor definiu atopia como "(um) subgrupo de hipersensibilidade... restrita ao grupo da asma e da febre do feno... hereditária, sujeita a um gen dominante..." (30). Muitos dos estudos realizados nas décadas de 20 e de 30 replicaram o achado da agregação familiar, mas não davam consistência à hipótese de dominância simples. Na época, um autor propôs um modelo plausível de codominância (ou aditiva), com a idade de início dos sintomas inversamente proporcional ao número de alelos determinantes da doença (25). Um grande estudo feito na década de 40 (31) avaliou a asma "idiopática" e um grupo particular de asma ocupacional (do padreiro). Os asmáticos e o grupo controle foram submetidos a exames sanguíneos que incluíam contagem de eosinófilos e testes cutâneos. O autor concluiu que a asma e a doença atópica tinham agregação familiar e que algumas formas eram consistentes com a hipótese de dominância. Vale ressaltar, dentre os achados do

Quadro 2

Alguns fatores metodológicos importantes no estudo da interação gen/meio-ambiente

1. Quantificação dos efeitos isolados dos fatores genéticos e ambientais.
2. Qualidade da medida da(s) exposição(ões) ambiental (is).
3. Classificação do genótipo.
4. Fatores de confusão.
5. Confusão na interpretação de "interação" e "dose/resposta".
6. Tamanho da amostra.

estudo, que não havia diferença no risco de doença alérgica entre os familiares dos asmáticos alérgicos ou não alérgicos. Semelhantemente, nenhuma diferença na prevalência de atopia cutânea ou de eosinofilia foi encontrada entre os familiares dos asmáticos, independente de apresentarem ou não sinais clínicos de alergia. A análise do grupo com asma ocupacional e de seus familiares mostrou resultados equivalentes, confirmando que era necessária a predisposição genética para desenvolver a doença ocupacional (interação gen/meio-ambiente).

Modernamente, diversos estudos epidemiológicos vêm coletando informações sobre a história familiar de asma como um fator de risco para a doença (32,33,34,35). De um modo geral, eles sugerem que um "gen principal" pode estar envolvido na etiologia da asma. Entretanto, diversos "gens principais" já foram obtidos por diferentes estudos. A concentração sérica elevada de imunoglobulina E é interpretada como evidência de heterogeneidade genética, que é a presença de múltiplos gens de baixa frequência e de grande efeito. As análises são mais consistentes com a ação de gens específicos para formas particulares de doença atópica. Há agregação familiar mesmo na asma não alérgica, mas não está claro se ela é geneticamente diferente da asma alérgica. Num estudo recente realizado na comunidade européia, no qual foram realizadas 13.963 entrevistas randomizadas em 30 diferentes locais (36), observou-se que:

1. A prevalência de asma na geração entrevistada foi de 6,9% (6,5 - 7,3).
2. A prevalência de asma na geração anterior foi de 6,1% (5,8 - 6,4).
3. O risco de um indivíduo ser asmático se um de seus pais fosse asmático teve grande variação regional entre os centros estudados.
4. O risco médio, se o pai fosse asmático, foi de 2,9 (2,4 - 3,5). Se a mãe fosse asmática, era de 3,2 (2,6 - 3,9). Se ambos fossem asmáticos, o risco passava para 7,0 (3,9 - 12,7). O risco de asma extrínseca, se qualquer um dos pais tivesse asma extrínseca (4,9 [3,9 - 6,0]), era maior que o de desenvolver asma intrínseca (1,5 [0,8 - 2,6]). Além disso, era maior para mulheres (4,3 [3,3 - 5,5]) do que para homens (3,6 [2,6 - 5,0]).

Uma outra forma de estudar o traço familiar de uma doença é estudá-lo em gêmeos. Essa forma de análise tem duas grandes vantagens sobre os estudos familiares convencionais: 1) permite estimar os efeitos do ambiente familiar, o que, do outro modo, pode

ser confundido com efeito genético; e 2) permite detectar efeitos genéticos não aditivos (37), seja dominância ou epistasia, o que de outra forma tornaria necessária a coleta de dados em parentes de terceiro grau (38). De maneira geral, nesse tipo de estudo, os resultados parecem indicar que os efeitos do ambiente familiar e ambiental são pequenos ou mesmo ausentes quando comparados com a contribuição genética. As formas de hereditariedade são consistentes com as sugeridas por todos os outros tipos de estudos (39,40,41,42,43).

Freqüentemente, asma, atopia e HRB coexistem num mesmo indivíduo. Isso leva à suposição de que possa haver algum tipo de inter-relação entre a codificação genética de ambas. Essa possibilidade tem direcionado diversos investigadores na busca dos gens causais dessas condições. A primeira evidência de relação entre atopia e uma determinada região cromossômica foi dada num estudo britânico (44). Inicialmente, a atopia foi fortemente ligada ao marcador D11S97 no cromossomo 11q13. Com a continuação e refinamento da investigação, chegou-se à sub-unidade β do receptor de IgE de alta afinidade (Fc ϵ RI- β) (45). O gen Fc ϵ RI compreende as cadeias α , β e γ , e é expresso em mastócitos, basófilos e monócitos. Sua ligação com a IgE e o antígeno específico leva à degranulação de mastócitos e à ativação de linfócitos T e B, amplificando a resposta alérgica. Um de seus polimorfos foi associado ao fenotipo de IgE sérica elevada (46); outro, à maior prevalência de HRB e atopia (47), e um terceiro à asma atópica, mas não à não-atópica (48). Por outro lado, não há evidências de que esses polimorfos alterem a função do receptor. Ao mesmo tempo em que é possível que eles estejam ligados a uma alteração ainda não identificada da função do receptor, sendo responsáveis por um subtipo de atopia, pode ser que eles não tenham significância funcional e sim estejam articulados com um outro mutante situado num gen próximo. Apesar de outros pesquisadores relacionarem a atopia ao cromossomo 11q (3,49), outros não conseguiram confirmar essa ligação (45,50,51). Pode ser que as discrepâncias nos resultados se devam às diferenças ambientais, à heterogeneidade genética, ou às diferenças na definição de atopia, entre outros motivos. De qualquer forma, o fato exemplifica bem as dificuldades nesse tipo de estudo.

Com base na maior parte dos estudos conhecidos, certamente a asma não é produto de um único gen. Parodiando o poeta, "a asma é a arte do encontro (de gens, de citocinas, de interleucinas, de mediadores, de células, de estímulos ambien-

tais) embora haja tanto desencontro (de abordagens terapêuticas)". Diversas regiões de vários cromossomos vêm sendo pesquisadas em busca dos genes envolvidos nessa doença (se é que o que chamamos asma seja uma única doença).

Uma outra linha de estudo mapeou os genes relacionados a diversas citocinas (interleucinas 3,4, 5,9,13 e fator estimulador de colônias de granulócitos e monócitos) a uma pequena região no cromossomo 5q31-33 (52). Com base na hipótese de que um ou mais desses genes responsáveis por essas citocinas poderia estar envolvido na atopia e/ou na asma, essa região tornou-se alvo de estudos. Ela tem cerca de 6Mb, ou seja, cerca de 300 genes estão presentes naquela área (53). Possivelmente, a produção aumentada de IgE está relacionada a essa região; porém, aparentemente, diferentes mecanismos genéticos podem estar envolvidos na elevação global da IgE sérica e nas respostas IgE específicas a determinados antígenos. No segundo caso, possivelmente os genes reguladores estão em outras regiões (54). Dentre os determinantes da resposta IgE específica estão o antígeno de leucócito humano (HLA) e os genes receptores de células T (TCR). As moléculas HLA classe II são expressas em monócitos e macrófagos. Elas apresentam peptídeos derivados dos antígenos aos linfócitos T que, através do TCR, interagem com o complexo HLA-antígeno. Essa interação resulta na ativação do linfócito T e na iniciação da resposta imune contra o antígeno. Tanto as moléculas de HLA quanto as de TCR são muito polimórficas e esse polimorfismo determina com quais antígenos elas irão interagir, influenciando a especificidade da resposta imune. O complexo genético determinante do HLA está localizado no cromossomo 6p. Numerosos estudos demonstraram associações variáveis entre determinados alelos HLA (alelos susceptíveis) e respostas específicas IgE (55, 56, 57). Outros estudos (58, 59, 60) procuraram a ligação entre HLA e asma, mas os resultados ainda são incipientes. Em 95% dos linfócitos T, o TCR é composto por cadeias α e β . A determinação da cadeia α está no cromossomo 14 e a da β no 7. Até o momento, ainda não se comprovou qualquer ligação entre as regiões responsáveis por elas com respostas IgE específicas. No cromossomo 12q também há áreas em estudo possivelmente ligadas à produção do interferon- γ (promove a diferenciação do linfócito Th1 e inibe a diferenciação e a produção da interleucina-4 pelo linfócito Th2), do

fator de crescimento de mastócitos (necessário para a proliferação de mastócitos maduros), do fator de crescimento insulina-like (promove a diferenciação dos linfócitos T e B) e da forma constitutiva da sintetase de óxido nítrico. Alguns estudos têm ligado marcadores do cromossomo 12q à asma e a níveis elevados de IgE (61,62).

Num estudo interessante, no qual o primeiro scan de um genoma foi publicado (63), oitenta famílias (364 pessoas) de uma cidade inglesa foram estudadas. Ao mesmo tempo, uma amostra de 77 famílias de outra cidade no mesmo país foi usada para tentar replicar qualquer achado positivo no primeiro grupo. As implicações já descritas do cromossomo 11 foram observadas e replicadas no grupo controle. Além disso, diferentes regiões do genoma apresentaram resultados positivos para diferentes fenótipos: responsividade brônquica inespecífica foi ligada aos cromossomos 4, 7 e 16; concentração sérica total de imunoglobulina E aos cromossomos 6, 7 e 16; eosinofilia aos cromossomos 6 e 7; e atopia (combinando testes cutâneos e imunoglobulina E) aos cromossomos 6 e 13. No segundo grupo, houve replicação da ligação da atopia ao cromossomo 13 e da asma ao cromossomo 16. Interessantemente, a ligação aos genes maternos foi maior que aos paternos.

O receptor beta-adrenérgico também é alvo dos estudos genéticos. Ele é expresso em grande número de células pulmonares, incluindo mastócitos e células musculares lisas, e alterações na sua expressão foram ligadas à asma (64). Embora não pareça haver diferenças na prevalência de alguns polimorfismos no gen do receptor beta-adrenérgico entre asmáticos e não-asmáticos, alguns desses polimorfismos são mais frequentes em asmáticos com determinadas características: resistência a corticosteróides (65), menor afinidade pela epinefrina, menor potencial de estimulação da adenil-ciclase pela epinefrina (66), *down-regulation* (44), asma noturna (67), menor grau de resposta broncodilatadora mantida ao beta 2 de longa duração (68) e hiper-responsividade brônquica (69,70). Do mesmo modo, os polimorfismos detectados nos genes responsáveis pelo 5-lipoxigenase (71), fator de necrose tumoral (72,73), fator ativador de plaquetas (74) e fator transformador de crescimento- β (75) modulam a asma ou a resposta a determinados medicamentos. Já foi descrita relação entre asma e o gen da adenosina deaminase (ADA - cromossomo 20q13) (76).

Finalmente, em diversos estudos foi descrita a ocorrência simultânea de doença alérgica com outras doenças. Tais achados, se reproduzidos, podem responder às questões sobre a evolução e a persistência de gens predisponentes para doenças alérgicas na população. Ao mesmo tempo, se houver correlação genética entre essas doenças, possivelmente o universo de "gens candidatos" será aumentado. Entre as associações documentadas, pode-se citar:

1. O número de pessoas apresentando tanto asma como diabetes juvenil é menor que o esperado (77). Entretanto, estudo mais recente não replicou esses resultados (78).
2. Vários relatos ligam a asma ao câncer (79,80,81). A correlação entre asma e câncer de pulmão parece ser a mais replicável (82), mas não parece ter base genética; possivelmente se deve à inflamação crônica.
3. A doença familiar "Febre do Mediterrâneo" (ligada ao cromossomo 16p13) foi descrita como "protetora" contra asma (83,84). Num estudo, sugeriu-se que também os heterozigotos têm menor incidência de asma (85).
4. Interpretações semelhantes foram publicadas recentemente para os portadores heterozigotos do alelo mutante DF508 do gen da fibrose cística (cromossomo 7q37) (86).

Os estudos revisados acima sugerem uma contribuição genética significativa para justificar a agregação familiar observada na asma e na atopia. Certamente, as ações de múltiplos gens estão envolvidas. O tema é extremamente complexo, as metodologias usadas nas investigações são sofisticadas e recheadas de incertezas, e o conhecimento escasso. Tem sido freqüente a inconsistência dos resultados alcançados por diversos pesquisadores. Por exemplo, os estudos que ligaram o cromossomo 11q à asma tiveram base em populações com diferenças étnicas marcadas. Entretanto, para cada estudo positivo houve um ou mais negativos nos mesmos grupos étnicos. Várias hipóteses procuram explicar o fato: mecanismos genéticos alterados, heterogeneidade genética, fatores de confusão na interação gen/meio-ambiente. O conceito de *heterogeneidade genética* postula a existência de diferentes alelos (pouco freqüentes) em diferentes locais dos cromossomos, cada um deles suficiente para causar doença de seu modo no ambiente apropriado. Há bastante evidências de que um gen no

cromossomo 11q, provavelmente a subunidade β -Fc ϵ RI, exerce alguma influência na concentração sérica total de imunoglobulina E na resposta brônquica inespecífica e na asma. A inconsistência entre os estudos significa que o risco atribuível a esse único gen pode ser grande ou pequeno. Há menos evidências, embora cada vez mais, da participação dos cromossomos 5q e 12q. As associações alélicas com o gen do beta-receptor sugerem que ele pode ser um modulador da gravidade da asma e que não tem relação com a concentração sérica total de imunoglobulina E. As associações alélicas do HLA parecem modificar a resposta a determinados alérgenos, mas não foram, até o momento, consistentemente implicados na presença ou ausência de asma, exceto por uma possibilidade relativa a uma exposição ocupacional particular (isocianato) (87).

Há um enorme esforço conjugado na busca dos gens da asma e da atopia. Em diversas regiões do mundo, pesquisadores vêm buscando identificar os gens causais (67, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96). A identificação desses gens será o primeiro passo na investigação de suas funções em modelos animais e humanos. Possivelmente, esse conhecimento permitirá esclarecer mecanismos de desenvolvimento da asma, permitindo novas e efetivas abordagens terapêuticas. Quem sabe se as diferentes apresentações da asma refletem diferentes variações genéticas que necessitam de diferentes modalidades terapêuticas? O conhecimento do genotipo poderá levar a novas classificações da asma e, talvez, em vez de definirmos a linha terapêutica segundo a gravidade da doença (intermitente, leve, moderada e grave), a codificação genética seja o indicador mais importante. Será que mais do que ajudar a definição terapêutica, o *screening* genético permitirá a identificação dos indivíduos em risco de desenvolverem a doença, fazendo deles alvos de intervenções preventivas eficazes antes que a asma se manifeste clinicamente? Será que o desenvolvimento da terapia genética fará com que nossos sucessores tenham que buscar livros de história para saber o que é asma?

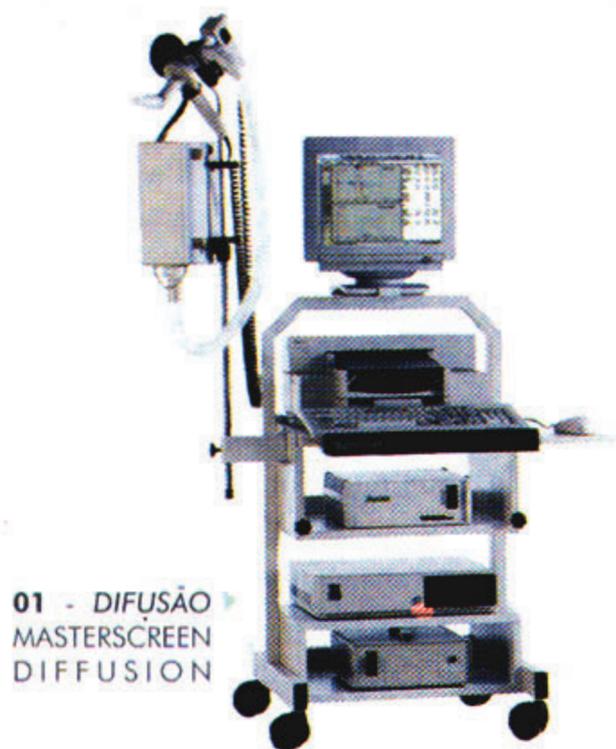
Referências Bibliográficas:

- 1-Kerem B, Rommens JM, Buchanan JA, et al. Identification of the cystic fibrosis gene: genetic analysis. *Science* 1989; 245:1073-1080.
- 2-Knudson AG Jr. Mutation and cancer: statistical study of retinoblastoma. *Proc Natl Acad Sci USA* 1971; 68:820-823.

- 3-Morton NE. Statistical considerations for genetic analysis of atopy and asthma. In: Meyers DA, Liggett SB, eds. *The genetics of asthma*. New York; Marcel Dekker 1996; 367-378.
- 4-Green ED, Waterson RH. The Human Genome Project: prospects and implications for clinical medicine. *JAMA* 1991; 266:1966-1975.
- 5-Morton NE. Parameters of the human genome. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88:7474-7476.
- 6-Bishop JO. The gene numbers game. *Cell* 1974; 2:81-86.
- 7-Dib C, Faure S, Fizames C et al. A comprehensive genetic map of the human genome based on 5.264 microsatellites. *Nature* 1996; 380:152-154.
- 8-Verkeek AJMH, Pieretti M, Sutcliffe JS, et al. Identification of a gene (FMR-1) containing a CGG repeat coincident with a breakpoint cluster region exhibiting length variation in fragile X syndrome. *Cell* 1991; 65:905-914.
- 9-Royer-Pokora B, Kunkel LM, Monaco AP, et al. Cloning the gene for an inherited human disorder - chronic granulomatous disease- on the basis of its chromosomal location. *Nature* 1986; 322:32-38.
- 10-Ott J. *Analysis of human genetic linkage*. Baltimore, MD; Johns Hopkins University Press, 1991.
- 11-Collins FS. Positional cloning moves from perditional to traditional. *Nat Genet* 1995; 9:347-350.
- 12-Crowe RR. Candidate genes in psychiatry: an epidemiological perspective. *Am J Med Genet* 1993; 48:74-79.
- 13-Lander ES, Schork NJ. Genetic dissection of complex traits. *Science* 1994; 265:2037-2048.
- 14-Spielman RS, Ewens WJ. The TDT and other family-based tests for linkage disequilibrium and association. *Am J Hum Genet* 1996; 59:983-989.
- 15-Hodge SE. What association analysis can and cannot tell us about the genetics of complex disease. *Am J Med Genet* 1994; 54:318-323.
- 16-Schuler GD, Boguski MS, Stewart EA, et al. A gene map of the human genome. *Science* 1996; 274:540-546.
- 17-Rothman KJ, Greenland S, Walker AM. *Concepts of interaction*. *Am J Epidem* 1980; 112:467-470.
- 18-Rothman KJ. *Modern epidemiology*. Boston, MA: Little, Brown and Company, 1986.
- 19-Seminara D, Ostrams GI. Genetic epidemiology of cancer: a multidisciplinary approach. *Genet Epidemiol* 1994; 11:235-254.
- 20-Dorman JS. Genetic epidemiology of insulin-dependent diabetes mellitus: international comparisons using molecular genetics. *Ann Med* 1992; 24:393-399.
- 21-Silman AJ. The genetic epidemiology of rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol* 1992; 10:309-312.
- 22-Ottman R. Epidemiologic analysis of gene-environment interaction in twins. *Genet Epidemiol* 1994; 11:75-85.
- 23-Khoury MJ, Beaty TH. Applications of the case-control method in genetic epidemiology. *Epidemiol Rev* 1994; 16:134-150.
- 24-Khoury MJ, Beaty TH, Cohen BH. *Fundamentals of genetic epidemiology*. New York, NY: Oxford University Press, 1993.
- 25-Wiener AS, Zieve I, Fries JH. The inheritance of allergic disease. *Ann Eugen* 1936; 7:141-162.
- 26-Sakula A. A history of asthma. The FitzPatrick lecture 1987. *J R Coll Physicians Lond* 1988; 22:36-44.
- 27-Salter HH. *On asthma: its pathology and treatment*. London, England: John Churchill, 1860.
- 28-Cooke RA, Vander Veer AJr. Human sensitization. *J Immunol* 1916;201-305.
- 29-Spain WC, Cooke RA. Studies in specific hypersensitiveness. XI. The familial occurrence of hay fever and bronchial asthma. *J Immunol* 1924; 9:521-569.
- 30-Coca AF, Cooke RA. On the classification of the phenomena of hypersensitiveness. *J Immunol* 1923; 8:163-182.
- 31-Schwartz M. Heredity in bronchial asthma. *Acta Allergol* 1952; 5(Suppl II): 1-288.
- 32-Mrazek DJ, Pauls D, Anderson I, et al. Segregation analysis of 145 asthmatic families. (Abstract) *Am J Human Genet* 1989; 45(Suppl):A245.
- 33-Lawrence S, Beasley R, Doull I, et al. Genetic analysis of atopy and asthma as quantitative traits and ordered polychotomies. *Ann Hum Genet* 1994; 58:359-368.
- 34-Holberg CJ, Elston RC, Halonen M, et al. Segregation analysis of physician diagnosed asthma in Hispanic and non-Hispanic white families: a recessive component? *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 154:144-150.
- 35-Townley RG, Bewtra A, Wilson AF, et al. Segregation analysis of bronchial response to methacholine inhalation challenge in families with and without asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1986; 77:101-107.
- 36-Genes for asthma? An analysis of the European Community Respiratory Health Survey. *Am J Respir Crit Care Med* 1977; 156(6):1773-1780.
- 37-Penrose LS. The genetic background of common diseases. *Acta Genet Stat Med* 1953; 4:257-265.
- 38-Risch N. Linkage strategies for genetically complex traits. I. Multilocus models. *Am J Hum Genet* 1990;46:222-228.

DIFUSÃO, PLESTISMOGRAFIA e OSCILOMETRIA COM QUALIDADE GARANTIDA TEM QUE SER :

JAEGER

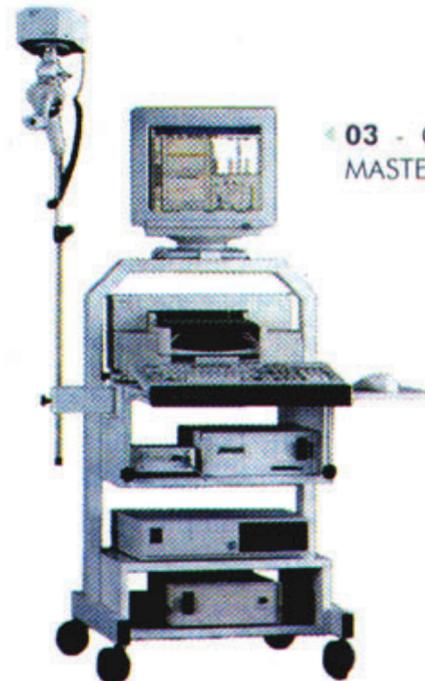


01 - DIFUSÃO
MASTERSCREEN
DIFFUSION

02 - PLESTISMOGRAFIA
MASTERSCREEN - BODY



03 - OSCILOMETRIA
MASTERSCREEN - IOS



ESPIRÔMETROS DE ALTA PERFORMANCE QUE COM CERTEZA ATENDERÃO AS SUAS NECESSIDADES.



04 - FLOWSCREEN PRO

05 - MASTERSCOPE



ERGOESPIRÔMETROS PARA MEDICINA ESPORTIVA.

06 - OXICON DELTA



**E. TAMUSSINO
& CIA LTDA**

Representante Exclusivo no Brasil

DESIGN PAULA XIMENES (021) 2867841

R. Washington Luís, 97 - Centro
20230-021 - Rio de Janeiro - RJ
Tel: (021) 509-3236
Fax: (021) 509-0759

R. Camé, 943 - Moóca
03121-00 - São Paulo - SP
Tel: (011) 6128-0766
Fax: (011) 6128-0352

Av. Rep. Argentina, 2403/cj. 56 - Portão
80610-260 - Curitiba - PR
Tels: (041) 345-7117/345-3534
Fax: (041) 345-6933