

# Associação dos polimorfismos nos genes da IL-4, IL-5, IL-13 e IL-10 e a asma infantil: uma revisão sistemática

## *Association of polymorphisms in IL-4, IL-5, IL-13 or IL-10 genes and childhood asthma: a systematic review*

Iana R. F. Sales<sup>1</sup>, Erica S. Fernandes<sup>2</sup>, Décio M. Peixoto<sup>3</sup>, Maria T. C. Muniz<sup>4</sup>, Emanuel S. C. Sarinho<sup>5</sup>, Valdênia M.O. Souza<sup>6</sup>

### Resumo

**Objetivo:** A reação inflamatória observada na asma é decorrente da ativação de linfócitos Th2, ação das citocinas IL-4, IL-5, IL-9 e IL-13 e produção de IgE. Estima-se que diferentes genes e seus polimorfismos influenciam o desenvolvimento da doença. O presente estudo apresenta os resultados de artigos, selecionados sistematicamente, sobre a associação de polimorfismos nos genes da IL-4, IL-5, IL-13 e IL-10 e o fenótipo de asma, gravidade da doença e atopia em crianças.

**Fontes dos dados:** Foi realizada uma pesquisa por artigos nos principais bancos científicos e foram selecionados 15 trabalhos, publicados entre 1999 e 2008.

**Síntese dos dados:** Em relação à associação entre os polimorfismos, em diferentes regiões do gene e o diagnóstico clínico de asma, foi verificado que para IL-4, 50% (4/8) dos artigos observaram associação significativa e para IL-13, 80% (4/5). Contudo, os estudos para os genes da IL-5 e IL-10 não encontraram associação positiva. Para a variável níveis de gravidade e/ou presença de atopia, 67% (4/6) e 100% (5/5) dos estudos encontraram associação nos genes da IL-4 e da IL-13, respectivamente. Para os genes da IL-5 e IL-10 foi observada associação significativa, porém, não é possível inferir conclusões, devido o pequeno número de artigos disponíveis.

**Conclusões:** Os resultados desta revisão sistemática ressaltam a participação de polimorfismos nos genes da IL-4 e IL-13 na indução de níveis de asma, gravidade dos sintomas e/ou atopia, além de enfatizar a necessidade de mais estudos sobre a participação do polimorfismo da IL-5 e IL-10 com os diferentes níveis de asma.

*Rev. bras. alerg. imunopatol.* 2012;35(3):89-97: Polimorfismo genético, citocinas Th2, asma, criança.

### Abstract

**Objective:** The inflammatory reaction observed in asthma is due to the activation of Th2 lymphocytes, the action of cytokines IL-4, IL-5, IL-9 and IL-13 and the production of IgE. It is estimated that different genes and their polymorphisms influence the development of the disease. This study presents the results of systematically selected articles about the association of polymorphisms in genes of cytokines IL-4, IL-5, IL-13, IL-10 and asthma phenotype, the disease severity and atopy in children.

**Data source:** 15 scientific articles published between 1999 and 2008 were selected from major databases.

**Data synthesis:** Regarding the association between polymorphisms in different gene regions and the clinical diagnosis of asthma, 50% (4/8) of the articles about IL-4 stated the existence of a significant association and 80% (4/5) of those that studied IL-13 presented the same conclusion. However, in studies about genes of IL-5 and IL-10 no positive associations were found. For the variable levels of severity and/or the existence of atopy, 67% (4/6) and 100% (5/5) of the studies showed an association with genes of IL-4 and IL-13, respectively. Regarding genes of IL-5 and IL-10, a significant association was observed, but it was not possible to point out conclusions, due to the poor number of articles available.

**Conclusions:** The results of this systematic review highlight the role of polymorphisms in genes of IL-4 and IL-13 in the induction of asthma phenotypes, severity of symptoms and/or atopy. Also, this review emphasizes the need for further studies about the participation of polymorphisms of IL-5 and IL-10 in the different asthma phenotypes.

*Rev. bras. alerg. imunopatol.* 2012;35(3):89-97: Genetic polymorphisms, Th2 cytokines, asthma, children.

### Introdução

A asma é uma síndrome de obstrução das vias aéreas que ocasiona elevada morbidade e mortalidade<sup>1</sup>. Nas últimas três décadas, o número de casos aumentou em média 1% ao ano<sup>2</sup>. Acomete, aproximadamente, 200 a 300 milhões de

indivíduos<sup>3</sup> e é particularmente comum nos países desenvolvidos, onde 10% a 30% das crianças e dos adultos são acometidos<sup>4,5</sup>. No Brasil, 19% e 25% dos adolescentes e crianças, respectivamente, apresentam diagnóstico de asma

1. Mestre em Medicina Tropical. Doutoranda da UFPE e colaboradora do Laboratório de Imunopatologia Keizo Assami (UFPE).

2. Biomédica. Mestranda da UFPE e colaboradora do Laboratório de Imunopatologia Keizo Assami (UFPE).

3. Doutor em Pediatria e Ciências Aplicadas à Pediatria e Pesquisador do Centro de Pesquisa em Alergia e Imunologia da UFPE.

4. Doutora em Ciências Biológicas, Professora Adjunta e Coordenadora do Mestrado em Biologia Celular e Molecular Aplicada (UPE).

5. Doutor em Pediatria, Professor Adjunto e Coordenador da Disciplina de Alergia e Imunologia da UFPE.

6. Doutora em Imunologia e Professora Adjunta da Universidade Federal de Pernambuco-UFPE.

e as taxas de prevalência mais elevadas foram observadas nos centros das regiões Norte, Nordeste e Sul<sup>6</sup>. Na maioria das crianças a doença é intermediária e facilmente controlada, com a utilização de terapia adequada. No entanto, 5% a 10% dos pacientes pediátricos apresentam os sintomas persistentes e frequentemente exacerbados<sup>7</sup>.

A asma alérgica é caracterizada, histopatologicamente, por acúmulo de linfócitos T CD4+, bem como eosinófilos, neutrófilos e mastócitos na mucosa dos brônquios. A inflamação é coordenada por linfócitos T CD4+ (“*helper*” - auxiliares) que após o reconhecimento antigênico dos alérgenos via complexo principal de histocompatibilidade tipo II (“*Major Histocompatibility Complex*” - MHCII), nas células apresentadoras de antígenos (APC’s), proliferam e se diferenciam em subtipos Th2. Este processo requer um segundo sinal induzido pelo envolvimento de CD28, nas células T, e moléculas co-estimulatórias CD80 (B7.1) e CD86 (B7.2) nas APC’s<sup>8-10</sup>. Após o reconhecimento antigênico e ativação celular, os linfócitos Th2 produzem, principalmente, as citocinas IL-4, IL-5, IL-9 e IL-13.

A IL-4 e IL-13 induzem a troca isotípica nos linfócitos B para a produção de anticorpos IgE. Essas imunoglobulinas se ligam aos receptores de alta afinidade (FcεRI) na superfície dos mastócitos, e induzem a ativação e secreção de uma variedade de mediadores (histamina, prostaglandinas e leucotrienos). A IL-5 atua no recrutamento e sobrevivência dos eosinófilos, além de estimular a liberação do conteúdo proteico dos seus grânulos que provocam extensos danos na mucosa<sup>5,9,11,12</sup>. A IL-13 induz a liberação de muco e atua em conjunto com a IL-4 e TGF-β aumentando a expressão de moléculas de adesão no endotélio capilar da mucosa brônquica, resultando em um aumento da adesão dos eosinófilos, os quais são recrutados para dentro do tecido. Além disso, essas citocinas induzem o remodelamento dos fibroblastos e células musculares lisas da mucosa aérea<sup>11</sup>.

O controle da resposta imune Th2 nos processos alérgicos é dependente de linfócitos T regulatórios (Tregs) que possuem um efeito supressor/regulador sobre as células Th2, presentes na asma. Existem evidências de que o número de células Tregs CD4+CD25+FoxP3+ (fator de transcrição-“*Forkhead Box P3*”) está reduzido em pacientes atópicos, em comparação com indivíduos saudáveis<sup>13</sup>. A ação inibitória das Tregs pode ser decorrente de algumas vias, entre elas a secreção de citocinas, por exemplo, o TGF-β e/ou IL-10<sup>14,15</sup> que são polipeptídeos eficientes na redução da inflamação das vias aéreas. Com relação a IL-10, esta inibe a atuação de células efetoras tanto na fase aguda, quanto na crônica, além de induzir a produção de anticorpos IgG4 e inibição da síntese de IgE<sup>16</sup>.

A asma apresenta uma condição heterogênea com diferentes fenótipos e expressões clínicas que dependem da idade, gênero, características genéticas e exposições ambientais. Em relação às características genéticas, tem sido sugerido que a susceptibilidade de humanos para o desenvolvimento de asma é dependente de uma série de genes e de seus polimorfismos que contribuem para o aparecimento e/ou gravidade da doença<sup>3,17,18</sup>. Os polimorfismos são as variações mais comuns na sequência do DNA entre indivíduos, grupos

ou populações e incluem os SNP (polimorfismo de nucleotídeo único –“*Single-nucleotide polymorphism*”), sequências repetidas, inserções, deleções ou recombinações<sup>19,20</sup>. Estas variações se propagaram ao longo das gerações e o papel de algumas dessas variantes genéticas parece estar relacionada com modificações na expressão da doença, podendo induzir um efeito protetor (contra a indução da doença ou gravidade) ou patológico (indução da doença, início precoce ou evolução rápida)<sup>21</sup>.

Apesar de ser possível estimar até que ponto a susceptibilidade genética contribui para o risco de asma, ainda não foram definidos claramente quais os loci específicos que influenciam diretamente os fenótipos clínicos. Alguns estudos de associação genética descrevem regiões do genoma que conferem susceptibilidade à asma e sua relação com o aumento do risco para desenvolver a doença. Muitas dessas regiões contêm os genes que codificam algumas citocinas Th2 e sugerem que a variabilidade genética na expressão ou ativação desses mediadores pode contribuir para o risco de desenvolver a asma ou a indução de um fenótipo de gravidade clínica<sup>11,22-24</sup>.

Devido ao incremento nas publicações, nas últimas décadas, sobre as associações entre as variações genéticas e a asma torna-se importante um estudo sistemático que compile esses achados. Neste contexto, o presente trabalho desenvolveu uma revisão sistemática com o intuito de reunir as informações de artigos publicados, nos principais bancos de dados científicos mundiais, que verificassem a atuação dos polimorfismos em diferentes regiões nos genes das IL-4, IL-5, IL-13 ou IL-10 e sua associação com a asma pediátrica, gravidade dos sintomas ou desenvolvimento de atopia. Os resultados da presente revisão ressaltam a participação de polimorfismos nos genes da IL-4 e IL-13, independente do alelo e da posição no gene, na indução de fenótipos de asma, gravidade dos sintomas e atopia. Contudo, essa relação será mais bem elucidada em estudos posteriores que comparem os mesmos polimorfismos nas mesmas regiões dos genes. Não foi observada relação estatística nos polimorfismos da IL-5 e IL-10, indicando a necessidade de novos estudos.

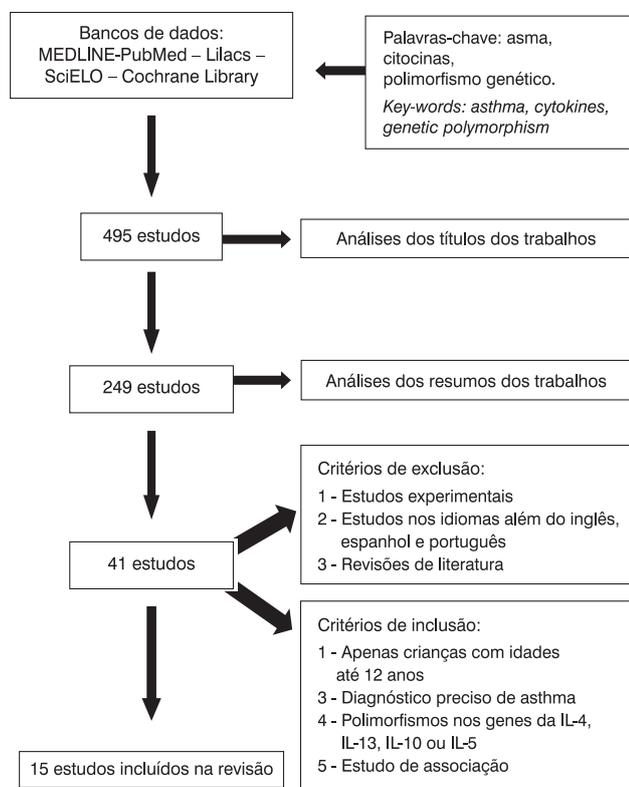
## Métodos

Trata-se de uma revisão sistemática que analisou artigos publicados, relacionados com o tema proposto, nos principais bancos de dados científicos mundiais: Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS), Literatura Internacional em Ciências da Saúde (MEDLINE e OLD MEDLINE), *Scientific Electronic Library Online* (SciELO), *The Cochrane Library*, *National Library of Medicine / National Institutes of Health* (PubMed). A pesquisa ocorreu no período de Julho a Agosto de 2011.

Inicialmente foram selecionados descritores na lista dos Descritores em Ciências da Saúde (DeCS): asma, polimorfismo genético e citocinas e do “*Medical Subject Heading Terms*” (MeSH): *asthma*, *polymorphism genetic* e *cytokines*. Todos os termos e palavras foram combinados e pesquisados. O presente trabalho seguiu as estratégias de revisão sistemática do Centro Cochrane do Brasil<sup>25</sup>. As referências dos artigos

selecionados também foram verificadas para identificar outros estudos que pudessem ser incluídos na presente revisão.

Após a pesquisa inicial, foram analisados os títulos dos trabalhos e selecionados aqueles que tratavam da associação entre os polimorfismos nos genes de citocinas e as doenças alérgicas e crianças até 12 anos. Logo em seguida, os resumos desses estudos foram lidos com o intuito de verificar quais os artigos que deveriam ser analisados integralmente. Posteriormente, um questionário que continha os critérios de inclusão foi respondido, com as informações obtidas do artigo completo, e assim, os trabalhos que se adequaram aos quesitos estabelecidos foram selecionados para a realização desta revisão (Figura 1). Essas etapas foram realizadas por dois observadores com intuito de minimizar os possíveis erros de interpretação.



**Figura 1** - Estratégias de busca dos artigos para a realização da revisão sistemática

Os trabalhos que estivessem escritos em outros idiomas que não fosse o inglês, português ou espanhol não foram incluídos nesta revisão. Além disso, artigos experimentais ou de revisão de literatura também foram excluídos.

Os 41 estudos identificados pela estratégia de revisão foram analisados de forma criteriosa e independente por dois pesquisadores e a seleção dos artigos ocorreu quando havia concordância e/ou desempate por um terceiro pesquisador.

O diagnóstico de asma, nos estudos analisados, foi baseado em consultas com médicos e seguiram as recomendações de entidades internacionais, entre elas, o "Global Initiative for Asthma" (GINA)<sup>26</sup> e o "American Thoracic Society guidelines". Alguns critérios utilizados foram a história de dispneia e sibilância durante os últimos 12 meses, reversibilidade de mais de 12% do volume expiratório forçado no primeiro segundo (VEF<sub>1</sub>), espontaneamente ou após utilização de β<sub>2</sub> agonistas e/ou resultados da provocação com metacolina. Esses dois últimos parâmetros, além de características clínicas, também foram utilizados para caracterizar o nível de gravidade da asma. A atopia, verificada em alguns estudos, foi definida como resultados positivos de testes de hipersensibilidade imediata para alérgenos ambientais, por exemplo, *Dermatophagoides farinae* e *Dermatophagoides pteronyssinus* e elevados títulos de IgE total e/ou IgE específica. Os estudos incluídos nesta revisão demonstravam de maneira clara o método diagnóstico para asma e para os níveis de gravidade e atopia.

Em relação à análise das amostras biológicas dos pacientes, todos os artigos selecionados utilizaram amostras do sangue periférico para a obtenção do DNA, o qual foi obtido por diferentes métodos, entre eles o método clássico do fenol/clorofórmio. O DNA extraído das células sanguíneas dos pacientes foi amplificado por PCR (*Polymerase Chain Reaction*) e o polimorfismo detectado, na maioria dos estudos (80% -12/15), pelo método de RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*).

## Resultados

Foram selecionados 15 artigos publicados entre os anos de 1999 e 2008 realizados com populações dos diferentes continentes, sendo 6 estudos com a população da Europa, 5 da Ásia, 3 das Américas e 1 da África. Os trabalhos utilizaram diferentes desenhos de estudos para detectar a associação com a asma. Dos 15 artigos, dez realizaram um estudo de associação clássico e verificaram a associação entre o polimorfismo no gene estudado e a presença de asma e dos fenótipos complementares, entre eles, gravidade dos sintomas e/ou a presença de atopia nos pacientes e no grupo controle. Os outros trabalhos compararam essa relação apenas em populações asmáticas, não utilizando indivíduos saudáveis. Em relação à randomização dos indivíduos, apenas 5 artigos utilizaram esse método de seleção dos participantes do estudo.

A Tabela 1 apresenta a distribuição dos trabalhos segundo a citocina analisada, o número de estudos que analisaram o mesmo gene, a origem da população estudada e nome do primeiro autor e ano de publicação. É possível verificar que a maioria dos estudos analisou os genes da IL-4 (8 artigos) e IL-13 (5 artigos). Outro ponto importante é que dos 15 artigos selecionados, dois deles verificaram os polimorfismos em duas citocinas de interesse para a presente revisão<sup>27,28</sup>. Os estudos não fazem menção à distribuição dos pacientes de acordo com sua etnia, mas, apenas com suas localizações geográficas.

Em relação ao gene da IL-4, 8 (100%) dos artigos selecionados estudaram o polimorfismo -590 C/T<sup>17,27-33</sup>, demons-

**Tabela 1** - Distribuição dos artigos selecionados segundo o gene analisado e continente de origem

Gene analisado	Número de estudos	Origem da população do estudo	Referências
IL-4	8	Europeus	Faria et al., 2008 <sup>17</sup>
		Asiáticos	Kabesch et al., 2006 <sup>27</sup>
		Africanos	Schubert et al., 2006 <sup>28</sup>
		Americanos	Lee et al., 2004 <sup>29</sup> Sandford et al., 2004 <sup>30</sup> Kabesch et al., 2003 <sup>31</sup> Chouchane et al., 1999 <sup>32</sup> Beghé et al., 2003 <sup>33</sup>
IL-13	5	Americanos	Kabesch et al., 2006 <sup>27</sup>
		Europeus	Hunninghake et al., 2007 <sup>34</sup>
		Asiáticos	Kim HB et al., 2006 <sup>35</sup> . Heinzmann et al., 2003 <sup>36</sup> Leung et al., 2003 <sup>37</sup>
IL-10	2	Europeus	Schubert et al., 2006 <sup>28</sup>
		Americanos	Lyon et al., 2004 <sup>38</sup>
IL-5	2	Europeus	Hong et al., 2005 <sup>53</sup>
		Asiáticos	Kabesch et al., 2007 <sup>54</sup>

trando uma ampla distribuição em populações de diferentes origens. Essa variante genética parece estar associada com o aumento da ligação de um fator de transcrição e, portanto, favorece uma superexpressão do gene IL-4 e, suas reações imunológicas dependentes<sup>34</sup>. Esse polimorfismo estava associado com a presença de asma em 50% dos estudos analisados (4/8)<sup>27,28,31,32</sup>. Dos oito artigos selecionados, seis deles estudaram associação com os níveis de gravidade de asma ou com o desenvolvimento de atopia. Foi possível verificar que 67% (4/6) dos estudos encontram associação estatisticamente significativa entre a presença de polimorfismo no gene da IL-4 e os níveis de gravidade dos sintomas de asma<sup>32,33</sup> e com o desenvolvimento de atopia<sup>27,31</sup> (Tabela 2). O único estudo realizado no Brasil, não encontrou associação para nenhuma das variáveis estudadas<sup>17</sup>.

Os artigos selecionados para a presente revisão que abordaram os genes da IL-13 e IL-10, não apresentaram homogeneidade total dos alelos e das regiões dos genes estudadas. Diante disso, o presente trabalho optou por fazer uma análise geral dos polimorfismos e averiguar se havia ou não associação dessas variações genéticas com a presença de asma, níveis de gravidade e desenvolvimento de atopia.

Em relação aos polimorfismos no gene da IL-13, o alelo G/A que resulta em uma troca de aminoácido de arginina para glutamina foi estudado em 4 artigos dos 5 selecionados<sup>27,34-37</sup>. Foi observado que 80% dos trabalhos (4/5)<sup>34-37</sup> encontraram resultados estatisticamente significativos entre a presença do

polimorfismo, independente da região do gene, e o diagnóstico clínico de asma. Em relação à presença de atopia, 100% (5/5) dos estudos encontraram associação com a presença de diferentes polimorfismos. Contudo, para variável nível de gravidade observou-se associação estatística em apenas um estudo<sup>34</sup> (Tabela 3).

O gene da IL-10 foi analisado por dois estudos<sup>28,38</sup>. Contudo, as regiões e alelos estudados diferiram entre os artigos, semelhante a IL-13. Em relação às análises de associação, em ambos os estudos não foi verificado resultado significativo entre os diferentes polimorfismos e o fenótipo de asma, nas crianças analisadas. Porém, para as variáveis níveis de gravidade ou para o desenvolvimento de atopia, foi encontrada relação significativa (Tabela 4).

Dos dois estudos encontrados para o gene da IL-5, ambos abordaram o polimorfismo não só o mesmo alelo (C/T), mas também a mesma região - 746. Em relação às análises de associação, não houve correlação positiva em nenhum dos trabalhos, quando a análise foi direcionada para presença de polimorfismo e asma. Porém, para as variáveis nível de gravidade ou atopia, foi encontrada relação significativa (Tabela 5).

## Discussão

Neste estudo destacamos a atuação de polimorfismos nos genes da IL-4 e IL-13, independente do alelo e região do

**Tabela 2** - Estudos que analisaram o gene da IL-4 e suas características genéticas, demográficas e associações estatísticas

Gene	Polimorfismo	Idade	"n"	Localização	Asma	Fenótipo de gravidade	Atopia	Referências
IL-4	C/T	10	88	Promotor 590	p > 0,05	p > 0,05	p > 0,05	Faria et al., 2008 <sup>17</sup>
IL-4	C/T	10	856	Promotor 590	<b>p &lt; 0,05</b>	-	<b>p &lt; 0,05</b>	Kabesch et al., 2006 <sup>27</sup>
IL-4	C/T	10	271	Promotor 590	<b>p &lt; 0,05</b>	-	-	Schubert et al., 2006 <sup>28</sup>
IL-4	C/T	11	256	Promotor 590	p > 0,05	p > 0,05	p > 0,05	Lee et al., 2004 <sup>29</sup>
IL-4	C/T	10	107	Promotor 590	p > 0,05	-	-	Sandford et al., 2004 <sup>30</sup>
IL-4	C/T	10	1120	Promotor 590	<b>p &lt; 0,01</b>	p > 0,05	<b>p &lt; 0,05</b>	Kabesh et al., 2003 <sup>31</sup>
	C/T			Promotor 33	<b>p &lt; 0,05</b>	p > 0,05	<b>p &lt; 0,05</b>	
	G/T			Promotor 2979	p < 0,05	p > 0,05	p > 0,05	
	G/C			Promotor 3551	p > 0,05	p > 0,05	p > 0,05	
	G/T			Promotor 7235	p > 0,05	p > 0,05	p > 0,05	
IL-4	C/T	12	140	Promotor 590	<b>p &lt; 0,05</b>	<b>p &lt; 0,0001</b>	-	Chouchane et al., 1999 <sup>32</sup>
IL-4	C/T	11	679	Promotor 34	p > 0,05	<b>p &lt; 0,01</b>	-	Beghé et al., 2003 <sup>33</sup>
	C/T			Promotor 590				

**Tabela 3** - Estudos que analisaram o gene da IL-13 e suas características genéticas, demográficas e associações estatísticas

Gene	Polimorfismo	Idade	"n"	Localização	Asma	Nível de gravidade	Atopia	Referências
IL-13	C/T	10	856	Promotor 1112	<b>p &lt; 0,05</b>	-	<b>p &lt; 0,05</b>	Kabesch et al., 2006 <sup>27</sup>
IL-13	A/C	8,7	417	5' genômico	p > 0,05	p > 0,05	p > 0,05	
	C/T			Promotor 1112	p > 0,05	<b>p &lt; 0,05</b>	p > 0,05	Hunninghake et al., 2007 <sup>34</sup>
	G/A			Promotor 130	p > 0,05	p > 0,05	<b>p &lt; 0,05</b>	
	G/T			3' UTR	p > 0,05	p > 0,05	p > 0,05	
	C/T			3' genômico	p > 0,05	p > 0,05	p > 0,05	
	A/C	8,6	503	5' genômico	p > 0,05	p > 0,05	p > 0,05	
	C/T			Promotor 1112	p > 0,05	p > 0,05	p > 0,05	Kim HB et al., 2006 <sup>35</sup>
	G/A			Promotor 130	<b>p &gt; 0,01</b>	p > 0,05	p > 0,05	
	G/T			3' UTR	p > 0,05	p > 0,05	<b>p &lt; 0,05</b>	
	C/T			3' genômico	p > 0,05	p > 0,05	<b>p &lt; 0,05</b>	
IL-13	A/C	9	469	Promotor 1512	p > 0,05	-	<b>p &lt; 0,05</b>	Heinzmann et al., 2003 <sup>36</sup>
	C/T			Promotor 1112	p > 0,05	-	<b>p &lt; 0,05</b>	
	G/A			Promotor 2044	<b>p &lt; 0,05</b>	-	p > 0,05	
IL-13	G/A	10	271	Promotor 110	<b>p &lt; 0,05</b>	-	<b>p &lt; 0,01</b>	Leung et al., 2001 <sup>37</sup>
IL-13	G/A	10	157	Promotor 130	p > 0,05	p > 0,05	<b>p &lt; 0,05</b>	

**Tabela 4** - Estudos que analisaram o gene da IL-10 e suas características genéticas, demográficas e associações estatísticas

Gene	Polimorfismo	Idade	"n"	Localização	Asma	Fenótipo de gravidade	Atopia	Referências
IL-10	C/A	10	271	Promotor 571	p > 0,05	-	-	Schubert et al., 2006 <sup>28</sup>
IL-10	A/G	8	968	Promotor 1117	p > 0,05	<b>p &lt; 0,01</b>	<b>p &lt; 0,01</b>	Lyon et al., 2004 <sup>38</sup>
	C/T			Promotor 854	p > 0,05	p > 0,05	p > 0,05	
	C/A			Promotor 627	p > 0,05	<b>p &lt; 0,01</b>	<b>p &gt; 0,05</b>	
	T/A			Intron 3'	p > 0,05	<b>p &gt; 0,05</b>	<b>p &lt; 0,01</b>	
	T/C			Intron 3'	p > 0,05	<b>p &lt; 0,01</b>	p > 0,05	
	T/C			3' UTR	p > 0,05	<b>p &lt; 0,001</b>	<b>p &lt; 0,01</b>	

**Tabela 5** - Estudos que analisaram o gene da IL-5 e suas características genéticas, demográficas e associações estatísticas

Gene	Polimorfismo	Idade	"n"	Localização	Asma	Fenótipo de gravidade	Atopia	Referências
IL-5	C/T	Promotor 746	9	310	p > 0,05	<b>p &lt; 0,05</b>	<b>p &lt; 0,05</b>	Hong et al., 2005 <sup>53</sup>
IL-5	C/T	Promotor 746	10	3672	p > 0,05	-	-	Kabesch et al., 2007 <sup>54</sup>

gene analisada, como facilitadores para a indução de asma, gravidade dos sintomas ou desenvolvimento de atopia, em crianças de diferentes regiões do mundo. Ao mesmo tempo, descrevemos a limitação para conclusões sobre a associação entre as variações genéticas nos genes da IL-5 e IL-10 e o desenvolvimento de asma ou níveis de gravidade, uma vez que existem poucos estudos publicados.

A asma é uma doença de natureza genética, mas a hereditariedade não segue os padrões mendelianos clássicos e os estudos de associação são importantes para o esclarecimento da participação da genética na indução da doença e/ou de sua gravidade. Uma das ferramentas utilizadas na identificação dessa relação é o estudo de polimorfismos nos genes candidatos à susceptibilidade para asma, onde são testadas as variantes genéticas específicas mais comuns entre os asmáticos e não asmáticos<sup>22</sup>.

Diversos genes foram propostos como influenciadores do fenótipo da asma e os principais são aqueles que codificam proteínas que possuem papel imunológico associada à doença. Por exemplo, as citocinas IL-4, IL-5, IL-9, IL-13, TNF- $\alpha$ , IL-10, entre outras, que são produzidas em respostas aos aeroalérgenos<sup>11</sup>. Os polimorfismos em genes que codificam tais polipeptídeos têm sido extensivamente estudados. No entanto, não existe consenso sobre sua real atuação na indução da doença ou dos níveis de gravidade.

Os estudos incluídos nesta revisão sistemática abrangeram as citocinas, características da resposta Th2 que

foram a IL-4, IL-5 e IL-13. Além de verificar também um polipeptídeo representante da reposta T regulatória que foi a IL-10. Existem inúmeros estudos publicados sobre esses mediadores, porém, os selecionados para esta revisão foram aqueles que analisaram a faixa etária pediátrica, uma vez que, o diagnóstico de asma nessa população nem sempre se assemelha ao verificado em pacientes adultos e essa é a enfermidade crônica mais comum entre as crianças<sup>39,40</sup>.

A heterogeneidade dos resultados encontrados para os polimorfismos no gene da IL-4 pode ser atribuída a algumas diferenças nos desenhos de estudo e nos procedimentos metodológicos. Entre elas, o número de pacientes selecionados e a escolha do grupo controle, uma vez que, em alguns dos artigos estes indivíduos eram adultos e doadores de sangue. Além disso, as diferenças étnicas entre as populações, o tipo de estudo escolhido para analisar as associações ou a existência de outras alterações no gene que não tenham sido estudadas, podem ter influenciado nos resultados obtidos. Contudo, os artigos selecionados para a presente revisão sistemática estudaram os mesmos alelos (C/T) e, na maioria deles, a mesma posição no gene, fortalecendo os achados encontrados e apoiando a hipótese de que a heterogeneidade dos resultados se deve as possíveis diferenças metodológicas mencionadas anteriormente.

Estes resultados sugerem que o polimorfismo 590 C/T no gene da IL-4 pode estar associado com o fenótipo de asma, mas, parece influenciar mais no desenvolvimento da doença

grave ou na regulação dos níveis de IgE sérico total. Esses achados são corroborados pelos estudos de Rosenwasser et al.<sup>41</sup> que descreveram um polimorfismo na região promotora (590 C/T) no gene da IL-4, o qual estava associado com elevados níveis de IgE em indivíduos asmáticos, embora outros estudos não confirmem essa associação<sup>30,42</sup>. Ainda nesse contexto, alguns autores também identificaram associação entre um polimorfismo no gene da IL-4 (-33C/T) e a presença de elevados níveis de IgE. No entanto, os mecanismos exatos de como esses polimorfismos podem afetar o risco de asma atópica no nível molecular ainda é especulativo<sup>43</sup>.

Segundo a estratégia de revisão utilizada e, com base nos critérios de inclusão, o estudo de Faria et al.<sup>17</sup> que verifica o gene da IL-4 pôde ser incluído, representando o único trabalho desenvolvido com população do Brasil na presente revisão sistemática. Contudo, não foi encontrado nenhum tipo de associação entre o polimorfismo e a presença de alguma das variáveis estudadas (asma, gravidade dos sintomas ou atopia). As diferenças metodológicas entre os estudos, por exemplo, região do gene analisada, método de detecção do polimorfismo, a etnia da população, a escolha do grupo controle, entre outros, podem ter influenciado diretamente nos resultados encontrados.

O gene da IL-13 codifica uma citocina imunorregulatória produzida principalmente por células Th2 ativadas. Este polipeptídeo regula positivamente a expressão do MHCII e promove a comutação isotípica de IgE, além de inibir a produção de citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias. Esta citocina é crítica para a patogênese da asma induzida por alérgenos<sup>23</sup>. Semelhante à revisão de literatura desenvolvida por Videira et al.<sup>24</sup>, os achados da presente revisão sistemática verificaram uma maior homogeneidade de resultados para o gene da IL-13, em comparação com o da IL-4, independente do alelo e região do gene analisada.

A presente revisão teve por objetivo analisar a influência de diferentes polimorfismos genéticos no gene da IL-13, independente da localização no gene. Esse fato fortalece os achados encontrados, apesar de não ter sido verificada homogeneidade desse loci. Dos cinco estudos incluídos nesta revisão, quatro apresentaram associação entre a presença do polimorfismo no gene da IL-13 e o diagnóstico clínico de asma. Esses achados são corroborados por estudos de Van der Pouw Kraan et al.<sup>44</sup> que foi o primeiro a descrever o polimorfismo C/T na posição - 1055 do gene da IL-13. Esses autores verificaram a associação desse polimorfismo com a asma alérgica e regulação alterada da produção da IL-13, bem como aumento da ligação de proteínas nucleares em pacientes adultos. Indicando que a presença desse polimorfismo predispõe ao desenvolvimento de doença alérgica.

Nesse contexto, a influência para a indução de atopia (maiores títulos de IgE), foi verificada em 8 (100%) dos estudos que analisavam o polimorfismo no gene da IL-13. Dois deles verificaram um polimorfismo de única base (SNP) na posição 110<sup>36</sup> e na 130<sup>37</sup> que resulta em uma troca de aminoácido de arginina para glutamina, e essa permuta está relacionada com alterações nos níveis dessa citocina, além de induzir uma modificação molecular que pode influenciar na

sua interação com seu receptor específico<sup>45</sup>, esses trabalhos demonstraram associação significativa do polimorfismo com a atopia. Esses achados se assemelham aos estudos em populações alérgicas da Inglaterra e Alemanha<sup>46,47</sup>. Contudo, Howard et al.<sup>48</sup> verificaram uma contribuição estatisticamente significativa do polimorfismo no gene da IL-13 apenas para a presença de susceptibilidade para asma, hiperresponsividade brônquica, mas, não para os níveis séricos de IgE em holandeses adultos.

A IL-10 é uma citocina anti-inflamatória que tem sido detectada, em baixa concentração, em células de pacientes asmáticos. O gene da IL-10 está localizado no cromossomo 1q31 e a região que pode estar relacionada com o fenótipo de asma ou função pulmonar, tem sido pouco estudada<sup>49-51</sup>. Estudos com células do lavado bronco-alveolar demonstram que existe uma menor expressão do mRNA e diminuição nos níveis de IL-10 em pacientes asmáticos, comparado com indivíduos saudáveis<sup>40</sup>, demonstrando a importância de estudos sobre os possíveis polimorfismos no gene da IL-10 e sua relação com a indução da asma ou da gravidade da doença.

A estratégia de revisão utilizada no presente trabalho forneceu a seleção de dois artigos que abordaram o polimorfismo no gene da IL-10. Os resultados são convergentes, em relação ao fenótipo de asma, uma vez que, nenhum deles verificou associação estatisticamente significativa. Contudo, apenas um artigo encontrou relação positiva com as variáveis fenótipo de gravidade e atopia<sup>38</sup>. Nesse contexto, outros estudos que analisaram a importância das variações no gene da IL-10, observaram que o polimorfismo -1082 (G/A) e -819 (T/C) está relacionado a diferentes níveis de IL-10<sup>51</sup>. Além disso, Hobbs et al.<sup>52</sup> verificaram que o polimorfismo -571 está associado com elevadas concentrações de IgE, podendo ter importância funcional na resposta inflamatória e na produção de moléculas relacionadas a fenômenos alérgicos. Contudo, para a presente revisão sistemática é difícil inferir conclusões devido aos poucos estudos selecionados.

Em relação aos genes da IL-5 foram selecionados dois artigos<sup>53,54</sup> que analisaram o polimorfismo -746 C/T, porém, não foi observada associação com a presença de asma em nenhum deles. Contudo, a associação para o fenótipo de gravidade da doença e/ou atopia foi observado em um trabalho<sup>54</sup>. Neste contexto, Yamamoto et al.<sup>55</sup> verificam que o polimorfismo -703C/T no gene da IL-5 estava associado com eosinofilia em pacientes japoneses com dermatite atópica.

A IL-5 é uma das citocinas chave para a indução e ativação dos eosinófilos que são células que estão diretamente relacionadas com a inflamação verificada na asma, através da liberação dos conteúdos proteicos dos seus grânulos<sup>56,57</sup>. Sendo assim, é possível inferir que os polimorfismos na IL-5 poderiam influenciar na indução da asma ou na sua gravidade, uma vez que, o gene da IL-5 está localizado no cromossomo 5q31 e alguns estudos têm verificado associação entre polimorfismos nos genes deste cromossomo com a asma<sup>58</sup> e eosinofilia<sup>59</sup>. No entanto, ainda não estão disponíveis estudos, nos bancos de dados pesquisados e que obedeçam aos critérios de inclusão e exclusão definidos para esta revisão sistemática que possam concluir esta relação.

Assim, o estudo do polimorfismo dos genes candidatos tem sido uma abordagem muito utilizada na identificação de susceptibilidade à asma. Na presente revisão sistemática foram incluídos apenas artigos que verificassem associação, uma vez que, esse tipo de estudo analisa se uma variante genética específica é mais comum entre os asmáticos ou não-asmáticos e as vantagens desse tipo de estudo incluem a capacidade de detectar genes de susceptibilidade e sua aplicabilidade em populações gerais<sup>23</sup>. Outro critério importante é a escolha do grupo controle, já que em estudos de associação devem ser recrutados de populações que compartilham semelhanças étnicas ou geográficas com os indivíduos afetados<sup>23</sup>. Todos os artigos selecionados obedeceram a esse critério, demonstrando rigor científico e favorecendo os achados encontrados. No entanto, em relação à idade dos grupos controle, 26% (4/15) dos artigos selecionados apresentaram essa população com idades diferentes dos pacientes, o que pode influenciar nos resultados, já que, por se tratar de indivíduos adultos, seus hábitos poderiam levar à inclusão de fatores de confundimento.

A inclusão de artigos independente dos alelos polimórficos e da região do gene analisada traduz uma análise geral e demonstram a existência de relações entre a presença de variantes genéticas, nos genes de citocinas Th2, e o desenvolvimento de alergias, trazendo à tona a necessidade de novos estudos que destaquem os alelos e loci específicos. Estes resultados podem despertar maiores interesses de pediatras sobre os mecanismos genéticos da asma infantil, além de estimular pesquisas para melhorias no diagnóstico, formulação de marcadores genéticos de susceptibilidade de asma infantil e na farmacogenética.

## Referências

- Lugogo NL, Kraft M. Epidemiology of asthma. *Clin Chest Med* 2006;27(1):1-15.
- Zöllner IK, Weiland SK, Piechotowski I, Gabrio T, von Mutius E, Link B, et al. No increase in the prevalence of asthma, allergies, and atopic sensitization among children in Germany: 1992–2001. *Thorax* 2005;60(7):545-8.
- Fallon PG, Mangan NE. Suppression of TH2-type allergic reactions by helminth infection. *Nature* 2007;7(3):220-30.
- Asher MI, Montefort S, Björkstén B, Lai CK, Strachan DP, Weiland SK, et al. Worldwide time trends in the prevalence of symptoms of asthma, allergic rhinoconjunctivitis, and eczema in childhood: ISAAC phases one and three repeat multicountry cross-sectional surveys. *Lancet* 2006;368(9537):733-43.
- Hopkin J. Mechanisms of asthma. *Medicine* 2003;31(12):41-4.
- Sole D, Wandalsen GF, Camelo-Nunes IC, Naspitz C. K. Prevalência de sintomas de asma, rinite e eczema atópico entre crianças e adolescentes brasileiros identificados pelo International Study of Asthma and Allergies (ISAAC) Fase 3. *J Pediatr (Rio J)* 2006;82(5):341-6.
- Paton JY. Severe asthma in children. *Paed Child Health* 2007;17(5):180-7.
- Abbas AK, Litchman AH. Hipersensibilidade Imediata. In: Abbas AK, Litchman AH. *Imunologia Celular e Molecular*. 5ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier;2005. p. 446-65.
- Barnes PJ. Immunology of asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *Nature Rev Immunol* 2008;8(3):183-92.
- Larche M, Robinson DS, Kay AB. The role of T lymphocytes in the pathogenesis of asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2003;111(3):450-63.
- Corrigan C. Mechanisms of asthma. *Medicine* 2008;36(4):177-80.
- Rosenberg HF, Phipps S, Foster PS. Eosinophil trafficking in allergy and asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2007;119(6):1303-10.
- Ling EM, Smith T, Nguyen XD, Pridgeon C, Dallman M, Arbery J, et al. Relation of CD4+CD25+ regulatory T-cell suppression of allergen-driven T-cell activation to atopic status and expression of allergic disease. *Lancet* 2004;363(9409):608-15.
- Hansen G, McIntire JJ, Yeung VP, Berry G, Thorbecke GJ, Chen L, et al. CD4R Th cells engineered to produce latent TGF- $\beta$ 1 reverse allergen-induced airway hyperreactivity and inflammation. *J Clin Invest* 2000;105(1):61-70.
- Oh JW, Seroogy CM, Meyer EH, Akbari O, Berry G, Fathman CG, et al. CD4 T helper cells engineered to produce IL-10 reverse allergen-induced airway hyperreactivity and inflammation. *J Allergy Clin Immunol* 2002;110(3):460-8.
- Till SJ, Francis JN, Nouri-Aria K. Mechanisms of immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 2004;113(6):1025-34.
- de Faria IC, de Faria EJ, Toro AA, Ribeiro JD, Bertuzzo CS. Association of TGF- $\beta$ 1, CD14, IL-4, IL-4R and ADAM33 gene polymorphisms with asthma severity in children and adolescents. *J Pediatr (Rio J)* 2008;84(3):203-10.
- Kabesch M. Candidate genes and the genetic epidemiology of asthma. *Paed Resp Rev* 2004;5(A):23-5.
- Iarmarcovai G, Bonassi S, Botta A, Baan RA, Orsière T. Genetic polymorphisms and micronucleus formation: A review of the literature. *Mutat Res* 2008; 658(3):215-33.
- Smith K. Genetic Polymorphism and SNPs. In: *Genotyping, Haplotype Assembly Problem, Haplotype Map, Functional Genomics and Proteomics*. p.1-13. 2002.
- Wild C. Polymorphism-screening: genetic testing for predisposition—guidance for technology assessment. *Poiesis & Praxis: Int J Ethics Sci Tech Assess* 2008;5(1):1-14.
- Arima K, Sato K, Tanaka G, Kanaji S, Terada T, Honjo E, et al. Characterization of the interaction between interleukin-13 and interleukin-13 receptors. *J Biol Chem* 2005;280:24915-22.
- Pinto LA, Stein R, Kabesch M. O impacto da genética na asma infantil. *J Pediatr (Rio J)* 2008;84(4):68-75.
- Videira PA, Borrego, LM, Trindade H. Os fatores genéticos da asma. *Rev Port Pneumol* 2006;7(6):683-708.
- Centro Cochrane do Brasil, Laboratório de Ensino a Distância. Escola Paulista de Medicina. Universidade Federal de São Paulo. Curso de revisão sistemática e metanálise. Disponível em: <http://www.virtual.epm.br/cursos/metanalise/>.
- GINA- Global Initiative for Asthma. Disponível em: [www.ginasthma.org](http://www.ginasthma.org).
- Kabesch M, Schedel M, Carr D, Woitsch B, Fritzschn 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(2):269-74.
- Schubert K, von Bonnsdorf H, Burke M, Ahlert I, Braun S, Berner R, et al. A comprehensive candidate gene study on bronchial asthma and juvenile idiopathic arthritis. *Dis Markers* 2006;22(3):127-32.
- Lee SG, Kim BS, Kim JH, Lee SY, Choi SO, Shim JY, et al. Gene-gene interaction between interleukin-4 and interleukin-4 receptor  $\alpha$  in Korean children with asthma. *Clin Exp Allergy* 2004;34(8):1202-08.
- Sandford AJ, Chan HW, Wong GW, Lai CK, Chan-Yeung M. Candidate genetic polymorphisms for asthma in Chinese schoolchildren from Hong Kong. *Int J Tuberc Lung Dis* 2004;8(5):519-27.
- Kabesch M, Tzotcheva I, Carr D, Höfler C, Weiland SK, Fritzschn 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(5):893-98.

32. Chouchane L, Sfar I, Bousaffara R, El Kamel A, Sfar MT, Ismail A, et al. A repeat polymorphism in interleukin-4 gene is highly associated with specific clinical phenotypes of asthma. *Int Arch Allergy Immunol* 1999;120(1):50-5.
33. Beghé B, Barton S, Rorke S, Peng Q, Sayers I, Gaunt T, et al. Polymorphisms in the interleukin-4 and interleukin-4 receptor a chain genes confer susceptibility to asthma and atopy in a Caucasian population. *Clin Exp Allergy* 2003;33(8):1111-7.
34. Hunninghake GM, Soto-Quirós ME, Avila L, Su J, Murphy A, Demeo DL, et al. Polymorphisms in IL13, total IgE, eosinophilia, and asthma exacerbations in childhood. *J Allergy Clin Immunol* 2007;120(1):85-90.
35. Kim HB, Lee YC, Lee SY, Jung J, Jin HS, Kim JH, et al. Gene-gene interaction between IL-13 and IL-13R $\alpha$ 1 is associated with total IgE in Korean children with atopic asthma. *J Hum Genet* 2005;51(12):1055-62.
36. Heinzmann A, Jerkic SP, Ganter K, Kurz T, Blattmann S, Schuchmann L, et al. Association study of the IL13 variant Arg110Gln in atopic diseases and juvenile idiopathic arthritis. *J Allergy Clin Immunol* 2003;112(4):735-9.
37. Leung TF, Tang NL, Chan IH, Li AM, Ha G, Lam CW. Polymorphism in the coding region of interleukin-13 gene is associated with atopy but not asthma in Chinese children. *Clin Exp Allergy* 2001;31(10):1515-21.
38. Lyon H, Lange C, Lake S, Silverman EK, Randolph AG, Kwiatkowski D, et al. IL10 gene polymorphisms are associated with asthma phenotypes in children. *Gen Epidemiol* 2004;26(2):155-65.
39. Galant SP, Morphew T, Amaro S, Liao O. Current asthma guidelines may not identify young children who have experienced significant morbidity. *Pediatrics* 2006;117(4):1038-45.
40. Larsen GL. Differences between adult and childhood asthma. *Dis Mon* 2001;47(1):153-7.
41. Rosenwasser LJ, Borish L. Genetics of atopy and asthma: the rationale behind promoter-based candidate gene studies (IL-4 and IL-10). *Am J Respir Crit Care Med* 1997;156(4):152-5.
42. Hijazi Z, Haider MZ. Interleukin-4 gene promoter polymorphism (C590T) and asthma in Kuwaiti Arabs. *Int Arch Allergy Immunol* 2000;122(3):190-4.
43. Li Y, Guo B, Zhang L, Han J, Wu B, Xiong H. Association between C-589T polymorphisms of interleukin-4 gene promoter and asthma: A meta-analysis. *Respir Med* 2008;102:984-92.
44. van der Pouw-Kraan TC, van Veen A, Boeijs LC, van Tuyl SA, de Groot ER, Stapel SO, et al. An IL-13 promoter polymorphism associated with increased risk of allergic asthma. *Genes Immun* 1999;1(1):61-5.
45. Hoffjan S, Ober C. Present status on the genetic studies of asthma. *Curr Opin Immunol* 2002;14(6):709-17.
46. Graves PE, Kabesch M, Halonen M, Holberg CJ, Baldini M, Fritzsche C, et al. A cluster of seven tightly linked polymorphisms in the IL-13 gene is associated with total serum IgE levels in three populations of white children. *J Allergy Clin Immunol* 2000;105(3):506-13.
47. Liu X, Nickel R, Beyer K, Wahn U, Ehrlich E, Freidhoff LR, et al. An IL13 coding region variant is associated with a high total serum IgE level and atopic dermatitis in the German multicenter atopy study (MAS- 90). *J Allergy Clin Immunol* 2000;106(1):167-70.
48. 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(3):377-84.
49. John M, Lim S, Seybold J, Jose P, Robichaud A, O'Connor B, et al. Inhaled corticosteroids increase interleukin-10 but reduce macrophage inflammatory protein-1 $\alpha$ , granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, and interferon-gamma release from alveolar macrophages in asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1998;157(1):256-62.
50. Palmer LJ, Celedón JC, Chapman HA, Speizer FE, Weiss ST, Silverman EK. Genome-wide linkage analysis of bronchodilator responsiveness and post-bronchodilator spirometric phenotypes in chronic obstructive pulmonary disease. *Hum Mol Genet* 2003;12(10):1199-210.
51. Turner DM, Willians DM, Sankaran D, Lazarus M, Sinnott PJ, Huntchinson IV. An investigation of polymorphism in the interleukin 10 gene promoter. *Eur J Immunogenet* 1997;24:1-9.
52. Hobbs K, Negri J, Klinnert M, Rosenwasser LJ, Borish L. Interleukin-10 and transforming growth factor  $\beta$  1 promoter polymorphism in allergies and asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1998;158:1958-62.
53. Hong SJ, Lee SY, Kim HB, Kim BS, et al. IL-5 and thromboxane A2 receptor gene polymorphisms are associated with decreased pulmonary function in Korean children with atopic asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2005;115(4):758-63.
54. Kabesch M, Depner M, Dahmen I, Weiland SK, Vogelberg C, Niggemann B, et al. Polymorphisms in eosinophil pathway genes, asthma and atopy. *Allergy* 2007;62(4):423-8.
55. Yamamoto N, Sugiura H, Tanaka K, Uehara M, et al. Heterogeneity of interleukin 5 genetic background in atopic dermatitis patients: significant difference between those with blood eosinophilia and normal eosinophil levels. *J Dermatol Sci* 2003;33(2):121-6.
56. Adamko D, Lacy P, Moqbel R. Eosinophil function in allergic inflammation: from bone marrow to tissue response. *Curr Allergy Asthma Rep* 2004;4(2):149-58.
57. Busse WW, Lemanske RFJR. Asthma. *N Engl J Med* 2001;344(5):350-62.
58. Daniels SE, Bhattacharya S, James A. A genome-wide search for asthma genes in an inbred population. *Am J Respir Crit Care Med* 1996;155:257.
59. Rioux JD, Stone VA, Daly MJ, Cargill M, Green T, Nguyen H, et al. Familial eosinophilia maps to the cytokine gene cluster on human chromosomal region 5q31-q33. *Am J Hum Genet* 1998;63(4):1086-94.

Correspondência:  
Valdênia Souza.  
Av. Prof. Arthur de Sá, s/nº - Cidade Universitária  
CEP 50740-520 - Recife, PE  
E-mail: valdenia.souza@gmail.com