



Asma e genes: Conceitos preliminares

Asthma and Genes: Preliminary concepts

Isabel Ruguê Genov¹, Maria Gerbase De-Lima²,
Amador Gonçalves Primo Júnior³, Dirceu Solé⁴

Resumo

O conhecimento do genoma humano, decorrente do grande avanço obtido pela genética clínica tem possibilitado o estudo da identificação dos possíveis genes envolvidos com o fenótipo de várias doenças, sobretudo as alérgicas. Entre elas destaca-se a asma. Neste trabalho são apresentados conceitos básicos sobre genética clínica que nos permitirão compreender de modo mais adequado esta nova área do conhecimento, sobretudo o estudo dos polimorfismos. Os conceitos aqui apresentados foram obtidos por busca ativa em tratados específicos e levantamento nos bancos de dados MEDLINE e EMBASE.

Rev. bras. alerg. imunopatol. 2006; 29(4):156-160 Asma, Genética, Polimorfismo.

Abstract

The knowledge of the human genome, due to the great advance obtained by clinical genetics has been enabling the identification of possible genes involved with the phenotype of several diseases, mainly the allergic one. Among them, it highlights asthma. In this paper we tried to introduce basic concepts about clinical genetics that will allow us to comprehend in a more adequate manner this new area of knowledge. The understanding of polymorphisms is essential. The data introduced were obtained by active search in specific treatises and rising in MEDLINE and BASE databases.

Rev. bras. alerg. imunopatol. 2006; 29(4): 156-160 Asthma, Genetics, Polymorphism

1. Mestre em Ciências Aplicadas à Pediatria, Doutoranda;
 2. Professora Adjunta, Livre Docente e Chefe do Setor de Imunogenética;
 3. Pesquisador do Setor de Imunogenética
 4. Professor Titular e Livre Docente
- Disciplina de Alergia, Imunologia Clínica e Reumatologia, Departamento de Pediatria, Universidade Federal de São Paulo – Escola Paulista de Medicina (UNIFESP-EPM)

Artigo submetido em 25.07.2006, aceito em 26.08.2006.

Epidemiologia e Genes

Um dos marcos históricos do nosso século foi o término do seqüenciamento do genoma humano^{1,2}. Muitos cientistas acreditam que os avanços na genética humana e o seqüenciamento do genoma irão desempenhar papel crucial na medicina e na saúde pública no século XXI por dispor informações para predição e prevenção de doenças^{3,4}. No entanto, apesar da descoberta dos genes gerar excitação e expectativas, a sua contribuição para a prevenção de doenças ainda não está clara. A aplicação de descobertas genéticas em ações significativas para melhora da saúde depende da informação científica de múltiplas disciplinas médicas e de saúde pública. Assim, uma nova visão da epidemiologia desempenha papel fundamental neste esforço⁵.

As descobertas do genoma humano ampliaram o potencial de aplicações para a melhora da saúde e a prevenção de doenças, de forma que mesmo no campo da genética já surgem conceitos de prevenção primária, secundária e terciária, conforme descritos por Khoury et al⁵.

Na prevenção primária, o melhor entendimento dos efeitos genéticos e das interações gene-ambiente nos processos de doença irá permitir o desenvolvimento de melhores intervenções, como evitar a exposição a certos agentes, identificando os subgrupos populacionais que são candidatas a intervenções.

Já na prevenção secundária, estaremos aptos ao desenvolvimento de novos métodos (ou melhoria dos já existentes) de rastreamento para identificação precoce de doenças baseado na estratificação por genótipo e/ou história familiar.

Por fim, na prevenção terciária contaremos com avanços na genética humana de forma a contribuir para o desenvolvimento de melhores drogas e para monitorizar o uso consciente de medicamentos, maximizando os benefícios e minimizando os efeitos deletérios.

Apesar dessas visões, muitos autores expressam franco ceticismo no que diz respeito ao valor das descobertas do genoma humano na prevenção de doenças e cuidados com a saúde⁶⁻¹⁰.

Uma das preocupações envolve a pequena magnitude de risco observada em doenças comuns associada a grande parte das variantes genéticas descritas até o momento, a ausência de intervenções específicas para diferentes genótipos e o dano potencial causado pela determinação genética tanto no nível pessoal como social.

Mesmo assim, Collins e McKusick¹¹ previram para 2010 a disponibilidade de testes genéticos preditivos para pelo menos uma dezena de doenças comuns, levando aqueles que desejam saber esta informação a aprenderem quais seriam suas suscetibilidades individuais e assim tomarem medidas que contribuiriam com a redução do risco, para o qual igualmente estima-se que haverá intervenções efetivas disponíveis.

Para melhor determinar os passos futuros a serem adotados, resta estabelecer como partir do seqüenciamento do genoma humano e chegar ao uso deste conhecimento de forma coerente e que venha melhorar a prática médica e prevenir doenças.

As aplicações de estudos epidemiológicos ao genoma humano incluem: (1) descoberta do gene (epidemiologia

genética) com estudos de análise de ligação e de associação baseados em família; (2) caracterização de população sob risco (epidemiologia molecular), baseada em estudos de população para caracterizar a prevalência de um gene, associação gene-doença e interações gene-gene e gene-ambiente; (3) avaliação da informação genética para diagnóstico e prevenção (incluindo testes genéticos e informações de história familiar) bem como terapia gênica (epidemiologia aplicada)⁵.

A força da epidemiologia molecular pode ser verificada com a publicação recente de número cada vez maior de estudos de associação gene-doença, comparável talvez apenas ao número crescente de publicações no campo da estatística e epidemiologia¹². É de fundamental importância a real caracterização da interferência gene-doença, já que, para a maioria dos estudos publicados, uma das maiores dificuldades encontradas é a replicação de achados nas diferentes populações.

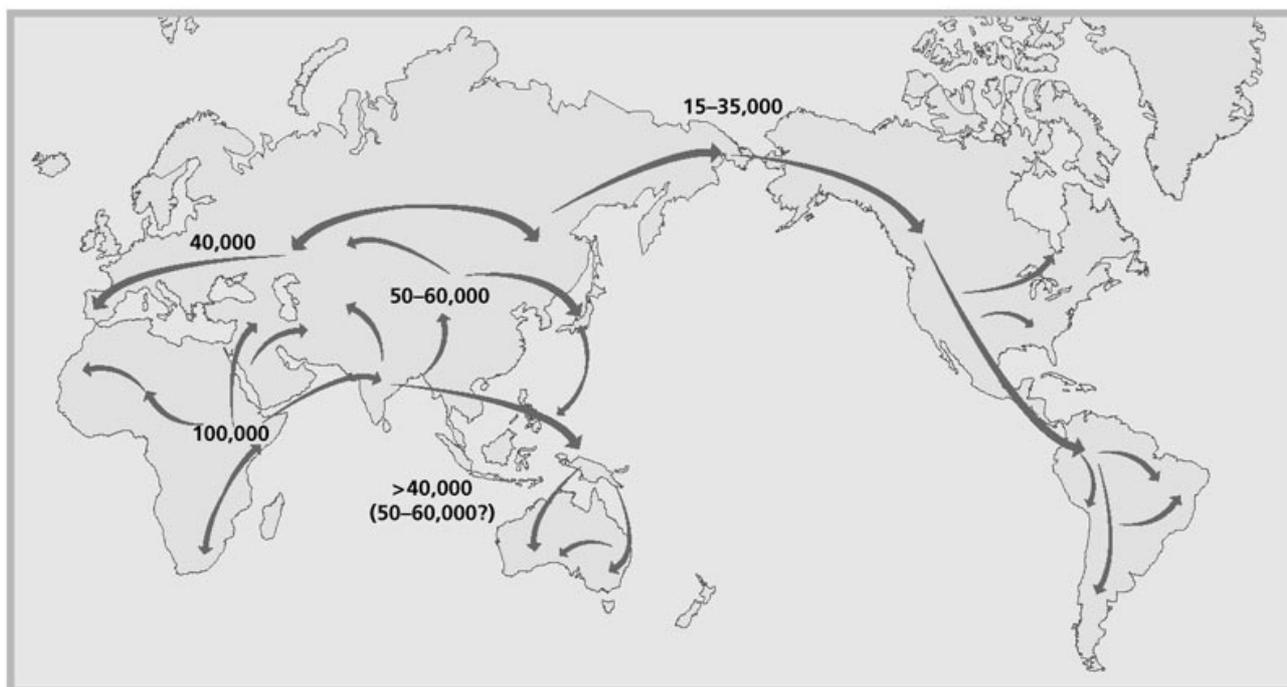
Por essa razão, no corrente modelo da epidemiologia

genética observamos muitos polimorfismos associados ao estado de doença, cada um com modesto, porém significativo risco relativo. Efeitos tão pequenos requerem grande tamanho de amostras para sua detecção. A metanálise destes estudos de associação consiste atualmente numa solução potencial na medida em que ocorre a reunião de estudos de um mesmo gene e desfecho, possibilitando o aumento do número de indivíduos sob estudo. Para doenças de modelo complexo, a utilização da revisão sistemática e metanálise pode ser um dos passos rumo ao esclarecimento da participação de genes-doença¹³.

Diversidade de populações e distribuição gênica

O *Homo sapiens* apareceu inicialmente na África por volta de duzentos mil a cem mil anos atrás. Neste período, iniciou sua migração pela Europa e Ásia, substituindo os grupos arcaicos de humanos existentes e sua diferenciação racial data cerca de cem mil anos atrás¹⁴ (Figura 1).

Figura 1 - A migração do moderno *Homo sapiens*. O esquema abaixo descreve a expansão do leste africano para o restante deste continente há cerca de cem mil anos, seguido de nova expansão com início na mesma área para a Ásia, provavelmente por duas rotas, ao sul e ao norte, entre sessenta e quarenta mil anos. A Oceania, Europa e Américas foram povoadas a partir da Ásia nesta ordem⁴⁵.



Evidências históricas de expansões recentes (de sessenta a três mil anos atrás) pela Europa, Ásia, Américas e Pacífico apontam para uma maior variação das freqüências de alelos nas populações antigas que habitavam a região africana em comparação com as populações mais jovens que habitam continentes não-africanos¹⁵.

Atualmente, sabemos que as diferenças existentes entre as populações no mundo são pouco maiores do que 0,1%, com diferenças que podem chegar a 0,05% em estudos de populações de um mesmo continente até 0,15% em estudos de populações de continentes diferentes. Considerando todo o genoma, a população mundial se iguala em média em 99,9% de seu conteúdo, restando dos três bilhões de pares de base que o compõe cerca de vinte milhões de *Single Nucleotide Polymorphisms* (SNPs)¹⁶, cerca de um SNP a cada quinhentos até mil nucleotídeos¹⁵.

Um dos grandes desafios após a finalização do seqüenciamento do genoma humano é a identificação e caracterização da diversidade genética tanto individualmente como em uma população¹⁵. Por isso, a alta freqüência de ocorrência e distribuição abundante de SNPs ao longo do genoma torna-os potencialmente úteis como marcadores nos estudos de mapeamento de genes, particularmente na identificação de genes envolvidos em doenças complexas como hipertensão e diabetes^{17,18}. Por outro lado, a utilidade dos SNPs como marcadores em estudos de mapeamento é diretamente dependente do conhecimento acumulado sobre a sua freqüência e distribuição ao longo de populações etnicamente diferentes, de forma que diferentes SNPs são utilizados como marcadores por populações etnicamente distintas e com histórias demográficas distintas¹⁷.

Em contraposição à hipótese de Doença Frequente – Variante Frequente, que estabelece que doenças genéticas comuns sejam condicionadas por alelos comuns em uns poucos loci e que se encontram em alta prevalência em populações etnicamente diversas (mostrando que estes alelos provavelmente estavam presentes anteriormente à diversificação da população ancestral ao redor do mundo), os estudos de simulação atuais apontam que nas doenças complexas existiria a influência de alelos raros em muitos loci, e se estes alelos de predisposição à doença são geograficamente restringidos a uma população devido à mutação, flutuação ou pressão de seleção, a caracterização de diversidade de SNPs, estrutura de haplótipos e desequilíbrio de ligação por toda uma série de populações etnicamente diversas é particularmente importante para identificar os alelos de predisposição à doença, que podem diferir nos diferentes grupos étnicos¹⁹.

A princípio, o estudo de associação gene-doença era feito com intuito de avaliar o efeito de um único SNP em uma doença. Com a identificação de um número maior de SNPs em outras áreas de um mesmo gene, hoje é frequente o estudo de haplótipos, seqüências de DNA de um gene que incluem mais de um SNP, e sua relação com a doença, buscando avaliar a prevalência do conjunto de SNPs e o maior risco de desenvolvimento da doença²⁰.

O estudo da variação genética de populações com base no DNA constitui um dos principais desafios na era pós-genômica. Mais recentemente, não se tem dispensado esforços apenas para a caracterização de SNPs mas também de outros polimorfismos de inserção e deleção (CNPs = Copy-number polymorphisms) para melhor composição do panorama de diversidade do genoma²⁰.

Barnes²¹ lembra que para melhor compreender o impacto real da diversidade genética na frequência de um fenótipo é necessário compreender como se processa a herança dos genes.

Cada descendente recebe de seus pais uma cópia de metade de seu material genético. No processo de meiose, os cromossomos se recombinam de uma forma onde grandes segmentos do DNA seguem juntos^{22,23}. Os segmentos de DNA que se localizam na transição destes grandes blocos herdados em conjunto, denominados de "hot spots", são áreas suscetíveis à recombinação intensa, conseqüentemente colaborando para a diversidade do genoma²³. Conseqüentemente, longos segmentos de um gene permanecerão imutáveis ao longo das gerações enquanto pequenas porções dele sofrerão recombinação, dando origem a novos alelos.

A estrutura de um gene é composta por vários segmentos distintos: inicia-se com um promotor (local de ligação do complexo de transcrição) que é precedido por vários elementos regulatórios (seqüências regulatórias), e seguido por números variáveis de íntrons (seqüências não-codificadoras) e éxons (seqüências codificadoras)²⁴.

A troca de uma base purínica ou pirimídica na seqüência original do DNA de um gene pode ser observada em cada uma destas posições (promotor, íntron, éxon, seqüências regulatórias), mas o SNP que geralmente chama a atenção é o que se localiza na região promotora, por interferir na transcrição do gene; ou na região do éxon, por ter chance de alterar o códon do mRNA e conseqüentemente, um aminoácido na seqüência final da proteína²⁴.

Quando observamos a frequência destas trocas na população, dizemos que o alelo mais prevalente é o alelo selvagem ou comum, enquanto o de menor prevalência, mas com frequência superior a 1%, é o alelo variante.

Ao considerarmos apenas a presença de dois alelos (comum e variante) para um dado locus gênico, algumas considerações são importantes no que se refere à frequência de distribuição destes alelos e seus genótipos através de uma população.

Em 1902, Castle²⁵ observou que havendo a interrupção da remoção seletiva de indivíduos que apresentavam algum fenótipo recessivo da população geral, então, na geração futura imediata seria possível estabelecer um valor de equilíbrio para os alelos recessivos. As suas conclusões assumiam que um alelo era dominante em relação a outro(s), que os alelos não interfeririam na fertilidade, que não haveria emigração ou imigração desta população e que a mesma seria grande o suficiente, permitindo cruzamentos ao acaso e não seletivos²⁵.

Não demorou muito e, cinco anos após, Godfrey Hardy e Wilhelm Weinberg publicaram suas observações de forma independente: era possível calcular, partindo-se das frequências alélicas de uma população, suas proporções genotípicas esperadas. Embora nunca tivessem se encontrado em vida, as elegantes observações destes dois estudiosos permanecem até os dias de hoje associadas nos anais da genética como o Equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW)^{26,27}.

Segundo o modelo proposto, se p é a frequência do alelo **A** e q a frequência do alelo **a** de um dado locus bialélico, a frequência esperada no equilíbrio para os genótipos AA, Aa e aa será p^2 , $2pq$ e q^2 , respectivamente, devendo a soma destas ser igual a um, assim como a soma das frequências alélicas^{26,27}.

Genes e asma

A relação entre asma e genes não é mais um assunto recente, visto que em 1977 já surgia na literatura indicações em estudos caso-controle de aumento da frequência de *HLA-B8* nos grupos de asma extrínseca e diminuição de frequência de *HLA-B12* nos grupos de asma intrínseca²⁸.

No entanto, há cerca de uma década nos encontramos frente a resultados advindos da aplicação de ferramentas da biologia molecular no sentido de proporcionar um entendimento mais amplo dos fatores causais da asma^{29,30}. Particularmente a asma é conhecida por sua alta prevalência, chegando atualmente a afetar 20% em média da população brasileira³¹, nos últimos anos com incidência gradualmente maior nos países ocidentais³².

Nos últimos dez anos, cerca de 80 genes foram descobertos como associados ao quadro de asma e doenças atópicas³³, o que mudou o rumo da pesquisa científica sobre a etiologia da asma.

Na busca de um modelo que pudesse explicar a asma como doença genética, chegou-se à conclusão de que ela faz parte de um grupo de doenças complexas, em que a sua incidência dentro de uma família é maior do que a esperada se comparada a um padrão simples de herança mendeliana (ex.: autossômica dominante, autossômica recessiva, ligada ao X) e que teria na sua apresentação o envolvimento da expressão de mais de um gene, bem como interferências de fatores ambientais, como responsáveis pelo seu fenótipo final³⁴.

Se considerarmos apenas do ponto de vista genético, a asma é uma doença de apresentação heterogênea, onde a suscetibilidade é conferida por mais de um gene. Por outro lado, a suscetibilidade em diferentes famílias pode se dever a combinações de genes diferentes³⁵. Com isso, sendo os diferentes genótipos da asma indistinguíveis do ponto de vista do fenótipo, podem ser reunidas para análise de famílias com diferentes bases moleculares implicadas na doença, potencialmente escondendo o efeito final de alguns genes.

A suscetibilidade à asma não é condicionada apenas pela presença de certo genótipo. Desta forma, Ober³⁵ afirma que a penetrância do genótipo que confere suscetibilidade é inferior a 100% e que membros não-afetados de famílias podem de fato ter o polimorfismo do gene conferindo suscetibilidade no locus da doença. Comumente, muitos estudos adotam modelo em que apenas os mem-

bro afetados das famílias são incluídos, ignorando todos os "não-afetados". Mas, embora seja comum apenas o estudo de pares de irmãos afetados, todos os membros afetados de uma família podem ser estudados.

A definição de fenótipo em todos os membros de uma família é freqüentemente tarefa difícil, pois deve ser considerada também sua expressão variável. Portanto, indivíduos com a mesma suscetibilidade genética podem apresentar fenótipos diferentes da doença, incluindo diferentes idades de início de sintomas, diferentes gravidades e a presença de outros fenótipos associados³⁵. Com isso, em uma mesma família podem coexistir indivíduos com asma muito grave, outros com asma leve, e outros podem apenas ser atópicos.

Ainda não se sabe ao certo como o ambiente interage com os genes nesta determinação, talvez porque agora estejamos tendo a chance de ver que a asma é uma doença com mais apresentações fenotípicas do que se pensava no início.

Ober³⁶ analisou a interação de genótipos individuais e a exposição ambiental como um primeiro passo no desenvolvimento de modelos mais complexos de suscetibilidade à doença. Esses modelos consideram a possibilidade de que genótipos específicos possam resultar em um fenótipo apenas em certos ambientes ou que um genótipo específico possa resultar em fenótipos diferentes, dependendo da exposição ambiental.

Martinez³⁷ comenta que na dependência do gene sob estudo podemos observar níveis diferentes de relação deste com o ambiente. É possível na apresentação final do fenótipo da asma desde nenhuma inter-relação gene-ambiente, onde podemos ter apenas a expressão do valor do fenótipo em função do genótipo, até interações gene-ambiente em que cada genótipo condicionaria um fenótipo diferente a depender do grau de exposição ambiental. Ainda é possível a mudança do fenótipo apresentado por genótipos distintos quando existe mudança neste grau de exposição ambiental, ou seja: a observação de um mesmo fenótipo por dois tipos distintos de genótipo a depender da exposição ambiental.

O conceito da mudança de um fator genético de protetor para de predisposição à doença a depender da exposição do ambiente nos leva a crer que estudos também em desenvolvimento na área da epigenética sejam de fundamental importância.

A epigenética (*epi* = em adição a) estuda como informações da regulação de genes que não estão expressas na seqüência de DNA são transmitidas de uma geração à outra. Seus mecanismos incluem desde a metilação de DNA, até diferenças na estrutura de cromatina envolvendo modificações de histonas. No contexto das doenças humanas, a epigenética tem sido avaliada como um meio pelo qual a metilação de DNA silencia alelos que são herdados de um dos pais (efeito da origem de herança). Assim, variações que ocorrem nos padrões de metilação que são regulados com o desenvolvimento do indivíduo podem tomar parte em doenças comuns, como a asma. Nesta, mecanismos epigenéticos poderiam participar *intra-utero* ou em exposições ambientais no começo da vida, criando um perfil da resposta imunológica e montando ao longo da vida o padrão de suscetibilidade à asma e alergia em determinado indivíduo³⁴.

Na busca por genes candidatos, o raciocínio mais lógico a princípio adotado foi o de relacionar a função desempenhada por um gene e a participação de seu produto na doença. Assim, genes funcionais de citocinas, quimiocinas, enzimas, cadeias de receptores de citocinas e de drogas, presentes na superfície de células ou solúveis no plasma, antígenos de superfície de leucócitos, todos relacionados de alguma forma à inflamação pulmonar e à hiperresponsividade brônquica se tornaram alvos ideais de estudo na

asma. Isto tem justificado o conjunto de dados obtidos no passado pela quantificação *in vitro* ou *in vivo* de mediadores inflamatórios na asma. Genes como *ADAM33*, *SPINK6*, *IL-13*, *ADRB2*, *TLR2*, *CD14*, *TIM1*, *HLA-G*, *TLR4* e *TNF* compõem pequena sublista dos vários genes que se encontram como alvo de vários pesquisadores³⁴.

Logo, a asma como doença crônica inflamatória geralmente é um ponto de partida, em que a visão da participação conjunta de células (como eosinófilos, mastócitos, fibroblastos, macrófagos/monócitos e neutrófilos), interleucina (IL) 4, IL-5, IL-8, IL-6, IL-9, IL-10, TGF- β , INF- γ , TNF- α , moléculas de adesão (ICAM-1, VCAM-1, CD18, CD11) e outros elementos da inflamação fornecem a base de genes que podem vir a ser estudados.

Com um leque tão amplo de opções de genes sob estudo, uma das maiores conquistas advindas com o desenvolvimento de métodos de biologia molecular foi o estudo de vários genes ao mesmo tempo em uma mesma amostra, sendo com isso possível determinar perfis de genes mais expressos em uma doença.

Nas doenças complexas, a investigação de suscetibilidade deixa de se fixar apenas em um gene para procurar em grupos de genes os perfis que seriam determinantes de maior risco ao desfecho sob estudo.

Em algumas doenças, este tipo de estudo já é realidade. Recentemente, Morgun et al³⁸ avaliaram a expressão gênica pela amplificação de mRNA de amostras de tecido cardíaco de pacientes com doença de Chagas, pacientes transplantados cardíacos que sofreram rejeição e um terceiro grupo de transplantados sem rejeição, e conseguiram definir um perfil de genes mais envolvidos em cada um dos desfechos empregando-se *microarray*.

Já na asma, Zimmermann et al³⁹ conduziram estudo em modelo murino para identificar quais genes estariam envolvidos na patogênese da doença. Após a exposição a vários tipos de alérgenos e estudo de expressão de 12.422 genes, verificaram que 291 estariam envolvidos na sua patogênese. Com isso, puderam ainda identificar que os genes envolvidos no metabolismo da arginina, conhecida como a via da arginase, se encontravam mais expressos nos animais afetados quando comparados aos não-afetados.

Em humanos, Brutsche et al⁴⁰ baseados no estudo de expressão de 609 genes em grupos de indivíduos controles, com asma atópica e com asma não-atópica, criaram escore baseado na expressão de 10 genes que se encontravam desregulados em indivíduos atópicos e mostraram que este padrão de medida era mais efetivo do que a quantificação de IgE sérica total para diferenciar indivíduos atópicos de não-atópicos, e ainda foi possível correlacionar a pontuação deste escore com os níveis de IgE sérica total e a gravidade da asma.

Estudo de *microarray* em modelo com primatas⁴¹ tornou possível selecionar entre 40.000 genes apenas 149 que estariam ativados quatro horas após desencadeamento com antígeno de *Ascaris suum* (broncoconstricção) ou IL-4 (resposta alérgica). Mais do que isso, outros genes mostraram expressão diferenciada após 24h da inalação de IL-4, mas não pelo desencadeamento com antígeno, o que evidencia que o ambiente é também determinante quanto ao tipo de resposta a ser estabelecida pelo organismo.

Com a publicação de vários estudos que abordavam a associação gene-asma, foi possível observar dentro deste campo de estudo o crescimento de publicações de revisões sistemáticas e metanálises, uma abordagem quantitativa que também enxerga a contribuição dos polimorfismos na suscetibilidade à doença pela reunião de vários estudos.

No que diz respeito ao polimorfismo do receptor beta-2 e suscetibilidade à asma, pelo menos três revisões sistemáticas foram publicadas, cada uma com desfecho ou modelo de análise distinto. Sabe-se que no estudo de Contopoulos-Ioannidis et al⁴² o alelo variante Gly/Gly16 do re-

ceptor beta-2 conferiu maior risco de asma noturna. Entretanto, Thakkinstian et al⁴³ ao avaliarem separadamente populações de adultos e crianças com asma verificaram que o mesmo alelo variante desempenhava papel protetor à doença na infância. Por outro lado, Migita et al⁴⁴ ao utilizarem modelo de estudo de cossegregação (inclusão de 137 famílias japonesas) e TDT (teste de desequilíbrio de transmissão) verificaram não haver associações entre asma e este polimorfismo.

Referências

- Venter JC, Adams MD, Myers EW, Li PW, Mural RJ, Sutton GG, et al. The sequence of the human genome. *Science* 2001;291:1304-51.
- Lander ES, Linton LM, Birren B, Nusbaum C, Zody MC, Baldwin J, et al. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature* 2001; 409:860-921.
- Collins FS, Guttmacher AE. Genetics moves into the medical mainstream. *JAMA* 2001; 286: 2322-2324.
- Guttmacher AE, Collins FS. Genomic medicine--a primer. *N Engl J Med* 2002;347:1512-20.
- Khoury MJ, Little J, Burke W. Human genome epidemiology: scope and strategies. In: Khoury MJ, Little J, Burke W. *Human Genome Epidemiology: a scientific foundation for using genetic information to improve health and prevent disease*. 1st ed. New York: Oxford University Press;2004, p.3-16.
- Holtzman NA, Marteau TM. Will genetics revolutionize medicine? *N Engl J Med* 2000; 343:141-4.
- Zimmern R, Emery J, Richards T. Putting genetics in perspective. *BMJ* 2001; 322:1005-6.
- Willet WC. Balancing lifestyle and genomics research for disease prevention. *Science* 2002;296:695-698.
- Evans JP, Skrzynia C, Burke W. The complexities of predictive genetic testing. *BMJ* 2001;322:1052-6.
- Vineis P, Schulte P, McMichael AJ. Misconceptions about the use of genetic tests in populations. *Lancet* 2001;357:709-12.
- Collins FS, McKusick VA. Implications of the Human Genome Project for medical science. *JAMA* 2001;285:540-4.
- Munafò MR, Flint J. Meta-analysis of genetic association studies. *Trends Genet* 2004; 20:439-44.
- Thakkinstian A, McElduff P, D'Este C, Duffy D, Attia J. A method for meta-analysis of molecular association studies. *Stat Med* 2005; 24:1291-306.
- Stringer CB, Andrews P. Genetic and fossil evidence for the origin of modern humans. *Science* 1988;239:1263-4. apud Barnes KC. *J Allergy Clin Immunol* 2006;117:243-54.
- Tishkoff SA, Verrelli BC. Patterns of human genetic diversity: implications for human evolutionary history and disease. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 2003a;4:293-340.
- Mountain JL, Risch N. Assessing genetic contributions to phenotypic differences among 'racial' and 'ethnic' groups. *Nat Genet* 2004;36:S48-S53.
- Chakravarti A. Population genetics - making sense out of sequence. *Nat Genet* 1999; 21:56-60.
- Chakravarti A. Single Nucleotide Polymorphisms... to a future of genetic medicine. *Nature* 2001;409:822-23.
- Tishkoff SA, Verrelli BC. Role of evolutionary history on haplotype block structure in the human genome: implications for disease mapping. *Curr Opin Genet Dev* 2003;13:569-75.
- Buckley PG, Mantripragada KK, Piotrowski A, az de ST, Dumanski JP. Copy-number polymorphisms: mining the tip of an iceberg. *Trends Genet* 2005;21:315-7.
- Barnes KC. Genetic epidemiology of health disparities in allergy and clinical immunology. *J Allergy Clin Immunol* 2006; 117: 243-54.
- Bertranpetit J, Calafell F, Comas D, Gonzalez-Neira A, Navarro A. Structure of linkage disequilibrium in humans: genome factors and population stratification. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* 2003; 68:79-88 apud Barnes KC. *J Allergy Clin Immunol* 2006;117:243-54.
- Jeffreys AJ, Holloway JK, Kauppi L, May CA, Neumann R, Slingsby MT, Webb AJ. Meiotic recombination hot spots and human DNA diversity. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2004; 359:141-52.
- Watson JD, Baker TA, Bell SP, Gann A, Levine M, Losick R. *Molecular Biology of the gene*. San Francisco; Benjamin Cummings;2004 - 5th Ed.
- Castle WE. The laws of heredity of Galton and Mendel, and some laws governing race improvement by selection. *Proc Am Acad Arts Sci* 1903;39:223-242.
- Hardy GH. Mendelian proportions in a mixed population. *Science* 1908; 18:49-50. In: Wittke-Thompson JK, Pluzhnikov A, Cox NJ. *Rational Inferences about departures from Hardy-Weinberg Equilibrium*. *Am J Hum Genet* 2005;76:967-986.
- Weinberg W. On the demonstration of heredity in man.1908. In: Wittke-Thompson JK, Pluzhnikov A, Cox NJ. *Rational Inferences about departures from Hardy-Weinberg Equilibrium*. *Am J Hum Genet* 2005;76:967-986.
- Morris MJ, Vaughan H, Lane DJ, Morris PJ. HLA in asthma. *Monogr Allergy* 1977;11:30-34.
- Daniels SE, Bhattacharya S, James A, Leaves NI, Young A, Hill MR, et al. A genome-wide search for quantitative trait loci underlying asthma. *Nature* 1996;383:247-50.
- The Collaborative Study on the Genetics of Asthma (CSGA). A genome-wide search for asthma susceptibility loci in ethnically diverse populations. *Nat Genet* 1997; 15:389-92.
- Solé D, Camelo-Nunes IC, Wandalsen GF, Sarinho E, Sarinho S, Britto M, et al. Ecological correlation among prevalence of asthma symptoms, rhinoconjunctivitis and atopic eczema with notifications of tuberculosis and measles in the Brazilian population. *Pediatr Allergy Immunol* 2005;16:582-6.
- von Hertzen L, Haahtela T. Disconnection of man and the soil: reason for the asthma and atopy epidemic? *J Allergy Clin Immunol* 2006;117:334-44.
- Malerba G, Pignatti PF. A review of asthma genetics: gene expression studies and recent candidates. *J Appl Genet* 2005;46: 93-104.
- Ober C, Thompson EE. Rethinking genetic models of asthma: the role of environmental modifiers. *Curr Opin Immunol* 2005; 17:670-8.
- Ober C. Do genetics play a role in the pathogenesis of asthma? *J Allergy Clin Immunol* 1998; 101: S417-S420.
- Ober C. Perspectives on the past decade of asthma genetics. *J Allergy Clin Immunol* 2005;116:274-8.
- Martinez FD. Gene-environment interactions in asthma and allergies: a new paradigm to understand disease causation. *Immunol Allergy Clin North Am* 2005;25:709-721.
- Morgun A, Shulzhenko N, Perez-Diez A, Diniz RV, Sanson GF, Almeida DR, et al. Molecular profiling improves diagnoses of rejection and infection in transplanted organs. *Circ Res* 2006; 98:1564.
- Zimmermann N, King NE, Laporte J, Yang M, Mishra A, Pope SM, et al. Dissection of experimental asthma with DNA microarray analysis identifies arginase in asthma pathogenesis. *J Clin Invest* 2003;111:1863-74.
- Brutsche MH, Joos L, Carlen B, I, Bissinger R, Tamm M, Custovic A, et al. Array-based diagnostic gene-expression score for atopy and asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2002; 109:271-3.
- Kinnula VL, Crapo JD. Superoxide dismutases in malignant cells and human tumors. *Free Radic Biol Med* 2004;36:718-44.
- 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.
- Thakkinstian A, McEvoy M, Minelli C, Gibson P, Hancox B, Duffy D et al. Human Genome Epidemiology (HuGE) Review: Systematic Review and Meta-analysis of the association between β_2 -adrenoceptor polymorphisms and Asthma: a HuGE Review. *Am J Epidemiol* 2005b;162:201-211.
- Migita O, Noguchi E, Jian Z, Shibasaki M, Migita T, Ichikawa K, et al. ADRB2 polymorphisms and asthma susceptibility: transmission disequilibrium test and meta-analysis. *Int Arch Allergy Immunol* 2004;134:150-7.
- Cavalli-Sforza LL, Feldman MW. The application of molecular genetic approaches to the study of human evolution. *Nat Genet* 2003; 33:266-75.

Correspondência:

Isabel Ruguê Genov

Avenida Santa Inês, 881 apto 173^a

02415-001 - Alto do Mandaqui - São Paulo - SP

E-mail: isabel@igen.epm.br