



## Genes in their environment: how can we read the riddles?

*Genes em seu ambiente: como desvendar as charadas?*

Andrew Bush\*

Era uma vez, como começam todos os melhores contos de fada, vários geneticistas muito espertos que começaram uma grande caçada em busca do "gene da asma". A princípio, pensaram tê-lo achado, mas mais e mais caçadores começaram a encontrar diferentes "genes da asma" e às vezes alguns caçadores de genes não conseguiam encontrar aquele gene que os caçadores anteriores consideravam o principal. A vida ficou cada vez mais confusa, e as causas originais, que deveriam ter sido consideradas desde o começo, só agora começam a ser identificadas. Essas incluem a existência de muitos tipos de asma, provavelmente com *backgrounds* diferentes, o que portanto exigiria uma fenotipagem clínica cuidadosa; incluem também o fato de que os genes não operam isoladamente, mas no seu ambiente (que inclui outros genes ao seu redor), o que pode modificar e até reverter completamente seus efeitos. Muitos perigos estatísticos também aguardam aqueles que meramente coletam DNA, inserem todos os dados em um computador e apertam um botão; é necessário dar muita atenção à metodologia. O propósito deste editorial é colocar o belo estudo de Faria et al.<sup>1</sup> dentro do contexto das questões atuais dos estudos de associação genética.

Uma revisão recente<sup>2</sup> identificou mais de 30 genes que se demonstraram estar associados a algum aspecto da asma, e a associação foi replicada em pelo menos cinco estudos. Em termos gerais, eles se encontram em um de quatro grupos: genes relacionados à imunidade inata e a imunorregulação; genes associados à diferenciação de células TH2 e funções efetoras; genes associados à biologia epitelial e à imunidade de mucosa; e genes associados à função pulmonar, ao remodelamento das vias aéreas e à gravidade da doença. Essas classes de genes encontram eco em nosso conhecimento

sobre a imunobiologia básica da asma. No entanto, o assunto não se encerra aí; hoje, conhecemos três membros de uma classe de função desconhecida, proteínas transmembrana codificadoras localizadas no retículo endoplasmático, que estão implicadas na asma, sendo a mais recente delas a ORM DL3<sup>3</sup>.

Diversas questões metodológicas foram discutidas, o que esclarece por que tantos estudos estão em conflito. Estudos de ligação implicam um locus específico (por exemplo, 5q31-33),

mas o locus pode conter uma grande quantidade de genes relevantes<sup>4</sup>, e é preciso evitar conclusões prematuras de que um gene específico é importante, e não um de seus vizinhos próximos. É importante verificar a validade dos métodos usados para genotipagem, de preferência com validação por um segundo método. Também é importante verificar a associação com pelo menos uma outra população<sup>5,6</sup>. No entanto, é preciso observar que se os resultados não parecem importantes para uma segunda população, isso não significa que o primeiro estudo é inválido; ao invés disso, deveria levar a uma análise cuidadosa das diferenças entre os estudos, análise esta que pode revelar descobertas importantes sobre novas interações entre genes e ambientes.

Os genes são relativamente fáceis de estudar, mas eles não existem no vácuo, e sim em um ambiente complexo que o pesquisador ignora por sua conta e risco. Estudos em camundongos demonstraram que as interações entre genes e ambientes podem explicar uma parcela maior da variância fenotípica do que os efeitos genéticos ou ambientais separadamente<sup>7</sup>. Estas interações são multifacetadas. Não é surpresa que o efeito da exposição à fumaça ambiental é maior em crianças com polimorfismos nulos nas glutathione S-transferases (importantes genes de defesa anti-oxidante)<sup>8</sup>.

**Veja artigo relacionado  
na página 203**

\* MB BS (Hons) MA MD FRCP FRCPCH. Professor of Paediatric Respiriology, Imperial School of Medicine, National Heart and Lung Institute, London, UK. Honorary Consultant Paediatric Chest Physician, Royal Brompton Hospital, London, UK.

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

**Como citar este artigo:** Bush A. Genes in their environment: how can we read the riddles? J Pediatr (Rio J). 2008;84(3):185-188.

doi:10.2223/JPED.1789

Uma grande quantidade de interações relativamente simples como essa já foram descritas, mas o fenômeno da plasticidade fenotípica, em que os efeitos de um gene podem ser invertidos em ambientes diferentes, complica a situação. A CD14 é uma molécula ligada intimamente com a resposta a lipopolissacarídeos, e é portanto uma candidata óbvia à posição de "gene da asma"<sup>9</sup>. No entanto, uma meta-análise relatou que o polimorfismo de CD14 C-159T não está associado à asma ou à gravidade da asma<sup>10</sup>. Quando as relações foram estudadas mais detalhadamente, com hipóteses mais focadas, o polimorfismo CD 14/-260 C/T no promotor de CD14 estava associado com níveis maiores de IgE totais e específicas para aeroalérgenos em crianças com contato regular com animais domésticos, mas tinha a relação oposta, inexplicável pelos níveis de endotoxina, em crianças em contato com animais de estábulo<sup>11</sup>. Finalmente, os efeitos da pobreza não podem ser esquecidos; na fibrose cística, a influência modificadora mais forte sobre a mortalidade não é a genética, e sim a riqueza da família<sup>12,13</sup>. Em muitos contextos, é melhor ser rico e doente do que pobre e doente.

Interações importantes também ocorrem dentro do núcleo celular. Polimorfismos em fatores de transcrição podem afetar a expressão do gene de maneira específica para cada órgão<sup>14,15</sup>. Os polimorfismos em uma seqüência de genes, cada um deles de pouca consequência funcional independentemente, podem criar sinergias que ampliam o efeito de risco de um certo tipo de fenótipo.

Outro pré-requisito dos estudos genéticos é a fenotipagem cuidadosa dos indivíduos, e a seleção cuidadosa dos controles. Apesar de haver sobreposição da asma, hiperreatividade brônquica e atopia diagnosticadas por médicos, elas não são a mesma coisa, e têm associações genéticas diferentes. "Asma" é um termo que no passado serviu o propósito útil de garantir que as crianças que sibilavam com resfriados virais não recebessem antibióticos, mas pode ter ultrapassado sua utilidade do ponto de vista terapêutico, pois levou à prescrição desnecessária e irrefletida de corticosteróides inalatórios; e o termo "asma" certamente ultrapassou sua utilidade no contexto dos estudos genéticos, a menos que leve inexoravelmente à pergunta "que tipo de asma?". Os fenótipos de pré-escolares chiadores são um bom exemplo e mesmo aqui há a necessidade de maiores esclarecimentos. A sibilância do pré-escolar é descrita como transitória (presente entre 0-3 anos, não 3-6 anos), persistente (presente durante os primeiros seis anos de vida) e de início tardio (ausente nas idades 0-3 anos, presente nas idades de 3-6 anos)<sup>16</sup>. Esses fenótipos só são úteis retrospectivamente, pois aos dois anos de idade, apesar de terem sido identificados diversos indicadores para prever a remissão dos sintomas<sup>17-19</sup>, não há nenhum que preveja sua persistência. Eles também são uma simplificação excessiva, ainda que tenha clareado nosso raciocínio. Recentemente, análises matemáticas mais sofisticadas sugerem que é necessário detalhar ainda mais os padrões de sibilos<sup>20</sup>.

Estes fenótipos epidemiológicos às vezes são confundidos com os clínicos sem qualquer reflexão; os padrões de sibilos intermitentes (virais) e aqueles com deflagradores múltiplos podem ser identificados com uma boa história clínica, e por vezes são considerados respectivamente o mesmo que sibilos transitórios e persistentes, mas isto nunca foi demonstrado. Seria ingênuo acreditar que uma criança não-atópica que chia, ainda que de forma grave, três vezes por ano por infecções virais, tem a mesma composição genética fundamental que uma criança com eczema, que chia todos os dias.

Mesmo na idade escolar, há diferenças internacionais importantes. No mundo ocidental, a asma atópica é o fenótipo mais comum e, apesar da asma não-atópica existir entre crianças de idade escolar, ela é suficientemente incomum para levar a revisões cuidadosas do diagnóstico. No entanto, um recente artigo de Porto Alegre demonstrou claramente que esse fenótipo é muito mais comum (cerca de 50%) e está associado à bronquiolite precoce grave<sup>21</sup>. Esse importante artigo destaca a necessidade de usar o senso crítico em relação às diferenças entre populações que aparentemente sofrem da mesma doença, mas em países diferentes.

Há outros fatores que complicam a situação. Os genes podem ser operacionais apenas durante uma janela de tempo específica<sup>22</sup>. Dados epidemiológicos<sup>16,23-25</sup> e patológicos<sup>26,27</sup> sugerem que os primeiros três anos de vida são cruciais para a determinação da função pulmonar no longo prazo, e que os processos do desenvolvimento podem interagir com os genes apenas durante momentos específicos. O fenótipo de inflamação celular da asma pode mudar com o tempo<sup>28</sup>. O papel das modificações epigenéticas na expressão de genes cruciais ainda não foi muito explorado e pode ser importante<sup>29</sup>. As complexidades de como os genes e o ambiente (no sentido mais amplo de ambos) interagem para produzir os fenótipos multifacetados da asma estão longe de serem compreendidos.

Onde os achados de Faria et al.<sup>1</sup> se encaixam nesta situação complexa? Os autores têm uma hipótese bem formulada de que os polimorfismos dos genes TGF- $\beta$ 1, CD14 e IL-4R, mas não de ADAM33, estão implicados na asma no Brasil. A literatura sobre os efeitos do ADAM33 é controversa, com alguns autores informando efeitos importantes<sup>30-32</sup> e outros não encontrando efeito nenhum<sup>33-35</sup>. Essas discrepâncias, que o presente estudo<sup>1</sup> não pode resolver, são estranhas; elas podem refletir a diferença no poder estatístico dos diferentes estudos, mas também podem refletir diferenças populacionais, e a resolução das discrepâncias poderia levar a novas descobertas. Esses estudos agora precisam ser seguidos com coortes maiores para se descobrir mais genes que aparentemente têm efeitos no Brasil que não são vistos no resto do Ocidente. Estudos confirmatórios são importantes, mas o estudo que produz o inesperado, e é robusto, é muito mais interessante. Um dos pré-requisitos para o sucesso será a geração de hipóteses bem focadas e o uso de metodologias

rigorosas. Tais fatores devem incluir o uso de populações de descoberta e de segunda replicação. As possíveis recompensas são enormes, pois tais diferenças podem enfatizar mecanismos inéditos; lembre-se que a observação do efeito protetor contra a asma de ter nascido em uma fazenda de leite, completamente contrária ao senso comum da época, levou a toda uma série de estudos mecanísticos. Seguiremos acompanhando esse espaço!

## Referências

- 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;84:203-10.
- Vercelli D. Discovering susceptibility genes for asthma and allergy. *Nat Rev Immunol*. 2008;8:169-82.
- Moffatt MF, Kabesch M, Liang L, Dixon AL, Strachan D, Heath S, et al. Genetic variants regulating ORMDL3 expression contribute to the risk of childhood asthma. *Nature*. 2007;448:470-3.
- Ober C, Hoffjan S. Asthma genetics 2006: the long and winding road to gene discovery. *Genes Immun*. 2006;7:95-100.
- Framework for a fully powered risk engine. *Nat Genet*. 2005;37:1153.
- Hall IP, Blakey JD. Genetic association studies in Thorax. *Thorax*. 2005;60:357-9.
- Valdar W, Solberg LC, Gauguier D, Cookson WO, Rawlins JN, Mott R, et al. Genetic and environmental effects on complex traits in mice. *Genetics*. 2006;174:959-84.
- Kabesch M, Hoefler C, Carr D, Leupold W, Weiland SK, von Mutius E. Glutathione S transferase deficiency and passive smoking increase childhood asthma. *Thorax*. 2004;59:569-73.
- Cleveland MG, Gorham JD, Murphy TL, Tuomanen E, Murphy KM. Lipoteichoic acid preparations of gram-positive bacteria induce interleukin-12 through a CD14-dependent pathway. *Infect Immun*. 1996;64:1906-12.
- Kedda MA, Lose F, Duffy D, Bell E, Thompson PJ, Upham J. The CD14 C-159T polymorphism is not associated with asthma or asthma severity in an Australian adult population. *Thorax*. 2005;60:211-4.
- Eder W, Klimecki W, Yu L, von Mutius E, Riedler J, Braun-Fahrlander C, et al; Allergy And Endotoxin Alex Study Team. Opposite effects of CD 14/-260 on serum IgE levels in children raised in different environments. *J Allergy Clin Immunol*. 2005;116:601-7.
- Drumm ML, Konstan MW, Schluchter MD, Handler A, Pace R, Zou F, et al; Gene Modifier Study Group. Genetic modifiers of lung disease in cystic fibrosis. *N Engl J Med*. 2005;353:1443-53.
- Schechter MS, Shelton BJ, Margolis PA, Fitzsimmons SC. The association of socioeconomic status with outcomes in cystic fibrosis patients in the United States. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001;163:1331-7.
- LeVan TD, Bloom JW, Bailey TJ, Karp CL, Halonen M, Martinez FD, et al. A common single nucleotide polymorphism in the CD14 promoter decreases the affinity of Sp protein binding and enhances transcriptional activity. *J Immunol*. 2001;167:5838-44.
- Chavanas S, Bodemer C, Rochat A, Hamel-Teillac D, Ali M, Irvine AD, et al. Mutations in SPINK5, encoding a serine protease inhibitor, cause Netherton syndrome. *Nat Genet*. 2000;25:141-2.
- Martinez FD, Morgan WJ, Wright AL, Holberg CJ, Taussig LM. Diminished lung function as a predisposing factor for wheezing respiratory illness in infants. *N Engl J Med*. 1988;319:1112-7.
- Castro-Rodríguez JA, Holberg CJ, Wright AL, Martinez FD. A clinical index to define risk of asthma in young children with recurrent wheezing. *Am J Respir Crit Care Med*. 2000;162:1403-6.
- Bacharier LB, Phillips BR, Bloomberg GR, Zeiger RS, Paul IM, Krawiec M. Childhood Asthma Research and Education Network, National Heart, Lung, and Blood Institute. Severe intermittent wheezing in preschool children: a distinct phenotype. *J Allergy Clin Immunol*. 2007;119:604-10.
- Devulapalli CS, Carlsen KC, Håland G, Munthe-Kaas MC, Pettersen M, Mowinckel P, et al. Severity of obstructive airways disease by age 2 years predicts asthma at 10 years of age. *Thorax*. 2008;63:8-13.
- Henderson J, Sherriff A, Farrow A, Ayres JG. Household chemicals, persistent wheezing and lung function: effect modification by atopy? *Eur Respir J*. 2008;31:547-54.
- Pereira MU, Sly PD, Pitrez PM, Jones MH, Escouto D, Dias AC, et al. Nonatopic asthma is associated with helminth infections and bronchiolitis in poor children. *Eur Respir J*. 2007;29:1154-60.
- O'Donnell AR, Toelle BG, Marks GB, Hayden CM, Laing IA, Peat JK, et al. Age-specific relationship between CD14 and atopy in a cohort assessed from age 8 to 25 years. *Am J Respir Crit Care Med*. 2004;169:615-22.
- Lowe LA, Simpson A, Woodcock A, Morris J, Murray CS, Custovic A; NAC Manchester Asthma and Allergy Study Group. Wheeze phenotypes and lung function in preschool children. *Am J Respir Crit Care Med*. 2005;171:231-7.
- Kuehni CE, Strippoli MP, Low N, Silverman M. Asthma in young south Asian women living in the United Kingdom: the importance of early life. *Clin Exp Allergy*. 2007;37:47-53.
- Illi S, von Mutius E, Lau S, Niggemann B, Grüber C, Wahn U; Multicentre Allergy Study (MAS) group. Perennial allergen sensitisation early in life and chronic asthma in children: a birth cohort study. *Lancet*. 2006;368:763-70.
- Saglani S, Malmstrom K, Pelkonen AS, Malmberg LP, Lindahl H, Kajosaari M, et al. Airway remodeling and inflammation in symptomatic infants with reversible airflow obstruction. *Am J Respir Crit Care Med*. 2005;171:722-7.
- Saglani S, Payne DN, Zhu J, Wang Z, Nicholson AG, Bush A, et al. Early detection of airway wall remodelling and eosinophilic inflammation in preschool wheezers. *Am J Respir Crit Care Med*. 2007;176:858-64.
- Fleming L, Wilson N, Regamey N, Bush A. Are inflammatory phenotypes in children with severe asthma stable? *Eur Respir J*. 2007;30:483S.
- Vercelli D. Genetics, epigenetics, and the environment: switching, buffering, releasing. *J Allergy Clin Immunol*. 2004;113:381-6.
- Howard TD, Postma DS, Jongepier H, Moore WC, Koppelman GH, Zheng SL, et al. Association of a disintegrin and metalloprotease 33 (ADAM33) gene with asthma in ethnically diverse populations. *J Allergy Clin Immunol*. 2003;112:717-22.

31. Kedda MA, Duffy DL, Bradley B, O'Hehir RE, Thompson PJ. [ADAM33 haplotypes are associated with asthma in a large Australian population](#). *Eur J Hum Genet*. 2006;14:1027-36.
32. Foley SC, Mogas AK, Olivenstein R, Fiset PO, Chakir J, Bourbeau J, et al. [Increased expression of ADAM33 and ADAM8 with disease progression in asthma](#). *J Allergy Clin Immunol*. 2007;119:863-71.
33. Raby BA, Silverman EK, Kwiatkowski DJ, Lange C, Lazarus R, Weiss ST. [ADAM33 polymorphisms and phenotype associations in childhood asthma](#). *J Allergy Clin Immunol*. 2004;113:1071-8.
34. Chen C, Huang X, Sheppard D. [ADAM33 is not essential for growth and development and does not modulate allergic asthma in mice](#). *Mol Cell Biol*. 2006;26:6950-6.
35. Schedel M, Depner M, Schoen C, Weiland SK, Vogelberg C, Niggemann B, et al. [The role of polymorphisms in ADAM33, a disintegrin and metalloprotease 33, in childhood asthma and lung function in two German populations](#). *Respir Res*. 2006;7:91.

## Systemic infection and brain injury in the preterm infant

### *Infecção sistêmica e lesão cerebral no recém-nascido pré-termo*

Richard A. Polin\*

Neste número do Jornal de Pediatria, Silveira et al.<sup>1</sup> investigaram fatores de risco para o desenvolvimento de leucomalácia periventricular (LPV) em uma coorte de recém-nascidos de muito baixo peso (RNMBP). Um número significativamente maior de recém-nascidos com LPV apresentaram sepse documentada e/ou foram mantidos sob ventilação por mais de 24 horas. Esse estudo bem delineado acrescenta evidência de suporte ao papel da infecção pós-natal na patogênese da LPV<sup>2</sup>. Ao passo que os dados são provocativos, não está claro pelo artigo como o período de episódios de sepse está relacionado ao desenvolvimento de LPV. Se todos os recém-nascidos do estudo tiveram sepse de início precoce, é de certa forma surpreendente que os estafilococos coagulase-negativos tenham sido os patógenos mais freqüentemente encontrados. Nos EUA, esse microorganismo seria uma causa rara de sepse de início precoce. Se os recém-nascidos do estudo tiveram infecções de início tardio, a questão do tempo de instalação do episódio infeccioso com o início de LPV é especialmente importante. Uma grande limitação desse estudo é a falta de dados sobre a probabilidade de infecção antenatal. Essa questão é particularmente importante, dada a alta taxa de bacteremia por *Mycoplasma* e *Ureaplasma* em recém-nascidos prematuros<sup>3</sup>. Uma terceira deficiência desse estudo (conforme observado pelos autores) é a falta de informações obtidas por ressonância magnética (RM); a RM é uma maneira mais sen-

sível de diagnosticar LPV. Dadas essas limitações, entretanto, os autores devem ser congratulados por abordarem essa questão.

A LPV é fortemente associada ao desenvolvimento de paralisia cerebral<sup>4</sup>. A patogênese de LPV tem sido associada a distúrbios resultantes de hipoperfusão cerebral (por exemplo: hipóxia-isquemia, hipotensão, canal arterial patente com fluxo diastólico reverso, etc.) e infecção perinatal (antenatal e pós-natal). A via comum final para as duas etiologias deve provavelmente incluir ativação microglial, liberação de citocinas e glutamato e produção de radicais livres (Figura 1).

Infecções de início tardio são comuns entre RNMBP, e até 25% desenvolvem uma infecção sistêmica bacteriana ou fúngica; 5-10% apresentam meningite documentada<sup>5</sup>. Anormalidades neurológicas são comuns entre sobreviventes. Em um recente estudo observacional por Stoll et al. (n = 6.093)<sup>7</sup>, recém-nascidos pré-termo com infecções sistêmicas confirmadas, infecção clínica (hemocultura negativa), enterocolite necrosante (ECN) e meningite tinham maior probabilidade de apresentarem anormalidades neurológicas e de crescimento, comparados com um grupo controle não infectado. Prejuízo auditivo foi mais comum em recém-nascidos com ECN e naqueles infectados por microorganismos gram-negativos. Em um estudo de caso-controle, O'shea et al. tam-

***Veja artigo relacionado na página 211***

\* MD. Professor of Pediatrics, College of Physicians and Surgeons, Columbia University, New York, USA.

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

**Como citar este artigo:** Polin RA. Systemic infection and brain injury in the preterm infant. *J Pediatr* (Rio J). 2008;84(3):188-191.

doi:10.2223/JPED.1784