



**UNIVERSIDADE DO ESTADO DA BAHIA- UNEB  
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS DA VIDA- DCV I  
BACHARELADO EM FARMACIA**

**IJAIEL RIAN BRITO DE SOUZA**

**ANÁLISE DE POLIMORFISMOS NO GENE *GATA3* E SUAS ASSOCIAÇÕES COM  
FENÓTIPOS DE ASMA EM UMA POPULAÇÃO DE SALVADOR-BAHIA**

Salvador - Bahia  
2022

**IJAIEL RIAN BRITO DE SOUZA**

**ANÁLISE DE POLIMORFISMOS NO GENE *GATA3* E SUAS ASSOCIAÇÕES COM  
FENÓTIPOS DE ASMA EM UMA POPULAÇÃO DE SALVADOR-BAHIA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao  
colegiado de Farmácia da Universidade do Estado da  
Bahia como requisito final avaliativo da disciplina.

Orientadora: Dr<sup>a</sup>. Valdirene Leão Carneiro  
Co-orientadora: Ma. Louise Correia De Lima

Salvador - Bahia  
2022

FICHA CATALOGRÁFICA  
Sistema de Bibliotecas da UNEB

S729a

Souza, Ijaniel Rian Brito de

Análise de polimorfismo no gene GATA3 e suas associações com fenótipos de asma em uma população de Salvador-Bahia / Ijaniel Rian Brito de Souza. - Salvador, 2022.

51 fls.

Orientador(a): Valdirene Leão Carneiro.

Coorientador(a): Louise correia de Lima.

Inclui Referências

TCC (Graduação - Farmácia) - Universidade do Estado da Bahia.  
Departamento de Ciências da Vida. Campus I. 2022.

1.Asma. 2.Polimorfismo de Nucleotídeo Único - SNP. 3.Alergia.  
4.GATA3.

CDD: 575

IJAIEL RIAN BRITO DE SOUZA

ANÁLISE DE POLIMORFISMOS NO GENE GATA3 E SUAS ASSOCIAÇÕES COM  
FENÓTIPOS DE ASMA EM UMA POPULAÇÃO DE SALVADOR-BAHIA

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao  
colegiado de Farmácia da Universidade do Estado  
da Bahia como requisito final avaliativo da  
disciplina.

Aprovado em: 13 / 12 /2022

BANCA EXAMINADORA



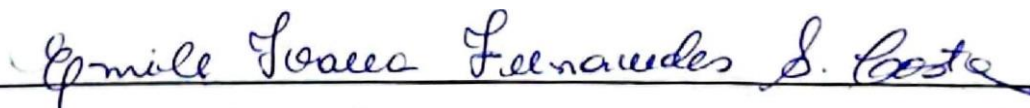
Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Valdirene Leão Carneiro (Orientadora)

Universidade do Estado da Bahia



Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria Teresita Bendicho (Examinadora Interna)

Universidade do Estado da Bahia



Msc. Emile Ivana Fernandes Santos Costa (Examinadora Externa)

Universidade Federal da Bahia

Dedico este trabalho aos meus pais Israel Pereira e Romilda Araújo, ao meu irmão Nadson Luan (in memoriam) e Irraiel Adonai que sempre me apoiaram e nunca perderam a fé nos meus sonhos.

# AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus por me proporcionar esta conquista, me proteger e me ajuda quando as força humanas já não me permitiam caminhar. Agradeço também por permitir que meus pais realizem um sonho de contemplar, em vida, um filho concluir o ensino superior, sobretudo em uma universidade pública;

Agradeço aos meus pais, senhor Israel Pereira e senhora Romilda Araújo pelo apoio, esforço, dedicação, carinho, amor e companheirismo durante toda a minha vida;

Ao meu irmão Irraiel Adonai, por me ajudar nas horas de aperto, me proporcionar momentos de descanso e descontração durante as férias para que eu pudesse voltar todos os semestres mais forte e renovado. Agradeço também pelo maior presente que poderia ter me dado durante essa jornada, meu sobrinho Luan;

Agradeço aos parceiros e amigos fiéis que fizeram parte dessa caminhada acadêmica, em especial a Derlan e Emylle, obrigado por toda ajuda e apoio em todos os momentos nesses 5 anos de UNEB;

A residência estudantil do Departamento de Ciências da Vida, por me proporcionar tornar esse sonho realidade e pelos amigos queridos que me possibilitou conhecer, em especial a Jonas, Amanda, Marilene, Dan e Valter;

Agradeço também aos amigos e companheiro que me apoiaram e lutaram junto comigo por esse sonho, em especial a landra, Mazinho, Denisson, Edmundo, Allan, Cristiano e Strella.

Agradeço aos meus familiares, em especial a tia dina, tia kelly, tio toinho, tio pita, cassinho e vó cassimira por sempre ter me apoiado e me ajudado quando precisei;

As minhas orientadoras Louise Lima e Valdirene Leão pela dedicação, empenho, esforço e puxões de orelha que me fizeram crescer profissionalmente e academicamente;

À Banca examinadora pela disponibilidade, competência e pelas inestimáveis contribuições para o aperfeiçoamento desse trabalho;

Por fim, agradeço ao meu irmão Luan (in memoriam) que mesmo não estando entre nós, foi um dos principais motivos desse momento estar acontecendo, sendo meu sustento quando pensei em desistir.

“Um brinde guerreiro, pela vida de exageros que pudemos ter”

- MANEVA

## RESUMO

**INTRODUÇÃO:** A asma tem por definição um processo característico de inflamação crônica das vias aéreas, no qual se desenvolve uma obstrução dos brônquios, podendo ser de forma total ou parcial. É classificada em leve, moderada e grave e recruta diversas células que compõe o sistema imunológico adaptativo e inato para promover simultaneamente com as células epiteliais uma hiper reação dos brônquios. Por ser uma doença com características poligenética, o estudo gênico é fundamental, destacando-se o gene *GATA3*; um elemento regulatório positivo e específico para ativação de IL-5, expresso seletivamente em células T e apresentadoras de citocinas do tipo TH2. **OBJETIVO:** Investigar variantes genéticas no gene *GATA3* associados com marcadores de atopia e fenótipos de asma em uma população de indivíduos do programa para o Controle de Asma e Rinite na Bahia, Salvador-BA. **MATERIAIS E MÉTODOS:** Este trabalho é um estudo observacional analítico do tipo caso controle e foi conduzido com 1084 indivíduos provenientes do Programa para o Controle da Asma na Bahia (ProAR). As estratégias estatísticas utilizadas incluíram a regressão logística, imputação genotípica do banco, software plink, GraphPad Prisma, plataforma da NCBI, HaploReg e classificação do RegulomeDB. **RESULTADOS E DISCUSSÃO:** Foram selecionados 7 SNP para as análises de associação, no qual foram encontrados resultados significativos para as variáveis de asma os polimorfismos: rs2798835, rs3824662 e rs11567902, apresentando dados de OR sugestivos de risco para o desenvolvimento da asma. Para as variáveis em atopia, foram encontrados todos os SNP em análise de associação, tendo apenas os polimorfismos rs1269489 e rs183890714 associados com a proteção. Para as análises de dosagem de IgE foram encontrados os SNP rs3824662, rs11255501 e rs1269486, no qual apenas o último foi associado a diminuição sérica da IgE, sendo os outros dois associados ao aumento. Para as dosagens de citocina, os SNP significativamente encontrados foram o rs3824662, rs11255501, rs183890714 e rs11567902, encontrados para IL-5, IL-10, Eotaxina e IgE total, com associações para o aumento ou diminuição dessas expressões na asma. Por fim, foi encontrado com motivos significativamente alterados para asma os polimorfismos rs11567902, rs11255501 e rs10905278. **CONSIDERAÇÕES FINAIS:** Para que a interferência que esses SNP geram na cascata reativa de asma, seja totalmente elucidada, serão necessárias mais pesquisas em torno desses resultados, considerando também outras populações inseridas em contextos ambientais, culturais, genéticos e socioeconômicos específico, afim de demonstrar os impactos que polimorfismos no gene *GATA3* podem apresentar em diferentes apresentações sociais.

**Palavras-chave:** Asma; SNP; *GATA3*; alergia.

## ABSTRACT

**INTRODUCTION:** Asthma is, by definition, a characteristic process of chronic inflammation of the airways, where obstruction of the bronchi develops, which may be total or partial. It is classified as mild, moderate and severe and recruits several cells that make up the adaptive and innate immune system to promote simultaneously with the epithelial cells a hyperreaction of the bronchi. As it is a disease with polygenetic characteristics, the genetic study is essential, highlighting the *GATA3* gene; a positive and specific regulatory element for IL-5 activation, selectively expressed in T cells and TH2-type cytokine-presenting cells. **OBJECTIVE:** To investigate genetic variants in the *GATA3* gene associated with atopy markers and asthma phenotypes in a population of individuals from the program for the Control of Asthma and Rhinitis in Bahia, Salvador-BA. **MATERIALS AND METHODS:** This work is a case-control analytical observational study and was conducted with 1084 individuals from the Program for the Control of Asthma in Bahia (ProAR). Statistical strategies used included logistic regression, genotypic imputation from the bank, plink software, GraphPad Prisma, NCBI platform, HaploReg and RegulomeDB classification. **RESULTS AND DISCUSSION:** Seven SNPs were selected for association analyses, in which significant results were found for the polymorphisms asthma variables: rs2798835, rs3824662 and rs11567902, presenting OR data suggestive of risk for the development of asthma. For the atopy variables, all SNPs were found in the association analysis, with only the rs1269489 and rs183890714 polymorphisms associated with protection. For the analysis of IgE dosage, the SNPs rs3824662, rs11255501 and rs1269486 were found, in which only the latter was associated with a decrease in serum IgE, with the other two associated with an increase. For cytokine dosages, the SNPs significantly found were rs3824662, rs11255501, rs183890714 and rs11567902, found for IL-5, IL-10, Eotaxin and total IgE, with associations to the increase or decrease of these expressions in asthma. Finally, the polymorphisms rs11567902, rs11255501 and rs10905278 were found to have significantly altered motifs for asthma. **FINAL CONSIDERATIONS:** In order for the interference that these SNPs generate in the reactive cascade of asthma to be fully elucidated, further research on these results will be necessary, also considering other populations inserted in specific environmental, cultural, genetic and socioeconomic contexts, in order to demonstrate the impacts that polymorphisms in the *GATA3* gene can present in different social presentations.

**Keywords:** Asthma; SNP; *GATA3*; Allergy.

## LISTA DE GRAFICOS E FIGURAS

GRÁFICO 1	Distribuição de das internações por asma no Brasil por ano	13
GRÁFICO 2	Dosagem de citocina para paciente com Asma, Asma leve e Asma grave	39
FIGURA 1	Resposta imune do tipo TH2 após exposição a um alérgeno na asma atópica.	15
FIGURA 2	Papel do gene <i>GATA3</i> nos mecanismos patológicos da Asma alérgica.	18

**LISTA DE ABREVIÇÕES E SIGLAS**

CHR	Cromossomo
DNA	Ácido desoxirribonucleico
GINA	Global Initiative for Asthma
HWE	Equilíbrio de Hardy-Weinberg
IC95%	Intervalo de Confiança 95%
IgE	Imunoglobulina E
IL	Interleucina
ILC2	Células linfoides inatas tipo 2
MAF	Frequência do menor alelo
MIF	Imunofluorescência multiplex
NCBI	National Center for Biotechnology Information
MS	Ministério da Saúde
OR	Odds ratio
ProAR	Programa para o Controle de Asma e Rinite na Bahia
RNA	Ácido ribonucleico
SNP	Polimorfismo de nucleotídeo único (Single Nucleotide Polymorphism)
Th2	Células T auxiliares 2
VEF1	Volume Expiratório Forçado no primeiro segundo
SciELO	Scientific Electronic Library Online
NHIS	National Health Interview Survey
ISAAC	Asthma and Allergies in Childhood
SUS	Sistema Único de Saúde

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>13</b>
<b>2 JUSTIFICATIVA</b> .....	<b>15</b>
<b>3 REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	<b>16</b>
<b>3.1 EPIDEMIOLOGIA DA ASMA</b> .....	<b>16</b>
<b>3.2 FENÓTIPOS E ENDÓTIPOS DA ASMA</b> .....	<b>17</b>
<b>3.3 IMUNOPATOLOGIA DA ASMA</b> .....	<b>18</b>
<b>3.4 FATORES DE TRANSCRIÇÃO DA RESPOSTA TH2</b> .....	<b>19</b>
<b>3.5 IMPORTÂNCIA DO <i>GATA3</i> E POLIMORFISMOS GENÉTICOS NA ASMA</b> .....	<b>21</b>
<b>4 OBJETIVOS</b> .....	<b>23</b>
<b>4.1 OBJETIVO GERAL</b> .....	<b>23</b>
<b>4.2 OBJETIVO ESPECÍFICO</b> .....	<b>23</b>
<b>5 MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>24</b>
<b>5.1 CARACTERIZAÇÃO DA POPULAÇÃO DO ESTUDO</b> .....	<b>24</b>
<b>5.2 DEFINIÇÃO DOS POLIMORFISMOS DE ASMA</b> .....	<b>24</b>
<b>5.3 EXTRAÇÃO DO DNA GENÔMICO</b> .....	<b>25</b>
<b>5.4 GENOTIPAGEM</b> .....	<b>25</b>
<b>5.5 IMPUTAÇÃO</b> .....	<b>25</b>
<b>5.6 VARIÁVEIS E MARCADORES UTILIZADOS NOS ESTUDOS DE ASSOCIAÇÃO COM VARIÁVEIS GENÉTICAS EM <i>GATA3</i></b> .....	<b>25</b>
<b>5.7 DOSAGEM DE IGE TOTAL E ESPECÍFICA</b> .....	<b>26</b>
<b>5.8 DOSAGEM DE CITOCINAS</b> .....	<b>26</b>
<b>5.9 CONTAGEM DE EOSINÓFILOS</b> .....	<b>26</b>
<b>5.10 ESTRATÉGIA ESTATÍSTICA PARA O ESTUDO DA ASSOCIAÇÃO ENTRE GENÓTIPOS E FENÓTIPOS</b> .....	<b>26</b>
<b>5.11 SELEÇÃO DOS POLIMORFISMOS ENCONTRADOS</b> .....	<b>27</b>
<b>5.12 ASPECTOS ÉTICOS</b> .....	<b>27</b>
<b>5.13 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO</b> .....	<b>28</b>
<b>5.14 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO</b> .....	<b>28</b>
<b>6 RESULTADOS</b> .....	<b>29</b>
<b>6.1 CARACTERIZAÇÃO DA POPULAÇÃO DO ESTUDO</b> .....	<b>29</b>
<b>6.2 DESCRIÇÃO DOS SNP ASSOCIADOS AO GENE <i>GATA3</i></b> .....	<b>30</b>
<b>6.3 ASSOCIAÇÕES DOS SNP COM RESULTADOS SIGNIFICATIVOS PARA ASMA, OBSTRUÇÃO E EOSINOFILIA</b> .....	<b>32</b>

<b>6.4 ASSOCIAÇÃO DOS SNP COM RESULTADOS SIGNIFICATIVOS PARA TESTE CUTÂNEO .....</b>	<b>34</b>
<b>6.5 ASSOCIAÇÃO DOS SNP COM RESULTADOS SIGNIFICATIVOS PARA DOSAGEM DE IGE.....</b>	<b>36</b>
<b>6.6 ASSOCIAÇÃO DOS SNP COM RESULTADOS SIGNIFICATIVOS PARA DOSAGEM DE CITOCINA.....</b>	<b>38</b>
<b>6.7 FREQUÊNCIA DO MENOR ALELO DOS POLIMORFISMOS SEGUNDO CONTINENTES.....</b>	<b>40</b>
<b>7 DISCUSSÃO .....</b>	<b>41</b>
<b>8 CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>46</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>47</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A asma tem por definição uma doença heterogênea, que gera um processo característico de inflamação crônica das vias aéreas, no qual haverá uma obstrução dos brônquios, podendo ser de forma total ou parcial (GINA, 2021), se apresentando de maneira reversível, seja espontaneamente ou por intermédio de ações farmacológicas (SOUSA, 2021).

Essa patologia pode ser classificada em leve, moderada e grave, e utiliza fatores como intensidade dos sintomas e função pulmonar. Além disso, deve-se levar em consideração aspectos como a tolerância do indivíduo ao exercício, os tipos de medicamentos utilizados para controle dos sintomas, frequência de idas ao pronto socorro, hospitalizações por crise de asma e necessidade ou não de utilização de ventilação mecânica (BRASIL, 2021).

No Brasil, a asma possui um impacto expressivo tanto na sua frequência e prevalência, quanto no setor econômico. Segundo a Associação Brasileira de Alergia e Imunopatologia estima-se que em 2020 existia aproximadamente 20 milhões de pessoas portadoras de asma distribuídas entre crianças e adultos, onde 5% destas manifestam a forma mais grave da doença; essa inflamação brônquica é responsável pela 4<sup>o</sup> maior causa de internações no país, apresentando média anual de mais de 2 mil mortes, gerando um custo econômico relevante (ASBAI, 2020). Pesquisas mostram que em 2004 os custos diretos gerados pela asma ao SUS ultrapassaram o valor de 106 milhões de reais, enquanto em 2005 os custos resultantes das internações ficam em torno de 96 milhões de reais, correspondendo a uma taxa de 1,4% dos gastos totais anuais de todas as doenças no país (DAMASCENO *et al.*, 2012).

A inflamação causada pela asma recruta diversas células que compõe o sistema imunológico adaptativo e inato para promover simultaneamente com as células epiteliais uma hiper reação dos brônquios, produzindo assim, uma hipersecreção do muco e concomitantemente um estreitamento das paredes dessas vias (MITCHELL *et al.*, 2017).

Outro fator de elevada importância para o entendimento da asma, é sua característica fenotípica, representada principalmente pela asma atópica e a asma não atópica. A asma atópica, também conhecida como asma alérgica, é uma apresentação da patologia de predisposição genética, onde há um envolvimento de

componentes do sistema imunológico adaptativo, com caráter autossômico dominante e poligênico, sendo a imunoglobulina E (IgE) o componente imunológico principal. Para a asma não atópica ou não alérgica, tem-se que esta não possui alérgenos no sistema imune que reaja em casos de exposições, isso é, seus testes cutâneos e de IgE específico, nesses casos são negativados, possuindo um outro mecanismo de desenvolvimento (RENNIE *et al.*, 2020).

Por ser uma doença com características poligenéticas e com interações de fatores genéticos e ambientais, o estudo gênico no que diz respeito à compreensão da asma é de fundamental importância; sua determinação em respostas alérgicas a estímulos ambientais, ao papel da farmacogenética e a polimorfismos genéticos, sobretudo as que afetam apenas um par de base, os polimorfismos de nucleotídeo único (SNP), são cruciais no manejo da doença (PEREZ-GARCIA *et al.*, 2020).

Neste contexto, destaca-se o gene *GATA3*; este se apresenta como um elemento regulatório positivo e específico para ativação de IL-5, que desenvolve esta ação através da ligação do sítio GATA com o fator de transcrição *GATA3*, expresso seletivamente em células T, sendo essas apresentadoras de citocinas do tipo TH2, participando então de toda cascata reativa no processo característico da asma (GARN *et al.*, 2017). Portanto, o presente estudo tem como pergunta norteadora: Os polimorfismos genéticos do gene *GATA3* podem afetar no desenvolvimento da asma e nos seus diversos fenótipos?

## 2 JUSTIFICATIVA

Dados apresentados pelo Estudo Internacional de Asma e Alergia na Infância, do inglês *International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC)* revelam que o público infantil apresenta taxa de prevalência superior a 12% em todo o mundo. A América Latina também apresenta números altos, com uma taxa de 17,3% de prevalência entre crianças de 6 a 7 anos de idade, sendo, portanto, uma das principais causas de absenteísmo de crianças, que se estende também para seus tutores legais, sobretudo nos ambientes de trabalho (BAQUE *et al.*, 2021).

A taxa de prevalência da asma no Brasil encontra-se entre as maiores do mundo (ASBAI, 2020), tendo associado a essa taxa, a presença de broncoespasmo em 20% da população. Segundo a Organização Mundial de Saúde, 23% dos brasileiros entre 18 e 45 anos apresentam sintomas de asma, sendo apenas 12% a taxa dessa população que possuem diagnóstico confirmado (BRASIL, 2021).

Quanto aos impactos econômicos que a asma gera em todo o mundo, pesquisas realizadas nos Estados Unidos, apontam que o custo direto gerado pela asma não controlada em 20 anos foi em torno de 300 bilhões de dólares e, somados com os custos indiretos, esse valor se aproxima de 960 bilhões (YAGHOUBI *et al.*, 2019).

No Brasil existem poucos estudos que apontam os impactos econômicos gerados pela asma ao Sistema Único de Saúde (SUS), no entanto sabe-se que esta doença possui uma média anual de internações em unidades públicas de saúde de 350 mil (FREITAS *et al.*, 2021). Estes dados apontam a relevância do tema proposto e a necessidade de estudos que abordem a fisiopatologia da asma para futuras linhas de tratamentos que reduzam os impactos socio-econômicos da patologia.

### 3 REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1 EPIDEMIOLOGIA DA ASMA

A asma constitui-se como uma doença com expressiva importância para a saúde da população, se apresentando como uma das doenças crônicas mais frequentes, com taxa de prevalência que varia entre 15% a 20% em diversos países. Estudos apontam que nos EUA cerca de 1.500 dólares sejam gastos por visitas ao pronto-socorro e 3.000 dólares apenas com despesas médicas por indivíduo (ENILARI *et al.*, 2019).

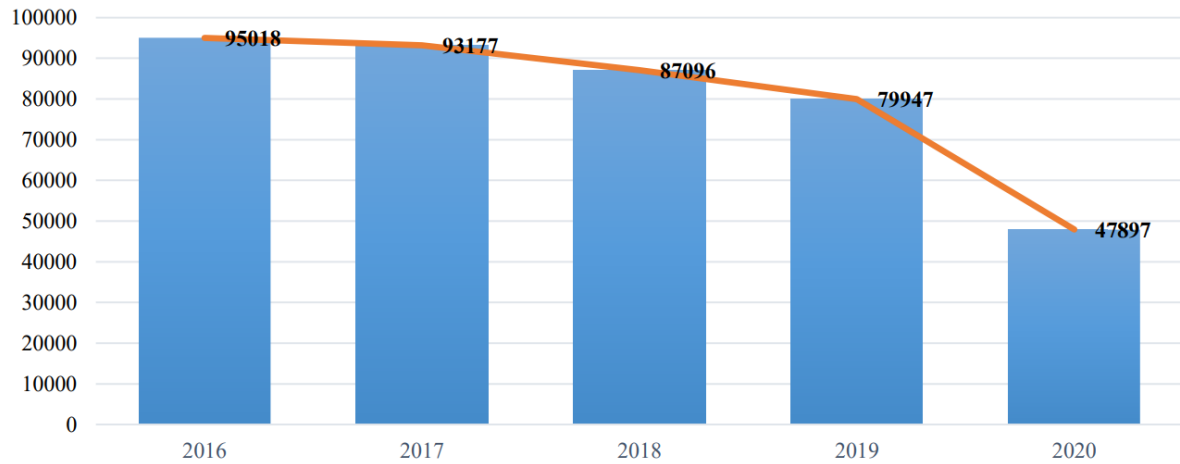
Estima-se que sua prevalência afete cerca de 300 milhões de pessoas em todo o mundo, com projeções mundiais para 2025 com um aumento em torno de 100 milhões de pessoas afetadas pela doença (DHARMAGE *et al.*, 2019). Além disso, essa alta prevalência aponta também para um problema econômico relevante, ao ponto que, esses números provocam uma alta taxa de absenteísmo de adolescentes e adultos nas escolas e trabalhos, além de possuir uma taxa de aproximadamente 250 mil mortes anuais em todo o mundo (MARQUES *et al.*, 2022; Pitchon *et al.*, 2020).

No Brasil, pesquisas apontam que a taxa de prevalência da asma no país em pessoas com mais de 18 anos de idade é de 12%, sendo superior a prevalência estimada pela Pesquisa Mundial em Saúde (do inglês *World Health Survey – WHS*) (MENEZES *et al.*, 2015).

Um estudo realizado no país durante os anos de 2016 e 2020 revelou que o número de internações no SUS nesse período foi de 403.135, com uma queda expressiva nos anos de 2019 e 2020. Este estudo ainda revela que a região do Nordeste lidera o ranking de internações em decorrência da asma, com um número de 159.788 pacientes internados nos anos analisados, apontando também uma queda nos anos de 2019 e 2020 (MARQUES *et al.*, 2022).

Embora o estudo explique que essa queda pode estar atrelada à pandemia pela COVID-19, sua taxa de prevalência e internação ainda se mantém alta e revela a importância do cuidado e tratamento da doença, além do investimento em políticas públicas que visem a redução desse número e os desdobramentos gerados por ela.

**GRÁFICO 1** – Distribuição das internações por asma no Brasil nos anos de 2016 a 2020.



Fonte: MARQUES *et al.*, 2022.

### 3.2 FENÓTIPOS E ENDÓTIPOS DA ASMA

A asma se caracteriza por uma doença multifatorial com apresentações clínicas, morfológicas e respostas ao tratamento de maneiras diferentes, caracterizando-se como uma patologia com diversos fenótipos (CABRAL *et al.*, 2017). Dessa forma, a Iniciativa Global Para Asma (do inglês *Global Initiative for Asthma - GINA*) define os fenótipos de asma como um conglomerado reconhecível de características demográficas, clínicas e/ou fisiopatológicas (PORPODIS *et al.*, 2022).

Nesse contexto, se destaca também, com importância no diagnóstico da doença, as caracterizações dos endótipos de asma. Este é definido como um subtipo da patologia referida que possui um mecanismo celular ou respostas ao tratamento próprio, considerando ainda características clínicas, biomarcadores, fisiologia pulmonar, genética, histopatologia e epidemiologia, tendo como exemplo a asma atópica (LÖTVALL *et al.*, 2011). Portanto, o sistema de classificação da doença se baseia em características clínicas, na qual há limitações persistentes do fluxo aéreo com exacerbação típicas da doença e quanto aos tipos de inflamações geradas nas vias aéreas, que podem se manifestar como eosinofílica, neutrofílica, mista ou paucigranulocítica (OZDEMIR *et al.*, 2018).

Por ser uma das formas de asma mais frequentes na população, a asma atópica tende a ter seu início de forma precoce, ainda na infância (SALAMEH *et al.*, 2020). É desenvolvida por fatores diversos e se manifesta pelo contato com agentes alérgenos. Geralmente são manifestações de fácil controle por terapias convencionais (corticoides e broncodilatadores), com prognósticos positivos e história clínica com presença de doenças alérgicas associadas (HASHMI *et al.*, 2022). Por outro lado, a asma não atópica possui manifestações tardias (após os 12 anos de idade), com predominância em indivíduos do sexo feminino e com tendência a um declínio mais precoce da função pulmonar quando comparado à asma atópica. Na maioria dos casos, há uma inflamação de caráter eosinofílico, com infiltração de neutrófilos, que por sua vez não possui mecanismos totalmente elucidados (ASBAI, 2017).

### 3.3 IMUNOPATOLOGIA DA ASMA

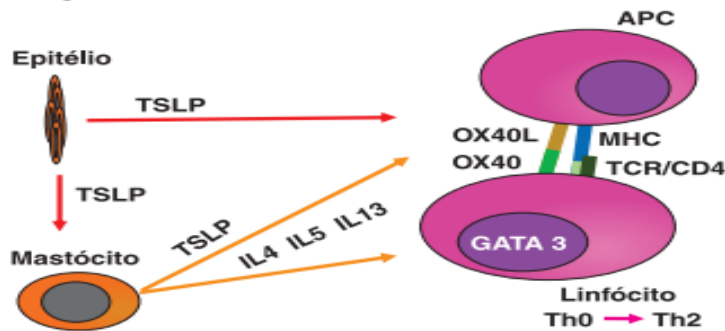
Uma das características do desenvolvimento da asma é a reação brônquica que se desenvolve durante a crise. Ela possui um caráter inflamatório das vias aéreas superiores que promove um estreitamento dessas vias por intermédio de um edema que se desenvolve, mediados por células inflamatórias, como eosinófilos, mastócitos, neutrófilos, linfócitos dentre outras (BOONPIYATHAD *et al.*, 2019).

A reação envolvida na asma é dirigida por uma resposta imune do tipo TH2. Os linfócitos do tipo TH2 que estão presentes na mucosa brônquica da asma promovem a indução da síntese de IgE que será realizada pelos plasmócitos, atrelado também ao recrutamento de eosinófilos. Essa sensibilização e indução promovem a ativação de mastócitos nos tecidos, enquanto se ligam, em circulação, a receptores específicos de basófilos, provocando uma hipersensibilidade imediata com a ocorrência de degranulação celular aguda (LEÓN *et al.*, 2021).

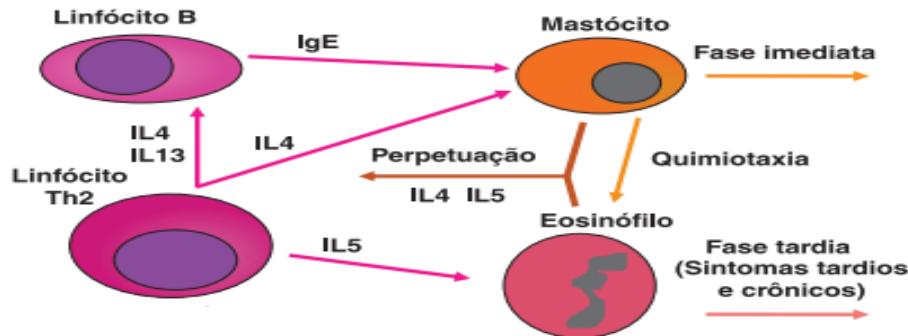
Esses processos ocorrem por intermédio de mediadores inflamatórios que promovem a contração do músculo liso das vias aéreas, ativação de outros mediadores inflamatórios, influenciam na secreção de muco pelas glândulas submucosas além de aumentar a permeabilidade vascular com exsudação do plasma para o lúmen. Entre os principais mediadores estão as citocinas como a interleucina 4 (IL-4), interleucina 13 (IL-13), interleucina 5 (IL-5) e interleucina 10 (IL-10) (CAMINATI *et al.*, 2018).

**FIGURA 1** – Resposta imune do tipo TH2 após exposição a um alérgeno na asma atópica.

**Sensibilização**



**Fase efetora**



Fonte: Giavina-Bianchi, 2017.

Legenda: Na fase de sensibilização, o epitélio secretará citocinas como a TSLP que participará da ativação de mastócitos e células apresentadora de antígenos. Essas duas células participaram da sensibilização dos linfócitos T para uma resposta TH2, juntamente com o fator de transcrição *GATA3*. Já na fase efetora, com a resposta TH2 instalada, haverá secreção de interleucinas específicas que promoveram a estimulação dos plasmócitos para produção de IgE e o recrutamento de eosinófilos, para a fase tardia e a ativação de mastócitos para a fase imediata.

### 3.4 FATORES DE TRANSCRIÇÃO DA RESPOSTA TH2

No que se refere a asma atópica, é importante destacar que sua cascata de inflamação se dar por intermédio de uma resposta imunológica do tipo 2 que é conduzida pelos linfócitos B e células TH2 (MUEHLING, Lyndsey M. *et al.*, 2020). Os linfócitos B são células responsáveis pela resposta imunológica denominada

humoral, no qual será caracterizada pela liberação de anticorpos que vão agir diminuindo ou destruindo os antígenos contra os quais foram gerados. Dentre os principais anticorpos, pode-se citar a imunoglobulina E (IgE), que participará ativamente do processo inflamatório na asma atópica. Os linfócitos B são ativados através de uma ligação estabelecida pelos antígenos com os receptores de células B, que apresentaram fragmentos deste alérgeno ao receptor de células T (complexo CD40), por intermédio de citocinas do tipo IL-4 e IL-13, secretadas por células TH2. Neste processo, haverá uma indução da proliferação e diferenciação dos linfócitos B para que as imunoglobulinas específicas do tipo IgE sejam liberadas e possam agir contra o antígeno apresentado e na promoção da inflamação tecidual (JÚNIOR *et al.*, 2010; ULAMBAYAR *et al.*, 2019).

Por outro lado, a ação promovida pela IgE será de enorme importância para o processo inflamatório na asma. Quando a IgE é liberada, ela se ligará a receptores de alta afinidade (FceRI) que podem ser encontrados principalmente em células como mastócitos e basófilos e, na presença de antígenos específicos, eles irão promover a degranulação e sua consequente liberação de mediadores inflamatórios pré-formados, que inclui histaminas, prostaglandinas e citocinas IL-4, IL-5 e IL-13, que nas vias respiratórias inferiores resultam em um processo de eosinofilia, com aumento da produção de muco e a consequente contração do músculo liso (ASBAI, 2018).

Nesse contexto, se destaca também as células TH2 que são ativadas após a liberação de citocinas oriundas do tecido epitelial lesionado (TSLP, IL-25 e IL-33) e juntamente com a ativação de células linfoides inatas do tipo 2 (ILC2), promoveram a indução da produção de citocinas do tipo 2. As ILC2 exercem fator crucial tanto na produção de citocinas do tipo 2, quanto na ativação de células mieloides como os eosinófilos. Um estudo realizado em 2010 foi capaz demonstrar que as ILC2 são capazes de produzir IL-5, IL-13 e até IL-4, em menores quantidades, independentes das células TH2. Ele ainda demonstrou que essas células são a única fonte de IL-13 no pulmão, independentes de linfócitos B e T, e que, as citocinas liberadas por ela conseguem se ligar a receptores específicos de eosinófilos, células dendríticas e ainda mastócitos (ou macrófagos) e basófilos através de cadeia  $\beta$  comum, cadeia IL-5R $\alpha$ , cadeia IL-9R $\alpha$  dentre outras, sendo todas as ILC2 controladas pelo programa de transcrição que compartilham com células T, a exemplo do *GATA3*, além de

fatores de transcrição específicos, como por exemplo o ROR $\alpha$  nas ILC2 (FERNANDES 2021; BOONPIYATHAD *et al.*, 2019).

### 3.5 IMPORTÂNCIA DO GATA3 E POLIMORFISMOS GENÉTICOS NA ASMA

Por se tratar de uma doença heterogênea e que o fator hereditário, isso é, a questão genética encontra-se bem atrelada ao desenvolvimento da doença, torna-se necessária e relevante a determinação de fatores genéticos envolvidos na asma. Dessa forma, o impacto dos polimorfismos genéticos no manejo da patologia é um fator crucial que aprofunda a discussão sobre a sua fisiopatologia e pode nortear novos caminhos no controle da asma (EL-HUSSEINI *et al.*, 2020).

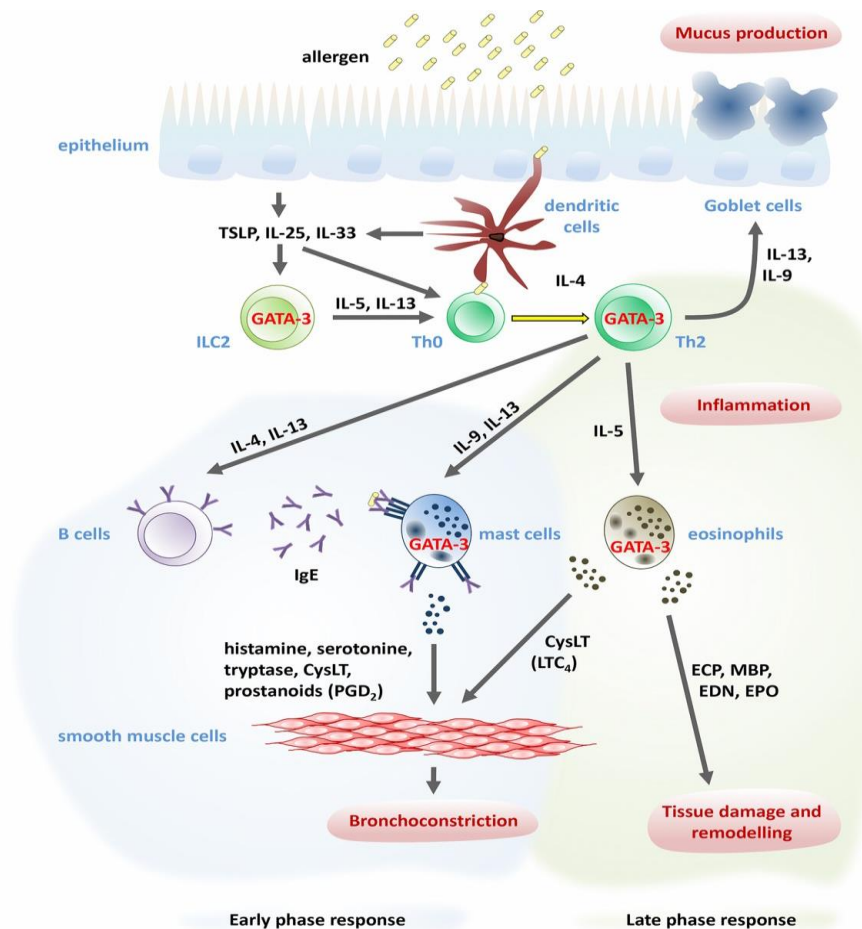
Embora não seja totalmente conhecida os impactos dos polimorfismos, sabe-se de sua importância no desenvolvimento da asma. Especificamente, o polimorfismo de nucleotídeo único (SNP) se define como uma alteração de uma só base de nucleotídeo no seguimento de DNA tanto na porção que é codificada (exons), quanto na não codificada (introns) (GAUDILLO *et al.*, 2019); diversas iniciativas a exemplo do HapMap buscam mapear polimorfismos de genes que participam da promoção de doenças e de respostas individuais ao tratamento farmacológico (OLIVEIRA *et al.*, 2011).

Um estudo realizado em 2006 apontou um possível envolvimento de SNP no gene IL-4 para o desenvolvimento da asma e da regulação sérica total de IgE. Uma outra pesquisa realizada pelo Estudo de Associação Genômica (do inglês *Genome-Wide Association Study - GWA*) sobre asma, caracterizou mais de 317 mil SNP no DNA de 994 paciente com asma de início na infância, demonstrando que há múltiplos marcadores, sobretudo no cromossomo 17q21, com associações fortes e consistentes na asma infantil, elevando ainda mais a importância desse estudo para o entendimento da doença (LEONARDO *et al.*, 2008).

Quanto a fisiopatologia envolvida na cascata de reação da asma, outro elemento de elevada significância é a IL-5. Esta é expressa, em sua maioria, por células T e em menor grau pelos mastócitos e eosinófilos. Essa expressão é regulada por elementos reguladores, no qual o principal deles é o fator de transcrição de ação “trans” específico de células T (*GATA3*), responsável pela ativação de citocinas do tipo TH2. Estudos envolvendo o gene que codifica o *GATA3* demonstrou que ele apresenta elevada crucialidade no que diz respeito a expressão

da IL-5, além de demonstrar que o *GATA3* sozinho é capaz de ativar o promotor dessa citocina em um não produtor de IL-5. Contudo, um estudo realizado com pacientes asmáticos demonstrou que o gene *GATA3* apresenta uma expressão significativamente aumentada nesses pacientes quando comparado a indivíduos normais e portadores de tuberculose, sugerindo que a expressão de *GATA3* é de enorme relevância para a patogênese da asma (MARITTA *et al.*, 2005; NAKAMURA *et al.*, 1999).

**FIGURA 2** – Papel do gene *GATA3* nos mecanismos patológicos da Asma alérgica.



Fonte: GARN, 2016.

Legenda: Após os alérgenos entrarem em contato com o epitélio, as células dendríticas das vias aéreas apresentam o alérgenos às células Th0, enquanto paralelamente as ILC2 se desenvolvem e são ativadas sob a influência de citocinas derivadas do epitélio, como TSLP, IL-25 e IL-33. Nesse ambiente, as células Th0 se diferenciam em células Th2. Como fator de transcrição principal para diferenciação e ativação de Th2 e ILC2, o *GATA3* é necessário e suficiente para a produção de citocinas Th2, como IL-4, IL-5, IL-9 e IL-13. Ao liberar essas citocinas, as células Th2 acionam vários mecanismos efetores, como a produção de IgE pelas células B, com subsequente ligação aos mastócitos. Os mastócitos liberam imediatamente uma variedade de mediadores pré-formados após a ligação cruzada dos receptores de IgE pelo reconhecimento do alérgeno, levando à contração do

músculo liso com subsequente estreitamento das vias aéreas e vazamento vascular, representando em conjunto a resposta asmática da fase inicial. Além disso, as citocinas derivadas de Th2 levam ao recrutamento e ativação de células inflamatórias, preferencialmente eosinófilos e linfócitos, estabelecendo assim uma inflamação alérgica local (representando principalmente a resposta asmática de fase tardia).

## 4 OBJETIVOS

### 4.1 OBJETIVO GERAL

- Investigar polimorfismos genéticos no gene *GATA3* associados com marcadores de atopia e fenótipos de asma em uma população de indivíduos do programa para o Controle de Asma e Rinite na Bahia, localizado em Salvador-BA.

### 4.2 OBJETIVO ESPECÍFICO

- Descrever a frequência de SNP no gene *GATA3* em indivíduos asmáticos e não-asmáticos;
- Avaliar a influência de SNP no gene *GATA3* com fenótipos de asma;
- Avaliar a associação entre polimorfismos no gene *GATA3* com teste cutâneo e IgE específica;
- Associar os polimorfismos no gene *GATA3* com a dosagem de IgE total e citocinas;
- Analisar interferências dos SNP em motivos com associações para asma.

## 5 MATERIAIS E MÉTODOS

Este trabalho é um estudo observacional analítico do tipo caso controle e foi desenvolvido com a participação de voluntários do Programa para Controle da Asma e Rinite na Bahia (ProAR), coordenado pelo Prof. Dr. Álvaro Cruz.

### 5.1 CARACTERIZAÇÃO DA POPULAÇÃO DO ESTUDO

O presente estudo foi conduzido com 1084 indivíduos provenientes do Programa para o Controle da Asma na Bahia (ProAR) e estes foram divididos nos seguintes grupos:

a) Pacientes com asma grave - Foram incluídos 365 pacientes com asma grave, de ambos os gêneros.

b) Controle (pacientes com asma leve) - Foram avaliados 383 pacientes controle com asma persistente leve ou intermitente, pareados aos casos por gênero, idade e nível socioeconômico.

c) Controle (pacientes sem asma) - Foram incluídos 336 indivíduos pareados aos casos por gênero, idade, nível socioeconômico. Estes pacientes foram submetidos a uma consulta médica para avaliação da sua condição de saúde complementada por exames básicos de saúde.

### 5.2 DEFINIÇÃO DOS POLIMORFISMOS DE ASMA

Para definir asma, os médicos observaram sintomas como sibilos recorrentes, tosse ou dispneia e procuraram evidências de a melhora dos sintomas após o uso de corticosteróides inalatórios ou broncodilatadores. Todos os indivíduos foram submetidos à radiografia de tórax, conforme descrito por Jesus *et al.*, (2018) e Lima-Matos *et al.*, (2018). A definição do controle da asma foi feita por meio do Asthma Control Questionnaire versão de 6 itens (ACQ-6) adaptado para o português (Leite *et al.*, 2008).

A falta de reversibilidade foi estabelecida com base nos critérios da GINA, 2002, com o percentual de variação do Volume Expiratório Forçado 1 (%VEF1) antes e após o 70 L. Indivíduos com variação relativa  $\% \Delta \text{VEF1} < 12\%$  e/ou variação absoluta  $< 200\text{mL}$  foram considerados casos (não revertem) e com  $\% \text{FEV1} > 12\%$  e/ou  $> 200\text{mL}$  foram considerados controles (revertem). A obstrução foi definida pela razão entre VEF1/CVF (Capacidade Vital Forçada) pós uso do broncodilatador abaixo de 70% para os casos (com obstrução) e igual ou acima de 70% para os controles (sem obstrução) de acordo com critérios adotados pelos relatórios de DPOC.

### 5.3 EXTRAÇÃO DO DNA GENÔMICO

Foi realizada a extração do DNA a partir de amostras de sangue de acordo com o protocolo do kit Flexigene® Blood Kit (Qiagen).

### 5.4 GENOTIPAGEM

Os dados de genotipagem foram obtidos através do painel comercial Illumina Multi Ethnc Global Array – MEGA chip ([www.illumina.com](http://www.illumina.com)) com aproximadamente 1.8 milhões de marcadores. Dentre estes marcadores foram selecionados os SNP presentes no gene *GATA3*.

### 5.5 IMPUTAÇÃO

A imputação de todo o genoma foi realizada através do Michigan Imputation Server (<https://imputationserver.sph.umich.edu>). Os SNP imputados foram submetidos a um controle de qualidade usando parâmetros de exclusão como  $\text{Rs} < 0,80$ , taxa de chamada  $< 0,95$  e contagem de alelos menores (MAC)  $< 10$  (Daya *et al.*, 2019).

### 5.6 VARIÁVEIS E MARCADORES UTILIZADOS NOS ESTUDOS DE ASSOCIAÇÃO COM VARIÁVEIS GENÉTICAS EM *GATA3*

Todos os ensaios abaixo foram, anteriormente, determinados pelo grupo do prof. Dr. Álvaro A. Cruz (FAMED/UFBA). -Testes alérgicos: Todos os casos e

controles foram submetidos a testes cutâneos de punctura (SPT, do inglês *Skin Prick Test*) para os alérgenos inaláveis mais comuns em nossa região (ácaros - *D. pteronyssinus*, *D. farinae*, *B. tropicalis*; barata - *P. americana* e *B. germanica*; fungos – *A. Fumigatus* e *P. notatum*; gramínea) (Immunotech, Brazil). O teste foi considerado positivo quando a média dos maiores diâmetros perpendiculares (excluindo pseudópodos) foi ao menos 3 mm maior que o controle negativo. Os controles negativos e positivos utilizados foi solução salina 0,9% e histamina, respectivamente.

### 5.7 DOSAGEM DE IGE TOTAL E ESPECÍFICA

A dosagem de IgE total foi realizada pela técnica da Nefelometria de acordo com as instruções do fabricante ( Nefelômetro - BN II Siemens). Já a dosagem de IgE específica foi realizada para alérgenos de baratas, ácaros, fungos, gramínea. Para isso foram realizadas dosagens pela técnica do ImunoCAP de acordo com as instruções do fabricante (ImunoCAP Tests – Thermo Fisher Scientific).

### 5.8 DOSAGEM DE CITOCINAS

Amostras de plasma viáveis de 664 indivíduos com asma foram testadas para as citocinas IL-5, IL-10, IL-13 e eotaxina usando o kit MILLIPLEX® (Merck, Alemanha), seguindo as instruções do fabricante. O teste foi realizado no sistema Luminex MAGPIX® (Life Technology , EUA).

### 5.9 CONTAGEM DE EOSINÓFILOS

Uma contagem de eosinófilos no sangue periférico acima de 150 células/mm<sup>3</sup> foi adotada para caracterizar o fenótipo eosinofílico da asma (GINA, 2020). A contagem de eosinófilos no sangue foi obtida por meio de análises hematológicas utilizando o equipamento CELL-DYN Ruby® (Abbott, UK).

### 5.10 ESTRATÉGIA ESTATÍSTICA PARA O ESTUDO DA ASSOCIAÇÃO ENTRE GENÓTIPOS E FENÓTIPOS

As técnicas que foram utilizadas para as análises foram aquelas apropriadas às características do evento em questão, tais como a regressão logística (multinomial). Após passar por medidas de controle de qualidade, através da percentagem de genótipos obtidos (taxas de erros <10%), equilíbrio de HardyWeinberg ( $p > 0,05$ ), estratificação populacional e imputação genotípica, os SNP considerados neste estudo e que foram classificados como de alta-qualidade (MAF >1%) entraram no estágio de análises de associação. Inicialmente realizou-se um teste de normalidade e qui-quadrado entre os casos e controles de acordo com as variáveis do estudo para a obtenção de variáveis de ajuste (covariáveis). Também foram analisados os fenótipos escolhidos em 3 modelos genéticos (aditivo, dominante e recessivo) para cada SNP. Valores p empíricos foram gerados através de permutação utilizando o software PLINK 1.9. Para testes de associação ajustados, utilizou-se regressão logística corrigindo para as covariáveis apropriadas.

Também foram realizadas comparações de médias e medianas entre os genótipos dos SNP para as variáveis quantitativas (IgE total, eosinófilos e citocinas) utilizando o software Graph Pad Prim 8.

Todos os SNP com associações significativas ( $p > 0,05$ ) foram submetidos às análises funcionais através das plataformas NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>), Regulome DB (<https://regulomedb.org/regulome-search/>), portal Gtex (<https://gtexportal.org/home/>) e HaploReg (<https://pubs.broadinstitute.org/mammals/haploreg/haploreg.php>), para determinação dos motivos em que os SNP podem ter interferências.

## 5.11 SELEÇÃO DOS POLIMORFISMOS ENCONTRADOS

Para a triagem dos SNP que passaram pelo controle de qualidade, foi estabelecido que seriam selecionados os polimorfismos encontrados com 2 ou mais associações nas variáveis analisadas em asma, atopia, dosagem de IgE e citocinas.

## 5.12 ASPECTOS ÉTICOS

A pesquisa foi submetida à Comissão de Trabalho de Conclusão de Curso do Colegiado de Farmácia da Universidade do Estado da Bahia, visto como norma exigida da academia.

As Diretrizes e Normas Regulamentadoras de Pesquisa Envolvendo Seres Humanos - Resolução no466/2012 do Conselho Nacional de Saúde e os princípios da bioética (autonomia, não-maleficência, beneficência e justiça) foram respeitados e atendidos conforme exigência (CNS, 2012). Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Maternidade Climério de Oliveira (MCO/UFBA), parecer nº. 095/2012.

#### 5.13 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

- Maiores de 18 anos;
- Residentes em Salvador-BA;
- Possuir ao menos 1 ano de acompanhamento pelo ProAR;
- Para o grupo asmático, ter diagnóstico confirmado segundo a classificação da Iniciativa Global contra a Asma;
- Para o grupo controle, não possuir nenhum histórico de problemas respiratórios.

#### 5.14 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

- Tabagista prévio ou atual > 10 anos/maço;
- Outras doenças pulmonares e outros problemas de saúde;
- Gestantes;
- Não fazer acompanhamento pelo ProAR;

## 6 RESULTADOS

### 6.1 CARACTERIZAÇÃO DA POPULAÇÃO DO ESTUDO

Para a tabela de caracterização da população foi descrito as variáveis e covariáveis categóricas, segundo as associações encontradas para o grupo de não asma vs asma e asma leve vs asma grave, afim de demonstrar resultados quantitativos dos elementos analisados nas associações e seus respectivos valores de p após realização de uma análise de qui-quadrado, com os valores demonstrados na tabela 1.

**Tabela 1.** Caracterização da população de estudo de acordo com a presença ou não de asma, classificação por grupo (leve e grave) e as variáveis e covariáveis categóricas incluídas.

	Não Asma n=336	Asma n=749	Valor de p	Asma leve n=383	Asma Grave n=365	Valor de p
<b>Sexo</b>						
Masculino	48 (14.3%)	154 (20.7%)	0.014	86 (22.5%)	69 (18.8%)	0.206
Feminino	288 (85.7%)	594 (79.3%)		297 (77.5%)	297 (81.2%)	
<b>Fumo</b>						
Não	211 (62.8%)	491 (65.5%)	0.164	259 (67.6%)	232 (63.4%)	0.033
Sim	125 (37.2%)	238 (31.8%)		105 (27.4%)	133 (36.3%)	
<b>Teste cutâneo para fungo</b>						
Negativo	249 (74%)	545 (72.8%)	< 0.001	286 (74.7%)	259 (70.8%)	0.045
Positivo	10 (3%)	73 (9.8%)		48 (12.5%)	25 (7%)	
<b>Teste cutâneo para ácido</b>						
Negativo	196 (59,1%)	257 (34,3%)	< 0.001	121 (31,5%)	136 (37,2%)	0.003
Positivo	63 (18,8%)	360 (48,1%)		213 (55,8%)	147 (40,2%)	
<b>Teste cutâneo para barata</b>						
Negativo	235 (70%)	462 (61,7%)	< 0.001	242 (63,1%)	220 (60,2%)	0.137
Positivo	24 (7,1%)	155 (20,7%)		92 (24%)	63 (17,2%)	

Teste cutâneo para gramínea						
Negativo	254 (75,6%)	568 (75,8%)	< 0.001	308 (80,1%)	260 (71,2%)	0.882
Positivo	5 (1,5%)	49 (6,4%)		26 (6,8%)	23 (6,3%)	
IgE Específica <sup>1</sup>						
Normal	67 (20%)	168 (22,6%)	0.033	86 (22,5%)	83 (22,7%)	1.000
Alterado	81 (24%)	306 (40,8%)		158 (41,2%)	148 (40,4%)	
Eosinofilia <sup>2</sup>						
Normal	115 (34,2%)	266 (35,5%)	0.782	130 (34%)	136 (37,2%)	0.357
Elevado	211 (62,8%)	467 (62,3%)		246 (64,2%)	221 (60,5%)	

1-Para a medida de IgE específica sérica, foi considerado valores > 172 UI/mL. 2-Para a definição de eosinofilia, foi considerado elevado contagens de células > 150 células/mm<sup>3</sup>. **IgE- Imunoglobulina E.**

Com os resultados apresentados, pode-se destacar que para o grupo de não asma vs asma as variáveis e covariáveis que apresentaram valores de  $p < 0,05$  foram em sexo, testes cutâneos e IgE específica, sendo os demais demonstrados valores de  $p$  acima de 0,05. Para o grupo de asma leve vs asma grave, destaca-se a covariável de fumante e a variável de teste cutâneo para fungo e açúcar com valores de  $p$  menores que 0,05, sendo o teste cutâneo para fungo o responsável por apresentar o melhor resultado em 0,003.

## 6.2 DESCRIÇÃO DOS SNP ASSOCIADOS AO GENE GATA3

Nessa análise, inicialmente obtinham-se 352 polimorfismos, no qual foram submetidas ao controle de qualidade, para analisar SNP e indivíduos com taxa de erro de dados da genotipagem maior que 10% (GENO; 0,1 e MIND 0,1). Nenhum polimorfismo ou participante foi excluído nesses parâmetros. No entanto, no parâmetro equilíbrio Hardy-Weinberg (HWE) tiveram 19 SNP removidos assim como na frequência do menor alelo (MAF) foram removidos 177 polimorfismos sendo, portanto, encontrado 156 SNP relacionados ao gene *GATA3*, no qual todos apresentaram valores de  $p$  menor que o pré-estabelecido de 0,05.

Após a imputação foram analisados 1107 indivíduos, no qual 754 foram representantes do grupo de casos e 343 eram controles. No controle de qualidade

houve 23 participantes removido em decorrência da ausência de dados de genotipagem. Baseado nessas informações, a tabela 2 apresenta as principais informações genéticas dos SNP que passaram pelo controle de qualidade e foram encontrados no gene *GATA3*.

**Tabela 2.** Caracterização dos SNP do gene *GATA3* com associações significativas.

SNP	Alelos (A1>A2)	HWE	MAF	RegulomeDB	Anotação funcional <sup>1</sup>	Marcadores de histona no pulmão <sup>2</sup>	Motifis Alterados <sup>2</sup>
rs2798835	A>G	0.40	0.04	3a	Intron Variant	H3K27ac_Enh	LUN-1; NRSF; SRF; AA1
rs3824662	A>C	0.67	0.17	1f	Intron Variant	H3K4me1_Enh; H3K27ac_Enh	NF-1; NRSF; Pax-6; Zbtb
rs11567902	T>C	0.65	0.04	4	Intron Variant	H3K4me1_Enh; H3K4me3_Pro; H3K27ac_Enh	AP-1; Mtf1
rs10905278	A>G	1	0.01	4	Intron Variant	H3K4me1_Enh; H3K4me3_Pro; H3K27ac_Enh	GATA; ZID
rs11255501	A>C	0.27	0.02	4	Intron Variant	H3K4me1_Enh; H3K4me3_Pro	E2F; Myc
rs1269486	A>G	0.68	0.24	4	Intron Variant	-	-
rs183890714	G>T	1	0.01	3a	3 prime UTR Variant	-	-

1-Fonte: National Center for Biotechnology Information (NCBI); 2- Fonte: HaploReg. **CHR:** Cromossomo; **SNP:** Polimorfismo de Nucleotídeo Único; **A1:** Alelo Polimórfico; **A2:** Alelo Selvagem; **MAF:** Frequência de Menor Alelo; **HWE:** Equilíbrio de Hardy-Weinberg.

Pode-se observar que foram encontrados 7 SNP após a seleção dos polimorfismos que passaram pelo controle de qualidade, no qual todos apresentaram seu HWE que informa que não há um desequilíbrio nessa população e, juntamente com a frequência do menor alelo, tornam essas polimorfismo aptas para realização das análises seguintes.

Os resultados de RegulomeDB demonstraram que os polimorfismos rs11567902, rs10905278, rs11255501 e rs1269486 encontram-se na mesma posição desse ranking (número 4), indicando que esses SNP possuem as evidências mínimas para interferência dos polimorfismos nas ligações funcionais, portanto, sendo os menos prováveis de alterar as funções do gene. Já os polimorfismos rs2798835 e rs183890714 ocupam a posição 3a, no qual se apresenta com uma evidência de probabilidade mínima de interferência funcional. Entretanto, o SNP rs3824662 se apresentou com resultados de regulomeDB de 1f,

que se enquadra no grupo que possui fortes indícios de que pode alterar as ligações funcionais do gene. Em quase todos os casos, os SNP são encontrados na região intrônica do gene, portanto, intron variant, sendo o polimorfismo rs183890714 a exceção desse grupo, pois este pode ser encontrado na posição 3 prime UTR. Por fim, destaca-se os SNP rs2798835, rs3824662, rs11567902, rs10905278 e rs11255501 que apresentaram marcas de histona no pulmão com alterações em determinados motivos.

### 6.3 ASSOCIAÇÕES DOS SNP COM RESULTADOS SIGNIFICATIVOS PARA ASMA, OBSTRUÇÃO E EOSINOFILIA.

Na tabela 3 está apresentado os resultados significativos dos SNP quando relacionado a variáveis de asma, obstrução e eosinofilia. Os polimorfismos encontrados foram rs2798835, rs11567902, rs3824662, onde todos apresentaram resultados para os modelos dominante, sendo o último apresentando também para o modelo aditivo e recessivo.

Nessa tabela 3 ainda foi exposto os resultados de Odds Ratio (OR) em que todos tiveram uma associação positiva ( $OR > 1$ ), com intervalos de confiança (IC) de 95% que os tornam elegíveis e, resultados de p e p perm abaixo de 0,05. Os números de casos e controles foram expostos na forma total e percentual, correlacionando-os aos seus respectivos genótipos

**Tabela 3.** Associação dos SNP no gene *GATA3* com endofenótipos de asma por regressão logística

SNP	Modelo	Genótipos	Controles n (%)	Casos n (%)	OR (IC 95%)	Valor p (perm)
<b>Não Asma vs. Asma<sup>1</sup></b>						
rs2798835	DOM	GG	324 (94,5%)	691 (91,6%)	1.75 (1.01-3.03)	0.045 (0.046)
		AG/AA	19 (5,5%)	63 (8,4%)		
<b>Não obstrução vs. Obstrução<sup>2</sup></b>						
rs2798835	DOM	GG	926 (92,9%)	52 (83%)	6.33 (1.98-20.19)	0.002 (0.002)
		AG/AA	71 (7,1%)	11 (17%)		

Asma Grave Eosinofílica vs. Asma Grave não eosinofílica <sup>3</sup>						
rs2798835	DOM	GG	365 (94,9%)	625 (91%)	1.79 (1.06-3.03)	0.028 (0.033)
		AG/AA	20 (5,1%)	62 (9%)		
rs3824662	ADD	CC	274 (71,1%)	462 (67,3%)	1.29 (1.01-1.64)	0.041 (0.044)
		AC	107 (27,9%)	196 (28,5%)		
		AA	4 (1%)	29 (4,2%)		
	REC	CC/AC	381 (99%)	658 (95,8%)	4.20 (1.46-12.05)	0.007 (0.003)
		AA	4 (1%)	29 (4,2%)		
rs11567902	DOM	CC	367 (95,3%)	627 (91,3%)	1.94 (1.12-3.36)	0.017 (0.020)
		TC/TT	18 (4,7%)	60 (8,7%)		

1-Ajustado para componente principal de ancestralidade, sexo, índice de massa corporal e volume expiratório forçado 1; 2-Ajustado para componente principal de ancestralidade, idade e volume expiratório forçado 1; 3- Ajustado para componente principal de ancestralidade. **SNP**: Polimorfismo de Nucleotídeo Único; **OR**: Odds Ratio; **IC**: Intervalo de Confiança; **ADD**: Aditivo; **DOM**: Dominante; **REC**: Recessivo.

Pode-se observar que o SNP rs2798835 foi encontrado nas análises de comparação entre os grupos de Não Asma vs Asma, com uma OR de 1.75 e seu valor de p permutacional igual a 0.050 para o modelo aditivo e 0.046 para o modelo dominante. Ele também foi encontrado na análise comparativa entre a variável de Não Obstrução vs Obstrução, apresentando OR de 6.33 e seu valor de P perm de 0.001 e 0.002 no modelo dominante. Além disso, o referido SNP também foi encontrado na variável de Asma Grave Eosinofílica vs Não Eosinofílica com uma OR de 1.79 e o p permutacional de 0.033.

O SNP rs3824662 foi associado a positivamente a asma grave eosinofílica vs não eosinofílica, com OR de 1.29 (p perm = 0.044) no modelo aditivo e OR de 4.20

(p perm = 0.03) no modelo recessivo. Ainda foi encontrado nessa variável o polimorfismo rs11567902 no dominante com OR positiva de 1.94 (p perm = 0.020).

#### 6.4 ASSOCIAÇÃO DOS SNP COM RESULTADOS SIGNIFICATIVOS PARA TESTE CUTÂNEO

Foi apresentado na Tabela 4 os resultados significativos para os testes cutâneos (SPT) realizados, descritos em associação para os principais alérgenos, sendo esses barata, ácaro, fungo e gramínea, correlacionando-os com a existência ou não de atopia. Os SNP encontrados foram rs11567902, rs11255501, rs183890714, rs3824662, rs10905278 e rs126948. Todos eles foram associados de forma positiva e negativa à atopia através de seus devidos resultados de OR expostos, juntamente com os intervalos de confiança que também se apresentou de forma relevante, qualificando os resultados e atrelado aos valores de p e p perm, tornando esses SNP elegíveis.

**Tabela 4.** Associação de SNP do gene *GATA3* e teste cutâneo positivo para pelo menos uma espécie testada por regressão logística.

SNP	Modelo	Genótipos	Controles n (%)	Casos n (%)	OR (IC 95%)	Valor p (perm)
<b>Não atópico vs. Atópico<sup>1</sup></b>						
rs11567902	DOM	CC	374 (94,8%)	432 (91,5%)	2.14 (1.20-3.82)	0.009 (0.009)
		TC/TT	21 (5,2%)	40 (8,5%)		
rs11255501	DOM	CC	386 (98,5%)	353 (95%)	2.75 (1.06-7.13)	0.037 (0.033)
		AC/AA	6 (1,5%)	19 (5%)		
rs183890714	DOM	TT	378 (95,7%)	467 (99,2%)	0.22 (0.08-0.62)	0.004 (0.002)
		GT/GG	17 (4,3%)	5 (0,8%)		
<b>Teste cutâneo positivo para pelo menos uma espécie de fungo<sup>2</sup></b>						

rs3824662	ADD	CC	558 (69,7%)	49 (59%)	1.56 (1.06 - 3.30)	0.023 (0.024)
		AC	223 (27,8%)	29 (35%)		
		AA	20 (2,5%)	5 (0,6%)		
rs10905278	DOM	GG	789 (98,5%)	76 (91%)	6.01 (2.28 - 15.58)	0.0002 (0.001)
		AG/AA	12 (1,5%)	7 (9%)		
<b>Teste cutâneo para pelo menos uma espécie de ácaro<sup>3</sup></b>						
rs10905278	DOM	GG	455 (99%)	410 (96,7%)	3.22 (1.12 - 9.31)	0.030 (0.028)
		AG/AA	5 (1%)	14 (3,3%)		
rs183890714	DOM	TT	442 (96,1%)	420 (99%)	0.21 (0.07 - 0.66)	0.007 (0.003)
		GT/GG	18 (3,9%)	4 (1%)		
<b>Teste cutâneo para pelo menos uma espécie de barata<sup>4</sup></b>						
rs11255501	DOM	CC	690 (97,9%)	167 (93,2%)	3.28 (1.49 - 7.19)	0.003 (0.003)
		AC/AA	15 (2,1%)	12 (6,8%)		
rs1269486	ADD	GG	114 (63,6%)	403 (57,2%)	0.70 (0.52 - 0.94)	0.017 (0.012)
		AG	62 (34,6%)	254 (36%)		
		AA	3 (1,8%)	48 (6,8%)		
	REC	GG/AG	176 (98,2%)	657 (93,2%)	0.23 (0.07 - 0.76)	0.015 (0.015)
AA	3 (1,8%)	48 (6,8%)				
<b>Teste cutâneo para pelo menos uma espécie de gramínea<sup>5</sup></b>						
rs10905278	DOM	CC	815 (98,2%)	50 (93%)	3.28 (1.49 - 7.19)	0.003 (0.003)

AC/AA	15 (1,8%)	4 (7%)
-------	--------------	-----------

---

1 e 6-Ajustado para componente principal de ancestralidade, sexo, fumo, idade e volume expiratório forçado 1; 2 e 5-Ajustado para componente principal de ancestralidade; 3- Ajustado para componente principal de ancestralidade, sexo, idade e volume expiratório forçado 1; 4-Ajustado para componente principal de ancestralidade, idade e volume expiratório forçado 1. **SNP**: Polimorfismo de Nucleotídeo Único; **OR**: Odds Ratio; **IC**: Intervalo de Confiança; **ADD**: Aditivo; **DOM**: Dominante; **REC**: Recessivo.

O SNP rs11567902 foi associado positivamente a atopia, apresentando uma OR de 2.14 ( $p_{perm} = 0.009$ ) para o modelo dominante. Já o polimorfismo rs11255501 foi associada também de modo positivo com a ocorrência de atopia, com OR 2.75 ( $p_{perm} = 0.033$ ) para dominante. Ainda foi encontrado resultados significativos para o teste cutâneo para pelo menos uma espécie de barata, onde este apresentou resultados no mesmo modelo citados anteriormente e foi observado OR de 3.28 ( $p_{perm} = 0.003$ ).

O SNP rs3824662 foi associado com o teste cutâneo para pelo menos uma espécie de fungo, com OR de 1.56 ( $p_{perm} = 0.024$ ), sendo encontrado significativamente apenas pelo modelo aditivo. Já a polimorfismo rs10905278 relacionada positivamente com os testes cutâneos para pelo menos uma espécie de gramínea, ácaro e fungo, com suas respectivas OR de 3.28, 3.22 e 6.01 para o modelo dominante. Nas três associações os valores de  $p_{perm}$  foram satisfatórios e categórico para a importância dos resultados destacados.

Por fim, foi encontrado o SNP rs1269486 associado de forma negativa ao teste cutâneo para pelo menos uma espécie de barata, apresentando valores de OR de 0,70 ( $p_{perm} = 0.012$ ) para o modelo aditivo e 0,23 ( $p_{perm} = 0.015$ ) para o modelo recessivo.

## 6.5 ASSOCIAÇÃO DOS SNP COM RESULTADOS SIGNIFICATIVOS PARA DOSAGEM DE IGE

Para os resultados de dosagem de IgE foram compilados na tabela 5, utilizando dosagem de IgE total e específica para ácaros, baratas, fungos e gramíneas. Foram encontrados resultados significativos para IgE total com o SNP rs3824662 e específica para barata nos SNP rs3824662, rs11255501 e rs1269486. Desses, apenas o SNP rs1269486 apresentou resultados de OR abaixo de 1, sendo nos outros casos uma predominância do OR acima de 1. Em todos os casos foram

encontrados resultados significativos nos modelos aditivos e dominante, com exceção do SNP rs11255501 que demonstrou resultados apenas no modelo dominante, apresentando ainda um intervalo de confiança 95% e valores de p e p perm dentro do limite estabelecido de elegibilidade.

**Tabela 5.** Associação significativa dos SNP do gene *GATA3* para dosagem de IgE por regressão logística.

SNP	Modelo	Genotipos	Controles n (%)	Casos n (%)	OR (IC 95%)	Valor p (perm)
<b>Dosagem de IgE específica reagente para pelo menos um dos alérgenos testados<sup>1</sup></b>						
rs3824662	ADD	CC	176 (73,6%)	251 (64,9%)	1.48 (1.07-2.03)	0.016 (0.015)
		AC	59 (24,7%)	121 (31,2%)		
		AA	4 (2,7%)	15 (4,9%)		
	DOM	CC	176 (73,6%)	251 (64,9%)	1.49 (1.04-2.14)	0.027 (0.032)
		AC/AA	63 (27,4%)	136 (35,1%)		
	<b>Dosagem IgE específica reagente para pelo menos uma espécie de baratas<sup>2</sup></b>					
rs3824662	ADD	CC	362 (71,4%)	72 (57%)	1.71 (1.21-2.41)	0.002 (0.001)
		AC	133 (26,2%)	47 (37,3%)		
		AA	12 (2,4%)	7 (5,7%)		
	DOM	CC	362 (71,4%)	72 (57%)	1.81 (1.20-2.72)	0.004 (0.004)
		AC/AA	145 (28,7%)	54 (43%)		
	rs11255501	DOM	CC	491 (96,8%)	117 (93%)	2.40 (1.03-5.57)
AC/AA			16 (3,2%)	9 (7%)		
rs1269486	ADD	GG	278 (54,8%)	85 (67,4%)	0.70 (0.50-0.98)	0.041 (0.046)

	AG	192 (37,9%)	33 (26,1%)		
	AA	37 (7,3%)	8 (6,5%)		
DOM	GG	278 (54,8%)	85 (67,4%)	0.60 (0.39-0.90)	0.015 (0.020)
	AG/AA	229 (45,2%)	41 (32,6%)		

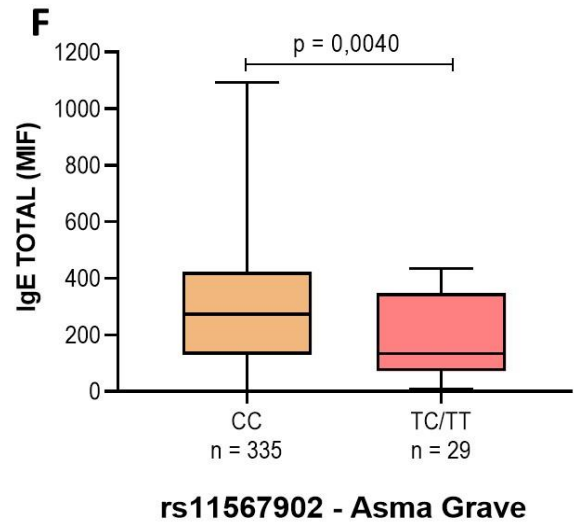
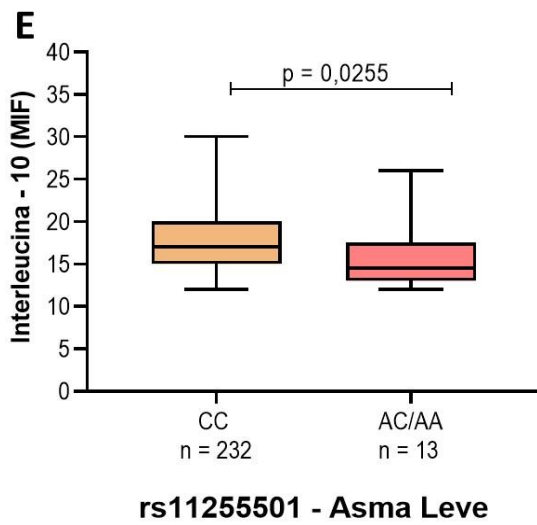
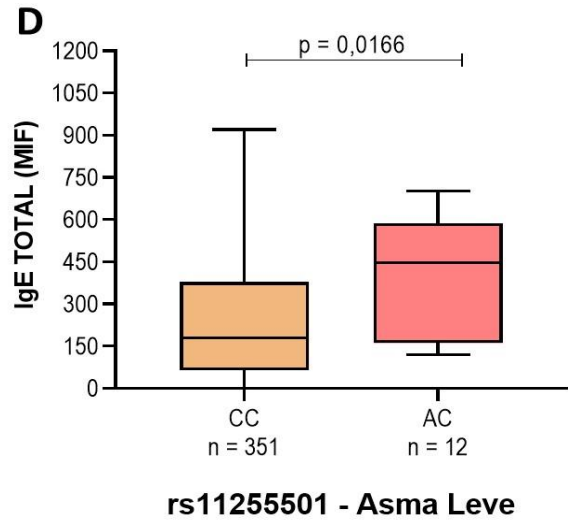
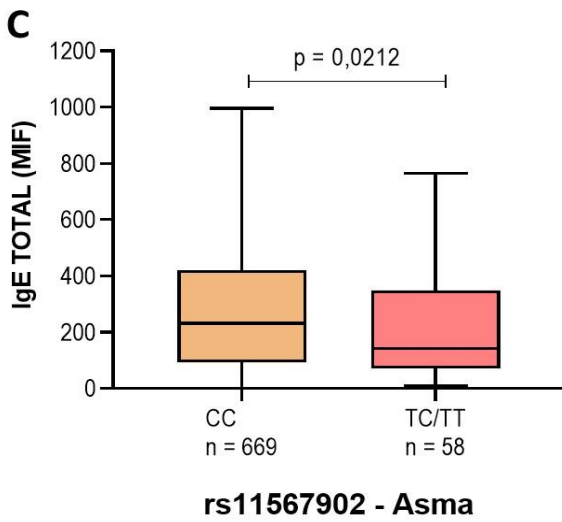
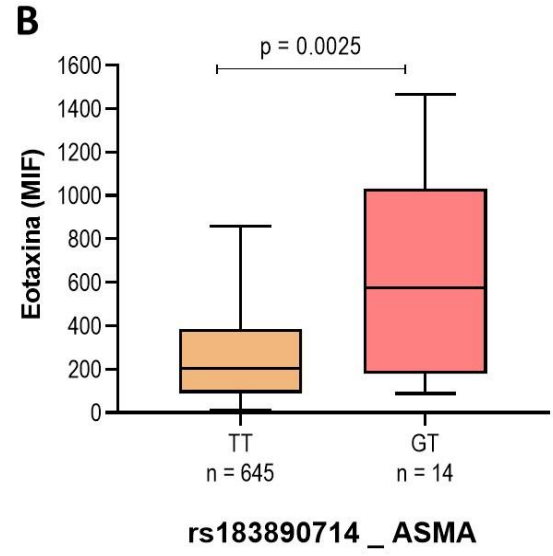
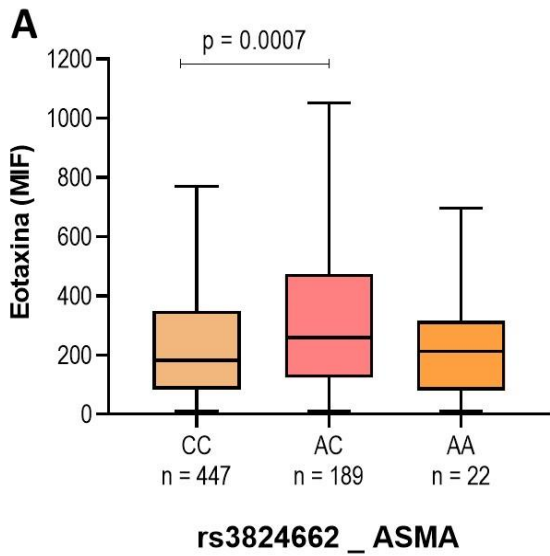
1 e 2- Ajustados para componente principal de ancestralidade. **SNP**: Polimorfismo de Nucleotídeo Único; 3-Ajustado para componente principal de ancestralidade, sexo, idade e volume expiratório forçado 1; **OR**: Odds Ratio; **IC**: Intervalo de Confiança; **ADD**: Aditivo; **DOM**: Dominante; **REC**: Recessivo.

## 6.6 ASSOCIAÇÃO DOS SNP COM RESULTADOS SIGNIFICATIVOS PARA DOSAGEM DE CITOCINA

Foi realizada a dosagem de citocina utilizando a população analisada, no qual foram encontrados os SNP rs3824662 e rs183890714 com resultados significativos para Eotaxina, o SNP rs11567902 e rs11255501 para IgE total, sendo esse último responsável ainda por resultado positivo para IL-10, e novamente para o SNP rs183890714 foi encontrado resultados relevantes na dosagem para IL-5.

Todos os SNP citados foram encontrados por intermédio do programa GraphPad utilizando os resultados do banco de dados do ProAR e gerando os gráficos apresentados a baixo.

**GRÁFICO 2** – Dosagem de citocinas para pacientes com Asma, Asma leve e Asma grave.



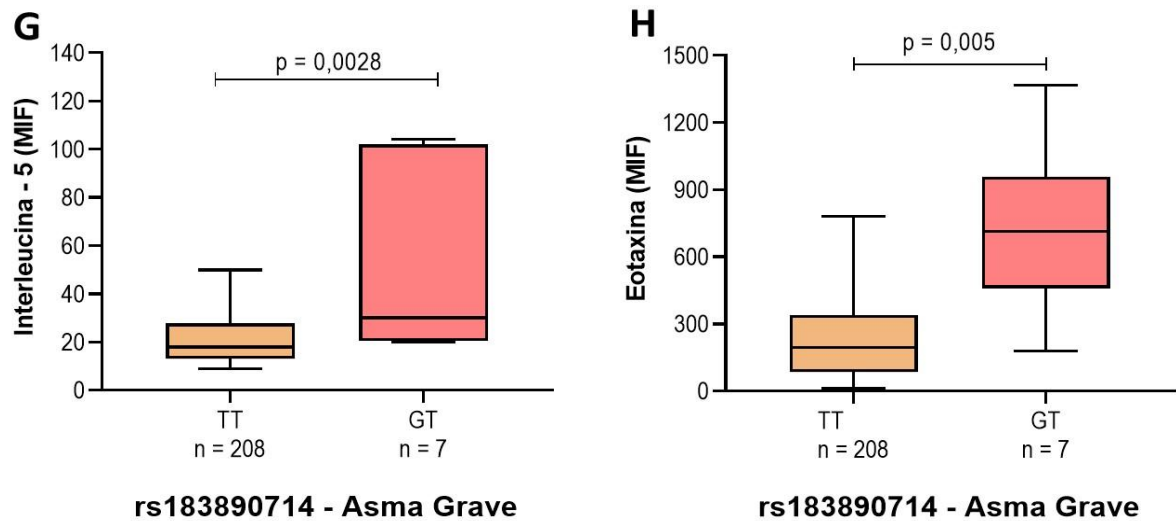


Gráfico 1 – Dosagem de citocinas para Asma, Asma leve e Asma grave.

A) Dosagem plasmática de Eotaxina para o SNP rs3824662 no grupo de asmáticos com valor de p significativo de 0,0007 entre os genótipos homocigotos dominante (CC) e o heterocigoto (AC); B) Dosagem plasmática de Eotaxina para o SNP rs183890714 no grupo de asmáticos com valor de p significativo de 0,0025 para os seus respectivos genótipos; C) Dosagem plasmática de IgE total para o SNP 11567902 no grupo de asmáticos com valor de p significativo de 0,0212 para os seus respectivos genótipos; D) Dosagem plasmática de IgE total para o SNP rs11255501 no grupo de asma leve com valor de p significativo de 0,0166 para os seus respectivos genótipos; E) Dosagem plasmática de IL-10 para o SNP rs11255501 no grupo de asma leve com valor de p significativo de 0,0255 para os seus respectivos genótipos; F) Dosagem plasmática de IgE total para o SNP rs11567902 no grupo de asma grave com valor de p significativo de 0,0040 para os seus respectivos genótipos; G) Dosagem plasmática de IL-5 para o SNP rs183890714 no grupo de asma grave com um p significativo de 0,0028 para os seus respectivos genótipos; H) Dosagem plasmática de Eotaxina para o SNP 183890714 no grupo de asma grave com valor de p significativo de 0,005 para os seus respectivos genótipos.

## 6.7 FREQUÊNCIA DO MENOR ALELO DOS POLIMORFISMOS SEGUNDO CONTINENTES.

Para avaliação da frequência dos polimorfismos nas diversas populações do mundo, foi utilizado a plataforma do HaploReg para avaliar sua incidência, tendo esses resultados apresentados na tabela 6.

**Tabela 6.** Relação dos SNP e seus resultados de MAF segundo continentes

Continentes	rs2798835	rs3824662	rs11567902	rs10905278	rs11255501	rs183890714
<b>América</b>	1	0,34	0	0,05	0	0
<b>África</b>	0,95	0,09	0,05	0	0,03	0,01
<b>Ásia</b>	0,99	0,29	0	0	0	0
<b>Europa</b>	1	0,18	0	0,04	0	0

Fonte: HaploReg

## 7 DISCUSSÃO

Como já citado, o gene *GATA3* codifica um fator de transcrição específico da resposta TH2, portanto, um elemento regulador positivo e específico para citocinas, sobretudo as citocinas IL-4, IL5 e IL-13. Contudo, análises de polimorfismos que estejam atrelados a este gene apresentam-se como um caminho para a determinação de marcadores genéticos em doenças alérgicas, sobretudo a asma.

Nesse sentido, o rs3824662 apresentou associação significativa na variável comparativa entre asma grave eosinofílica vs não eosinofílica, na qual é possível destacar que este polimorfismo demonstra resultados sugestivos de risco para o desenvolvimento de eosinofilia em indivíduos com asma grave, tanto no modelo aditivo quanto recessivo. Este resultado demonstra que indivíduos asmáticos que possuam este SNP tendem a ter níveis de eosinófilos aumentados e, como consequência desse aumento, um maior potencial de desenvolvimento de exacerbação dos sintomas e crises de asma como demonstrado por SOUZA e colaboradores (2022). Foi observado também que em todos seus genótipos (homozigoto dominante, heterozigoto e homozigoto recessivo) foi observado uma diferença significativa entre os casos quando comparados aos controles, atrelado ainda a um aumento de risco de até quatro vezes (OR: 4.2) no modelo recessivo, destacando, portanto, o risco atrelado ao aumento de eosinófilos em pacientes que possuam o alelo A.

Nas análises de teste cutâneo, o rs3824662 apresentou associações de risco em testes cutâneos com fungos. No entanto, quando observado o percentual da presença desse polimorfismo na população do ProAR, foi possível observar que este polimorfismo demonstrou maior presença entre os controles, quando comparados aos casos, demonstrando que embora este SNP esteja associado positivamente a essa variável como fator de risco para o desenvolvimento da asma atópica, sua presença na população analisada em asma não se demonstra com tanta frequência, estando em conformidade com os estudos apresentados por SUTTNER *et al* (2009) que demonstrou o potencial do SNP de desenvolvimento para eczemas, mas sem associações com atopias. Embora os resultados para o SNP em questão, na dosagem de IgE específica para barata, tenha resultados semelhantes ao teste cutâneo, na qual os genótipos tenham maior frequência nos controles quando

comparado aos casos, pode-se destacar que nesta variável, os valores de p encontrados ressaltam a importância que tal polimorfismo tem no desenvolvimento da asma alérgica.

Corroborando com essa importância, o polimorfismo em destaque demonstrou resultados positivos para dosagem de IgE específica para pelo menos um dos alérgenos testados, tendo seus genótipos significativamente maiores entre os casos quando comparado aos controles, demonstrando que o SNP rs3824662 está relacionado ao aumento sérico de IgE nesses pacientes. Também foram encontrados resultados significativos para dosagem de eotaxina com um p significativo entre os alelos CC e AC, demonstrando que a presença desse polimorfismo está diretamente associada a um aumento da expressão dessa citocina, que por sua vez, exerce sua função no recrutamento de eosinófilos. Portanto, os resultados encontrados, atrelados a classificação de regulomeDB, apresentados na tabela 2 (1f), que apontam para uma maior probabilidade de interferência do SNP nas ligações funcionais do gene, demonstram que a presença do alelo A do rs3824662 pode aumentar as chances de desenvolvimento da asma alérgica com perfil inflamatório do tipo eosinofílico, não havendo interações significativas para asma com os motivos que são alterados por esse polimorfismo, conforme apresentado na tabela 2. Embora os dados da literatura sejam escassos relacionando o polimorfismo citado à asma, GUTHIKONDA *et al* 2014 demonstrou em estudos que o rs3824662 possui pouca relação com o desenvolvimento de asma em mulheres aos 18 anos atrelados ao uso de anticoncepcionais.

Para o SNP rs1269486 foram encontrados resultados de proteção relacionados a teste cutâneo para as espécies de barata e, somado com o alto número de casos quando comparados aos controles, fortalece a hipótese de interferência significativa do polimorfismo nessa população, como demonstrado nos resultados, em uma provável relação de proteção para asma atópica. Atrelado a isso, foi encontrado também associações negativas para dosagem de IgE específica para barata tanto em um modelo aditivo quanto dominante. Embora os números de casos sejam menores quando comparados aos controles dentro dessa população, os dados sugerem um discreto potencial de proteção desse SNP para a manifestação atópica.

O polimorfismo rs11255501 foi associado positivamente ao teste cutâneo nos modelos aditivo e dominante. Embora os resultados de  $p$  tenham se apresentado abaixo de 0.05, não houve diferença significativa quando observado o número de casos e controles. Ele ainda foi associado positivamente ao teste cutâneo específico para barata, apresentando uma diferença significativa para o genótipo CC com maioria nos controles quando comparados aos casos. No entanto, os resultados apresentados por esse SNP aumentam sua importância no desenvolvimento de uma asma atópica, demonstrado através dos resultados de OR que permite associa-lo ao risco de desenvolvimento alérgico. Com resultados positivos para dosagem de IgE específica para barata, o rs11255501 também apresentou valores de  $p$  significativos ( $>0.05$ ) e uma associação de risco, demonstrando que este polimorfismo tende a aumentar a concentração sérica de IgE na presença de alérgenos específicos de barata. O SNP rs11255501 apresentou também resultados para dosagens de citocina IL-10 e IgE total, na qual os gráficos demonstram um relativo crescimento da produção de IgE total e um decréscimo na dosagem de IL-10 que é uma citocina responsável pela homeostase entre as respostas TH1 e TH2, portanto, esse desequilíbrio torna o indivíduo mais susceptível a um aumento da resposta TH2, consequentemente, mais sujeitos a desenvolver uma crise alérgica. Todos os resultados encontrados para esse polimorfismo sugerem a associação direta do mesmo para o desenvolvimento de uma asma alérgica.

O SNP rs11255501 ainda apresentou marcadores de histonas nas regiões promotoras e intensificadoras para o pulmão, tendo dois motivos alterados segundo dados do HaploReg, no qual o motivo com significância relativa para asma foi o Myc. Este gene regula positivamente o transdutor de sinal dos mediadores de sinalização de IL-4, que por sua vez pode ativar reações com macrófagos que estão diretamente ligados ao processo inflamatório da asma, sendo essa citocina elemento ativo na cascata de reação da asma, como demonstrado por PELLO e colaboradores (2012).

O polimorfismo rs11567902 foi associado significativamente à eosinofilia, atrelado a maior frequência em casos quando comparado aos controles, destacando uma possível associação do alelo T ao aumento de eosinófilos na asma grave. A partir dos resultados positivos obtidos na variável de teste cutâneo positivo, na qual foram encontradas associações significantes em modelos aditivo e dominante e, atrelado a sua maior frequência nos casos do que no controle, pode inferir que esse

polimorfismo possui uma associação com atopia, sendo, portanto, uma variável ligada à asma atópica. Foi encontrado também resultados para dosagem de IgE total, no entanto, sua relação com ela foi associada a diminuição dos níveis séricos IgE total em pacientes com asma grave.

Os resultados para teste cutâneo apresentados pelo polimorfismo rs11567902 podem estar associados a uma asma leve, levando em consideração que a atopia possui uma relativa facilidade de controle sob o uso da terapia convencional (corticoides inalatórios em baixa concentração). No entanto, quando associado a uma asma grave, o SNP apresentou uma redução na concentração sérica de IgE que pode ser explicada pela maior associação dessa imunoglobulina com a manifestação leve da doença como citado por MAUAD *et al.*, (2009).

Por fim, foi encontrado dados com o SNP rs11567902 demonstrando que o mesmo está associado a 3 marcadores de histona no pulmão em regiões promotoras e intensificadores, sendo essas histonas responsáveis pelo envelhecimento do DNA. Além disso, foi encontrado dois motivos (local do DNA onde o fator de transcrição se liga para exercer sua função) alterados pelo polimorfismo, no qual o motivo AP-1 foi o único encontrado com possibilidade de correlação com asma; KHORASANIZADEH *et al.*, 2017 e GAO *et al.*, 2021 demonstraram que a atividade transcricional aumentada do AP-1 está ligada a ativação de imunomoduladores que participam da patogênese da asma. Contudo, esses estudos ainda demonstraram que vários genes inflamatórios como IL-4, IL-5 e IL-13 possuem sítios de ligação com o AP-1, podendo ser regulado pela atividade do AP-1.

No rs2798835 foi associado significativamente com risco para a variável de asma, apresentando também uma maior tendência ao desenvolvimento de obstrução nos brônquios, atrelado ao aumento significativo da eosinofilia na asma grave, tendo as variáveis de asma e eosinofilia um número consideravelmente maior entre os casos e apenas para obstrução foi constatado um maior número entre os controles. Portanto, há uma associação deste polimorfismo que tende ao risco de desenvolvimento da asma, não havendo dados no presente estudo que associem o polimorfismo a uma asma atópica, podendo concluir que o alelo A está mais associado a uma asma eosinofílica não alérgica. Além disso, o SNP apresentou pontuação de regulomeDB na posição 3a, que se caracteriza por apresentar uma maior probabilidade de ligação a proteínas em locais funcionais, quando

comparados aos SNP de pontuação 4, o que possibilita inferir que o alelo A tem maior probabilidade de interferências funcionais no gene.

Para o rs10905278 foram encontrados resultados significativos para variáveis de teste cutâneo, sendo associado positivamente ao teste cutâneo para fungo nos modelos aditivo e dominante, com valores de  $p$  igual e/ou menor que 0.01, destacando que o polimorfismo pode estar envolvido na manifestação atópica da asma, quando expostos a alérgenos de fungo, embora para esta população tenha apresentado maior frequência entre os controles quando comparado com os casos.

Quanto aos dados apresentados ainda na tabela 2, é possível observar que o polimorfismo rs11905278 apresentou, a partir de dados da plataforma HaploReg, três marcadores de histonas no pulmão para regiões potencializadoras e intensificadoras, e dois motivos alterados, sendo um deles o GATA, gene associado a família GATA de fatores de transcrição, no qual o *GATA3* se apresenta como membro dessa família. O *GATA3* se caracteriza por ser o objeto de estudo da presente pesquisa, estando diretamente ligado ao desenvolvimento da cascata de inflamação da asma como demonstrado por RAY e colaboradores (1999), que o *GATA3* participa tanto da diferenciação de células T para uma resposta TH2 como da secreção de citocinas ativas do processo inflamatório da asma.

Por fim, foram encontrados resultados significativos para o polimorfismo rs183890714, com associações negativas, a partir dos resultados de OR, para as variáveis de atopia, como o teste cutâneo e teste cutâneo específico para ácaro, demonstrando que o alelo G do SNP em questão pode estar associado ao desenvolvimento de proteção nos indivíduos do estudo. Em ambos os casos foram encontrados uma OR entorno de 0.2 e um valor de  $p < 0.01$ , demonstrando que tal polimorfismo possui fortes associações protetivas para o desenvolvimento da asma atópica. Ainda foi encontrado resultados significativos para dosagem de eotaxina para asma e asma grave. Em ambos os casos, a dosagem de citocina foi encontrada aumentada na presença do alelo G, demonstrando, portanto, que o polimorfismo em questão está associado a um aumento de eosinófilos pela expressão de eotaxina em indivíduos asmáticos de modo geral, e em específico para os que apresentam a manifestação grave da asma. Esses resultados, quando somados ao fator de proteção para atopia demonstrados nas variáveis encontradas,

possibilita concluir que esse polimorfismo está associada a uma proteção dos pacientes que o possuam, para o desenvolvimento da asma não atópica eosinofílica.

O polimorfismo rs183890714 ainda foi encontrado na classificação de regulomeDB em 3a, demonstrando que ele possui uma maior probabilidade de apresentar ligações funcionais, aumentando a significância do SNP para a asma.

Os SNP apresentados, em sua maioria, não foram encontrados com resultados publicados na literatura, impossibilitando a comparação de dados. Esse fato pode ser explicado pela menor frequência dos alelos polimorfico desses SNP nas populações mundiais, demonstrando que há pouca incidência desses SNP nessas populações. A falta de estudos não isenta a importância desse gene na fisiopatologia da asma, só demonstra que ele ainda é pouco estudado, principalmente em populações americanas e afrodescendentes.

## **8 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

A partir dos resultados obtidos no estudo e, levando em consideração os impactos que os SNP podem apresentar na fisiopatologia da asma, sobretudo a asma alérgica, é possível inferir que existem evidências da associação de polimorfismos no gene *GATA3* com o desenvolvimento da asma.

Para que a interferência que esses SNP geram na cascata reativa de asma, seja totalmente elucidada, serão necessárias mais pesquisas em torno desses resultados, considerando também outras populações inseridas em contextos ambientais, culturais, genéticos e socioeconômicos específico, afim de demonstrar os impactos que polimorfismos no gene *GATA3* podem apresentar em diferentes apresentações sociais.

## REFERÊNCIAS

Asma alérgica e não alérgica apresentam diferentes características fenotípicas e genotípicas. **Associação Brasileira de Alergia e Imunopatologia**, 2017. Disponível em:<[http://aaai-asbai.org.br/detalhe\\_artigo.asp?id=764](http://aaai-asbai.org.br/detalhe_artigo.asp?id=764)>. Acesso em: 20/03/2022.

Global Initiative for Asthma. Global strategy for Asthma management and prevention: Updated 2022. Disponível em:<<https://ginasthma.org/wp-content/uploads/2022/07/GINA-Main-Report-2022-FINAL-22-07-01-WMS.pdf>>. Acesso em: 20/03/2022.

ASMA ATINGE 20 MILHÕES DE BRASILEIROS. **Associação Brasileira de Alergia e Imunopatologia**, 2020. Disponível em:<<https://asbai.org.br/asma-atinge-20-milhoes-de-brasileiros/>>. Acesso em: 20/03/2022.

BAQUE, J. M., *et al.* Características clínicas y epidemiológicas del asma bronquial en niños. **Dominio de las Ciencias**, v. 7, n. 2, p. 1371-1390, 2021.

Biomarcadores e imunobiológicos na asma. **Associação Brasileira de Alergia e Imunopatologia**, 2018. Disponível em:< [http://aaai-asbai.org.br/detalhe\\_artigo.asp?id=946](http://aaai-asbai.org.br/detalhe_artigo.asp?id=946)>. Acesso em: 20/03/2022.

BOONPIYATHAD, T., *et al.* Mecanismos imunológicos na asma. **ScienceDirect**, v. 46, p. 101333, 2019.

CABRAL, A., *et al.* Fenótipos de asma em crianças e adolescentes de baixa renda: análise de agrupamentos. **Jornal brasileiro de Pneumologia**, v. 43, n. 1, p. 44-50, 2017.

CAMINATI, M., *et al.* Imunidade tipo 2 na asma. **World Allergy Organization Journal**, v. 11, n. 1, p. 1-10, 2018.

DAMASCENO, E., *et al.* Custos diretos e indiretos da asma: revisão de literatura. **Revista brasileira de alergia e imunopatologia**, v. 35, n. 6, p. 234-240, 2012.

DAYA, M., *et al.* Association study in African-admixed populations across the Americas recapitulates asthma risk loci in non-African populations. **Nature Communications**, v. 10, n. 1, p. 1-13, 2019.

DHARMAGE, S. C., *et al.* Epidemiologia da asma em crianças e adultos. **Fronteiras em pediatria**, v. 7, p. 246, 2019.

EL-HUSSEINI, Z. W., *et al.* A genética da asma e a promessa da descoberta de alvos de drogas guiada pela genômica. **The Lancet Respiratory Medicine**, v. 8, n. 10, p. 1045-1056, 2020.

ENILARI, O., *et al.* The global impact of asthma in adult populations. **Annals of global health**, v. 85, n. 1, p. 1-7, 2019.

FERNANDES, V. A. M. **Células Linfoides Inatas do tipo 2 na Asma com inflamação T-2**. 2021. Tese de Doutorado. Universidade de Coimbra. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/10316/98415>>. Acesso em: 20/03/2022.

FREITAS, G. R., *et al.* Impacto econômico das intervenções dos farmacêuticos no manejo da asma: uma revisão sistemática. **Revista Brasileira de Farmácia Hospitalar e Serviços de Saúde**, v. 12, n. 3, p. 1-10, 2021.

GARN, H., *et al.* GATA3-specific DNase — A novel approach for stratified asthma therapy. **European Journal of Immunology**, v. 47, n. 1, p. 22-30, 2017.

GAUDILLO, J. *et al.* Abordagem de aprendizado de máquina para previsão de asma baseada em polimorfismo de nucleotídeo único. **PloS um**, v. 14, n. 12, p. 1-8, 2019.

GINA (Updated 2020). Global Initiative for Asthma: Global strategy for asthma management and prevention. **Revue Francaise d'Allergologie et d'Immunologie Clinique**, v. 36, n. 6, p. 685–704, 2020.

GIAVINA-BIANCHI, P. Resposta imune tipo 2. **Arquivo de Asma Alergia Imunologia**, p. 241-243, 2017.

HASHMI, M. F., *et al.* Asma. **StatPearls**, 2022. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK430901/#article-17920.s23>>. Acesso em: 07/09/2022.

JESUS, J., *et al.* Obesidade e asma: caracterização clínica e laboratorial de uma combinação comum. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 44, p. 207-212, 2018.

JÚNIOR, D., *et al.* Sistema Imunitário - Parte II Fundamentos da resposta imunológica mediada por linfócitos T e B. **Revista brasileira de reumatologia**, v. 50, n. 5, p. 552-580, 2010.

LEITE, M., *et al.* Avaliação do questionário de controle da asma validado para uso no Brasil. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 34, p. 756-763, 2008.

LEÓN, B., *et al.* Modulação da imunidade das células Th2 para o tratamento da asma. **Frontiers in immunology** , v. 12, p. 637948, 2021.

LEONARDO, A., *et al.* O Impacto da Genética na Asma Infantil. **Jornal de Pediatria**, v. 4, n. 84, p. 68-75, 2008.

LIMA-MATOS, A., *et al.* A asma eosinofílica, de acordo com o critério de eosinófilos sanguíneos, está associada à gravidade da doença e ao descontrole entre brasileiros urbanos desprivilegiados. **Medicina respiratória**, v. 145, p. 95-100, 2018.

LÖTVALL, J., *et al.* Asthma endotypes: a new approach to classification of disease entities within the asthma syndrome. **Journal Of Allergy And Clinical Immunology**. v. 2, n. 127, p. 355-360, 2011.

MARITTA, P., *et al.* Association analysis of common variants of STAT6, GATA3, and STAT4 to asthma and high serum IgE phenotypes. **O Journal of Allergy and Clinical Immunolog**, v. 115, n. 1, p. 80-87, 2005.

MARQUES, C., *et al.* Epidemiologia da Asma no Brasil, no período de 2016 a 2020. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 8, p. 1-10, 2022.

MENEZES, A. M., *et al.* Prevalência de diagnóstico médico de asma em adultos brasileiros: Pesquisa Nacional de Saúde, 2013. **Revista Brasileira de Epidemiologia**. v. 18, n. 2, p. 204-213, 2015.

BRASIL. Ministério da Saúde. **PORTARIA CONJUNTA Nº 14, DE 24 DE AGOSTO DE 2021**. Brasília, 2021.

MITCHELL, P., *et al.* Citocinas derivadas do epitélio na asma. **ScienceDirect**, v. 151, n. 6, p. 1338-1344, 2017.

MUEHLING, L. M., *et al.* As células humanas TH1 e TH2 direcionadas a rinovírus e alérgenos promovem coordenadamente a asma alérgica. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 146, n. 3, p. 555-570, 2020.

NAKAMURA, Y., *et al.* A expressão gênica do fator de transcrição *GATA3* está aumentada na asma atópica. **Revista de Alergia e Imunologia Clínica**, Montral, v.103, n. 2, p. 215-222, 1999.

OLIVEIRA, L., *et al.* Frequência de polimorfismo de nucleotídeo único de alguns genes da resposta imune em amostra populacional da cidade de São Paulo, Brasil. **Instituto Israelita de Ensino e Pesquisa Albert Einstein**, v. 9, n. 3, p. 359-366, 2011.

OZDEMIR, C., *et al.* Os conceitos de endótipos e fenótipos de asma para orientar estratégias de tratamento atuais e novas. **Revisão pericial de medicina respiratória**, v. 12, n. 9, p. 733-743, 2018.

PEREZ-GARCIA, J., *et al.* Farmacogenética da asma pediátrica: perspectivas atuais. **National Center for Biotechnology Information**, v. 13, p. 89, 2020.

PITCHON, R., *et al.* Mortalidade por asma em crianças e adolescentes no Brasil ao longo de 20 anos. **Jornal de Pediatria**, v. 96, n. 4, p. 432-438, 2020.

PORPODIS, K., *et al.* Asma eosinofílica, fenótipos-endótipos e biomarcadores atuais de escolha. **Journal of Personalized Medicine**, v. 12, n. 7, p. 1-18, 2022.

RENNIE, D. C., *et al.* Fatores de risco domésticos para asma atópica e não atópica em crianças das Primeiras Nações que vivem em Saskatchewan, Canadá. **Multidisciplinary Digital Publishing Institute**, v. 7, n. 5, p. 38, 2020.

SALAMEH, M., *et al.* O papel da microbiota intestinal na asma e alergia atópicas, implicações na compreensão da patogênese da doença. **Revista Escandinava de Imunologia**, v. 91, n. 3, p.1-8, 2020.

BRASIL. Ministério da Saúde. Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas da Asma. **Comissão Nacional De Incorporação De Tecnologias No SUS**. Brasília, 2021.

ULAMBAYAR, B. *et al.* Association between epithelial cytokines and clinical phenotypes of elderly asthma. **Allergy, Asthma & Immunology Research**, v. 11, n. 1, p. 79-89, 2019

YAGHOUBI, M., *et al.* A carga econômica e de saúde projetada da asma não controlada nos Estados Unidos. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 200, n. 9, p. 1102-1112, 2019.

MAUAD, T., *et al.* IMUNOPATOLOGIA E REMODELAMENTO NA ASMA GRAVE. **Gazeta Médica da Bahia**, v. 78, n. 2, p. 75-85, 2009.

KHORASANIZADEH, M., *et al.* Proteína quinases ativadas por mitogênio como alvos terapêuticos para asma. **Farmacologia e terapêutica**, v. 174, p. 112-126, 2017.

GAO, W., *et al.* O psoraleno inibe a resposta inflamatória e a produção de muco na rinite alérgica, inibindo a via da proteína ativadora 1 e a expressão a jusante da cistatina-SN. **Relatórios de Medicina Molecular**, v. 24, n. 3, p. 1-8, 2021.

PELLO, O. M., *et al.* Papel do c-MYC na ativação alternativa de macrófagos humanos e biologia de macrófagos associados a tumores. **Blood, The Journal of the American Society of Hematology**, v. 119, n. 2, p. 411-421, 2012.

RAY, Anuradha *et al.* Células Th2 e GATA-3 na asma: novos insights sobre a regulação da inflamação das vias aéreas. **O Jornal de investigação clínica**, v. 104, n. 8, p. 985-993, 1999.

SOUSA, A.W.. **Fenótipos clínicos e fatores de risco para obstrução fixa das vias aéreas em crianças e adolescentes com asma**. 2021. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.