

Asma alérgica e não alérgica apresentam diferentes características fenotípicas e genotípicas

Allergic and non-allergic asthma have different phenotypic and genotypic characteristics

Priscila Takejima¹, Rosana Câmara Agondi¹, Helcio Rodrigues¹, Marcelo Vivolo Aun¹, Jorge Kalil¹, Pedro Giavina-Bianchi¹

RESUMO

Objetivo: A identificação dos fenótipos da asma permite uma melhor compreensão e abordagem desta doença heterogênea. Muitos estudos têm demonstrado associação entre os antígenos leucocitários humanos (HLA) e asma em diversas populações, porém os resultados são inconclusivos e raramente consideram uma doença com diferentes fenótipos. O objetivo deste estudo foi caracterizar os fenótipos alérgico e não alérgico da asma e avaliar possíveis associações com o sistema HLA. **Métodos:** Um total de 190 pacientes com asma foram prospectivamente acompanhados durante dois anos. Foram divididos em dois grupos, asma alérgica e não alérgica, de acordo com a história clínica e os resultados do teste cutâneo de puntura e da pesquisa da IgE sérica específica. O grupo controle foi composto por 297 doadores falecidos de órgãos sólidos. As características de cada grupo e a tipificação dos HLA classe I e II foram avaliadas e comparadas. **Resultados:** O estudo mostrou diferentes características entre os fenótipos estudados. Os pacientes com asma não alérgica relataram uma idade mais tardia de início dos sintomas da doença e maior frequência de história sugestiva de intolerância aos anti-inflamatórios não esteroidais. O grupo asma alérgica apresentaram IgE sérica total elevada, presença de dermatite atópica e rinoconjuntivite mais frequente e, inesperadamente, maior gravidade da doença. Novas associações entre os genótipos HLA e os fenótipos alérgico e não alérgico da asma foram identificados. Os genótipos HLA-B*42, HLA-C*17, HLA-DPA1*03 e HLA-DPB1*105 foram associados com a asma alérgica, e o HLA-B*48 com o fenótipo não alérgico. A presença do haplótipo HLA-DPA1*03 DQA*05 foi associado com asma alérgica, e a presença do HLA-DPA1*03 e ausência do HLA-DQA*05 com a asma não alérgica. **Conclusões:** A asma alérgica e não alérgica apresentaram diferentes características fenotípicas e genotípicas. Novas associações entre os fenótipos e o sistema HLA classe I e II foram identificadas.

Descritores: Asma, hipersensibilidade respiratória, antígenos HLA, fenótipo, genótipo.

ABSTRACT

Objective: The identification of asthma phenotypes allows a better understanding and management of this heterogeneous disease. Studies have reported associations between human leukocyte antigens (HLA) and asthma in different populations, but results have been inconclusive and rarely take into consideration the distinct disease phenotypes. The objectives of this study were to characterize allergic and non-allergic asthma phenotypes and to evaluate possible associations with the HLA system. **Methods:** A total of 190 patients with asthma were prospectively followed during two years. They were divided into two groups, allergic and non-allergic asthma, according to clinical history and the results of skin prick testing and serum-specific IgE measurement. The control group comprised 297 deceased donors of solid organs. The characteristics of each group and HLA class I and II genotypes were assessed and compared. **Results:** The study revealed different characteristics between the phenotypes studied. Non-allergic patients were older at the onset of asthma symptoms and had a higher rate of history of intolerance to non-steroidal anti-inflammatory drugs. Allergic patients showed higher total serum IgE levels, reported atopic dermatitis and rhinoconjunctivitis more frequently, and, unexpectedly, showed greater disease severity. New associations between HLA genotypes and the allergic/non-allergic asthma phenotypes were identified. HLA-B*42, HLA-C*17, HLA-DPA1*03, and HLA-DPB1*105 genotypes were associated with allergic asthma, and HLA-B*48, with the non-allergic phenotype. The presence of haplotype HLA-DPA1*03 DQA*05 was associated with allergic asthma, and the presence of HLA-DPA1*03 and absence of HLA-DQA*05, with non-allergic asthma. **Conclusion:** Allergic and non-allergic asthma have distinct phenotypic and genotypic characteristics. New associations between asthma phenotypes and HLA class I and II were identified.

Keywords: Asthma, respiratory hypersensitivity, HLA antigens, phenotype, genotype.

1. Serviço de Imunologia Clínica e Alergia, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, FMUSP.

Este trabalho foi agraciado com o **Prêmio Ernesto Mendes de 2016** (melhor trabalho na categoria Incentivo à Pesquisa) durante o XLIII Congresso Brasileiro de Alergia e Imunologia.

Submetido em: 10/01/2017, aceito em: 15/02/2017.

Arq Asma Alerg Imunol. 2017;1(1):87-98.

Introdução

A asma é uma síndrome, ou ao menos uma doença com diversos fenótipos¹⁻⁵. As entidades clínicas que compõe esta síndrome têm em comum: sintomas respiratórios e obstrução brônquica variáveis, hiper-reatividade brônquica e processo inflamatório crônico com remodelamento das vias aéreas. Nem todos pacientes têm a mesma evolução clínica ou se adequam completamente à abordagem proposta pelos consensos e, por isto, devem ser tratados de maneira individualizada¹⁻⁵.

Diversos parâmetros têm sido utilizados para definir os fenótipos da asma. Os dois principais fenótipos com características nítidas e distintas são a asma alérgica e a não alérgica^{6,7}. Cerca de 80% dos quadros de asma na infância e mais de 50% em adultos são alérgicos⁸.

A asma alérgica tende a ter um início precoce, definido como aquela cujos sintomas surgem antes de 12 anos de idade^{2,9}, tem uma evolução mais benigna, menor taxa de hipersensibilidade aos anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs) e, normalmente, vem associada à história pessoal e familiar de outras doenças atópicas^{2,5}. Suas exacerbações estão caracteristicamente relacionadas à exposição aos aeroalérgenos. Os pacientes com asma alérgica apresentam aumento sérico de IgE total e presença de IgE específica¹⁰. Esta última pode ser detectada por exames *in vivo* (testes cutâneos de leitura imediata: teste cutâneo de puntura e intradérmico) e *in vitro* (teste imunoenzimático).

Por outro lado, a asma não alérgica tem sido descrita como uma doença de início tardio, ou seja, os sintomas têm início com 12 ou mais anos de idade^{2,8}. Ocorre predominantemente em indivíduos do sexo feminino e, frequentemente, observa-se associação com polipose nasal e hipersensibilidade aos AINEs^{11,12}. A história pessoal e familiar de atopia é pouco frequente no fenótipo não alérgico. Alguns trabalhos sugerem que este fenótipo apresenta um declínio mais precoce da função pulmonar do que a asma alérgica^{2,3,5,13,14}.

Em ambos os fenótipos, geralmente existe uma inflamação eosinofílica das vias aéreas, porém, pode-se observar uma maior ocorrência de infiltração de neutrófilos na asma não alérgica¹⁵. Ao contrário da asma alérgica, cuja fisiopatogenia está bem caracterizada, a etiologia e os mecanismos envolvidos na asma não alérgica não estão elucidados. A doença poderia ser desencadeada por um ou mais dos se-

guintes mecanismos: reações de hipersensibilidade a alérgenos não identificados, como os fungos; infecções recorrentes ou persistentes; mecanismos autoimunes¹⁶⁻²⁰.

A classificação da asma nos tipos alérgico e não alérgico não é meramente conceitual, mas tem implicações no prognóstico e tratamento. Por exemplo, o controle ambiental é feito de maneira diferente, assim como o anticorpo anti-IgE e a imunoterapia têm indicação precisa na asma alérgica^{21,22}.

Muitos estudos têm sido realizados na tentativa de elucidar a fisiopatologia da asma, identificar grupos de risco e desenvolver novos tratamentos. O sistema HLA (do inglês, *Human Leukocyte Antigen*) tem sido citado como um complexo de genes que pode ter associação com a asma. Os primeiros trabalhos envolvendo a associação entre a asma e o sistema HLA descritos foram realizados com HLA classe I²⁷⁻³⁷ e, posteriormente, com o HLA classe II^{28,29}. Nas populações estudadas foram utilizados diferentes critérios para caracterizar os pacientes, e os fenótipos da asma nem sempre foram bem estabelecidos.

Em 1971, foi descrito um aumento sem significância estatística da frequência do haplótipo HLA A1-B8 em crianças com asma não alérgica²³. O mesmo haplótipo também foi associado em crianças asmáticas com deficiência de IgA²⁴ e com polipose nasal³⁰. Um estudo relatou aumento da frequência de Bw6 nos asmáticos não alérgicos e sugeriu uma associação com modelo de herança recessivo, mas foi criticado pelo pequeno número de participantes e pela avaliação do padrão de herança sem estudo familiar²⁶. O HLA Bw61 apresentou uma associação significativa com asma alérgica em outro trabalho realizado em chineses na Manchuria³¹.

Um estudo envolvendo crianças chinesas com elevado nível sérico de IgE e sensibilidade para poeira doméstica detectada no *prick test* apresentou associação positiva com HLA-DR2 e negativa com HLA-DR4²⁸. Os antígenos HLA DRB1*04 e HLA DQA1*0301 foram mais prevalentes em crianças gregas sensibilizadas aos ácaros³². Em 2010 foi descrito que crianças com HLA DRB1*11 e DQB1*0301 apresentavam uma progressão mais lenta do início dos sintomas para o diagnóstico de asma³³. Estes antígenos foram relatados como marcadores de suscetibilidade para desenvolvimento de asma alérgica na população venezuelana³⁴. O antígeno HLA DRB1*11 foi demonstrado numa frequência menor em pacientes não alérgicos³⁵. Por sua vez, um trabalho chinês sugeriu um fator protetor do HLA DQB1*0301 para

o desenvolvimento da asma³⁶. Asma induzida pela aspirina, também conhecida como doença respiratória exacerbada pela aspirina, foi recentemente associada com os HLA-DQB1*0302 e HLA-DRB1*04³⁷.

Devido ao papel central das moléculas HLA na apresentação de peptídeos derivados dos alérgenos, os alelos HLA têm sido estudados como possíveis candidatos da associação sensibilização alérgica e asma³⁸. Porém, poucos estudos têm avaliado a associação entre HLA e asma não alérgica cuja patogênese não é bem elucidada. Asma não alérgica poderia envolver um mecanismo autoimune ou infecções crônicas não diagnosticadas, e os alelos HLA poderiam ter um papel neste fenótipo. A proposta deste estudo é avaliar uma possível associação entre HLA classe I e II e a asma não alérgica, o que permitiria uma melhor compreensão da fisiopatogenia da doença.

Material e método

Estudo observacional prospectivo que comparou a frequência dos diferentes tipos de HLA classe I e II em pacientes com asma alérgica e não alérgica.

Os pacientes do estudo foram selecionados no ambulatório de Asma do Serviço de Imunologia Clínica e Alergia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo e, após receberem informações sobre a pesquisa, assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. O estudo foi aprovado pela Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa – CAPPesq - do HCFMUSP, protocolo número 0774/10.

Todos os pacientes incluídos no estudo tinham diagnóstico de asma confirmado pelos critérios da *Global Initiative for Asthma* (GINA/2012), com história clínica compatível e pelo menos uma prova de função pulmonar evidenciando obstrução brônquica com reversibilidade³⁹. Os participantes deveriam ter idade igual ou maior de 18 anos e máxima de 75 anos, nunca terem fumado, ausência de qualquer outra doença pulmonar associada e capacidade cognitiva que permitisse a participação no estudo. Foram excluídos os pacientes que doença crônica grave não controlada e aqueles que não apresentavam técnica satisfatória para a realização da prova de função pulmonar (Figura 1).

Delineamento do estudo

Os pacientes foram avaliados prospectivamente, sendo interrogados quanto aos fatores desencadean-

tes de exacerbações, idade de início dos sintomas da asma, história pessoal e familiar de doenças atópicas (asma, rinite, conjuntivite alérgica e dermatite atópica) e história sugestiva de reação de hipersensibilidade aos AINEs. Os prontuários dos pacientes foram revisados em busca de informações relevantes.

Para caracterizar o diagnóstico de atopia, todos os pacientes com asma foram submetidos a pesquisa de sensibilização aos aeroalérgenos relevantes na cidade de São Paulo. Foram realizadas provas *in vivo* (teste cutâneo de puntura) e *in vitro* (dosagem sérica de IgE específica). O teste cutâneo de puntura em duplicata foi realizado para os seguintes alérgenos: *Dermatophagoides pteronyssinus*, *Blomia tropicalis*, *Cladosporium herbarum*, *Alternaria alternata*, *Penicillium notatum*, *Aspergillus fumigatus*, *Canis familiaris*, *Felis domesticus*, *Lolium perene*, *Periplaneta americana* e *Blatella germânica*. Histamina (10 mg/mL) foi utilizada como controle positivo e a solução salina 0,9% como controle negativo. O teste foi considerado positivo quando apresentava o maior diâmetro da pápula maior do que 3 mm em relação ao diâmetro do controle negativo. Os extratos alergênicos padronizados utilizados foram da indústria farmacêutica IPI/ASAC (International Pharmaceutical Immunology/ ASAC Laboratory Brasil). Os pacientes foram submetidos à coleta de sangue venoso periférico para mensuração do nível sérico de IgE total, contagem dos eosinófilos sanguíneos e pesquisa de IgE específica utilizando o ImmunoCAP System (Pharmacia Diagnostics, Uppsala, Sweden) para *Blomia tropicalis*, fungos, poeira doméstica e epitélio de animais. Os valores da IgE específica foram considerados positivos quando iguais ou maiores que 0,35 KU/L.

Os pacientes foram divididos em dois grupos conforme história clínica e os resultados do teste cutâneo de puntura e da dosagem sérica de IgE específica. Apenas os pacientes com as pesquisas de sensibilização *in vivo* e *in vitro* concordantes (duplamente positivas ou negativas) foram analisados, os demais sendo excluídos do estudo (Figura 1).

Grupo Asma Alérgica: pacientes com asma, com história de desencadeamento de crises por aeroalérgenos, com resultados do teste cutâneo de puntura positivo para pelo menos um dos alérgenos testados e IgE específica maior ou igual a 0,35 KU/L para qualquer alérgeno estudado.

Grupo Asma não Alérgica: pacientes com asma, sem história de desencadeamento de crises por aeroalérgenos, com resultados do teste cutâneo de

puntura negativo e IgE específica menor ou igual a 0,35 KU/L para todos os alérgenos testados.

Um terceiro grupo formado por doadores falecidos de órgãos sólidos foi utilizado como grupo controle na análise do HLA. Há um banco de dados com informações do HLA destes indivíduos que tiveram suas amostras de DNA tipificadas no Laboratório de Imunologia de Transplantes do Instituto do Coração (INCOR) do HCFMUSP. Os dados clínicos destes participantes são confidenciais e a maioria dos óbitos foi devido a causas externas, como trauma ou violência. Geralmente, não apresentam doenças graves

crônicas ou agudas, e os órgãos são considerados saudáveis para serem transplantados. Porém, possivelmente alguns apresentavam asma leve, na mesma frequência da população em geral (cerca de 10% dos adolescentes de acordo com o estudo ISAAC)⁴⁰ e foram considerados uma amostra de indivíduos saudáveis da população brasileira.

Tipificação HLA

A tipificação do HLA classe I (A, B, C) e II (DR, DQ, DP) foi realizada para todos os participantes

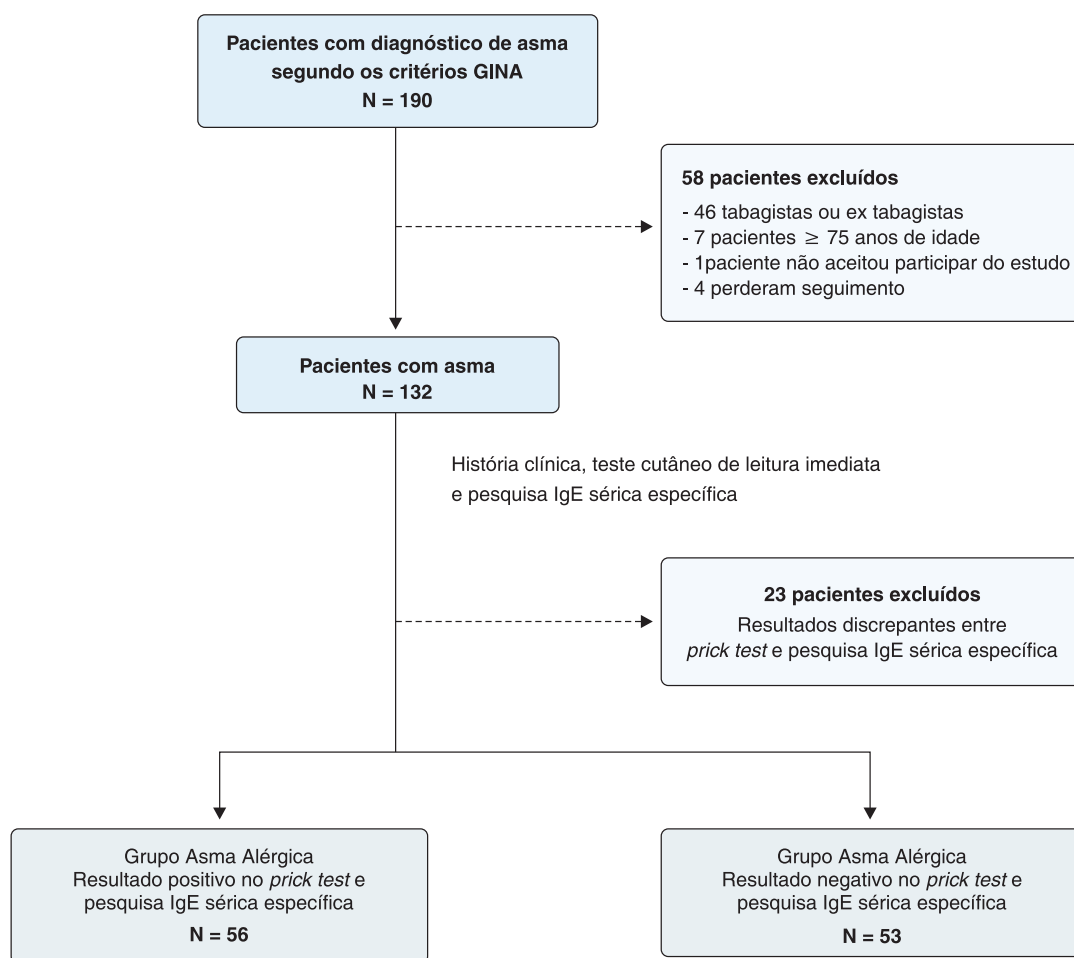


Figura 1

Algoritmo dos pacientes incluídos no estudo e classificação nos grupos asma alérgica e não alérgica. Foram considerados alérgicos aqueles com história clínica de asma e rinite desencadeada por aeroalérgenos, *prick test* positivo e presença de IgE sérica específica ($\geq 0,35$ KU/L). Os pacientes do grupo não alérgico apresentaram diagnóstico de asma segundo a GINA, *prick test* e pesquisa da IgE específica negativos

dos três grupos envolvidos no estudo. A extração do DNA genômico do sangue periférico de todos os participantes foi realizada utilizando-se o Kit QIAmp® DNA Blood Kit (QIAGEN, Valencia, EUA), de acordo com as instruções do fabricante.

A tipificação dos *loci* HLA A, B e DR dos doadores falecidos foi realizada pela metodologia PCR-SSP, reação de polimerização em cadeia utilizando sequência específica de *primers* (do inglês, *Polymerase Chain Reaction - Sequence Specific Primers*) utilizando o *kit* LABType SSP (One Lambda, California, USA) e seguindo as normas deste fabricante.

A tipificação HLA A, B, C, DQ, DR e DP dos pacientes com asma, assim como a tipificação do HLA C, DQ e DP dos doadores falecidos, foi realizada utilizando a metodologia PCR-SSO (*Polymerase Chain Reaction – sequence specific oligonucleotide*) por meio do *kit* LABTypes SSO (One Lambda, INC., Conoga Park, California, USA), de acordo com as orientações do fabricante.

Análise estatística

Os grupos de asma foram comparados em algumas variáveis clínicas, utilizando o teste exato de Fisher para as quantidades categóricas e teste *t* de Student (resíduos normais, caso homoscedástico), teste de Wilcoxon-Mann-Whitney (resíduos não normais, mesmo parâmetro de escala) e o teste Brunner-Munzel (resíduos não normais, os parâmetros de escala diferentes) para as variáveis numéricas⁴¹.

A frequência dos alelos HLA foram comparadas entre os três grupos utilizando o teste do qui-quadrado de Pearson ou o teste exato de Fisher. O mesmo teste foi utilizado para realizar a comparação de pares de grupos e os valores *p* foram ajustados pelo método de Holm. *V* de Cramér e Cohen foi computado como o tamanho do efeito e o intervalo de confiança 95% bootstrap BCa com base em 2.000 repetições é relatado⁴².

Um classificador em árvore de decisão foi utilizado para prever a associação de grupo com base nos alelos HLA utilizando o algoritmo CART⁴³. A árvore foi podada com base em uma validação cruzada de 10 subamostras para evitar sobreajuste e uma matriz de confusão foi calculada para avaliar a sua qualidade. Uma segunda árvore também foi ajustada com a mesma metodologia excluindo os indivíduos do grupo controle

Por fim, a associação de AINEs com cada alelo de HLA foi avaliada com o teste qui-quadrado de

Pearson ou exato de Fisher com o efeito que está sendo medido com razão de chances. Para a associação com IgE, o teste de Wilcoxon-Mann-Whitney foi utilizado com o tamanho do efeito *d* de Cohen. Todas as análises foram realizadas no R 3.1.2 e o nível de significância adotado foi de 5%.

Resultados

No estudo foram incluídos 406 participantes, sendo 109 pacientes com asma, subdivididos em grupos alérgico (*n* = 56) e não alérgico (*n* = 53), e 297 doadores falecidos de órgãos sólidos que constituíram o grupo controle na análise de tipificação do HLA. A idade média dos participantes, a porcentagem de pacientes do sexo feminino e a média de idade do início dos sintomas da asma apresentaram diferenças estatisticamente significantes entre os dois fenótipos da asma (*p* < 0,001), conforme a Tabela 1.

Analisando os antecedentes pessoais de doenças atópicas, a rinite apresentou alta prevalência nos dois grupos de pacientes com asma. Entretanto, a dermatite atópica e a conjuntivite estavam associadas especificamente com a asma alérgica (*p* = 0,034). Não houve diferença estatística entre os grupos quanto aos antecedentes familiares de doenças atópicas. História sugestiva de intolerância aos AINEs foi mais prevalente na asma não alérgica (*p* < 0,001), conforme observado na Tabela 2.

Todos os pacientes com asma estavam em tratamento medicamentoso. Verificou-se que 80,36% dos pacientes do grupo alérgico e 49,06% do grupo não alérgicos estavam em uso de altas doses de corticoide inalatório (*p* < 0,001), segundo a classificação da GINA. Na avaliação da gravidade da obstrução ao fluxo aéreo pela prova de função pulmonar, seguindo as Diretrizes Brasileira para testes de função pulmonar de 2002⁴⁴, os pacientes do fenótipo alérgico apresentaram maior obstrução brônquica do que os pacientes não alérgicos (*p* = 0,031) (Tabela 1).

Os pacientes com asma alérgica apresentaram maior média dos níveis séricos da IgE do que aqueles com asma não alérgica (*p* < 0,001). A média da contagem dos eosinófilos sanguíneos foi similar nos dois grupos de asma (Tabela 1).

A tipificação do HLA para classe I (A, B e C) e classe II (DQ, DR e DP) foi realizada em todos os participantes, com exceção de um doador falecido de órgão sólido cujo material genético armazenado

não permitiu a análise para o HLA *locus* C. Na comparação dos três grupos envolvidos no estudo, houve associação dos alelos HLA B*42 ($p = 0,040$), HLA C*17 ($p = 0,040$), HLA DPA1*03 ($p = 0,013$) e HLA

DPB1*105 ($p = 0,036$) com o grupo asma alérgica. Por outro lado, o alelo HLA B*48 ($p = 0,031$) estava mais presente nos pacientes do fenótipo não alérgico (Tabela 3).

Tabela 1

Características dos participantes do estudo

	Asma alérgica (N=56)	Asma não alérgica (N=53)	Controle (N=297)	Valor-p	Cohen's d	Cramér's V IC95% lo	IC95% hi
Idade em anos – média (DP)	44,14 (14,45)	57,09 (12,15)	43,03 (17,55)	< 0,001 ^a			
Gênero feminino – N (%)	44 (78,57)	46 (86,79)	114 (38,38)	< 0,001 ^b			
Idade de início dos sintomas (DP)	12,80 (11,82)	25,38 (19,79)		< 0,001 ^c	0,777	0,383	1,170
VEF ₁ (%)	65,46 (14,22)	71,64 (15,33)		0,031 ^d	0,418	0,035	0,801
Contagem de eosinófilos média (DP)	0,29 (0,24)	0,30 (0,23)		0,875 ^e	0,024	-0,355	0,403
Nível sérico de IgE (DP)	523,60 (819,70)	160,00 (352,50)		< 0,001 ^c	0,569	0,180	0,958

^a Teste de Kruskal-Wallis, ^b Teste qui-quadrado de Pearson, ^c Teste de Brunner-Munzel, ^d Teste *t* de Student, ^e Teste de Wilcoxon-Mann-Whitney.

Tabela 2

Dados dos participantes dos grupos asma alérgica e não alérgica

	Asma alérgica N (%)	Asma não alérgica N (%)	Valor-p	Estimativa	Cramér's V IC95% lo	IC95% hi
Antecedentes pessoais			0,034 ^a	0,255	0,089	0,380
Rinite	41 (73,21)	49 (92,45)				
Dermatite atópica	5 (8,93)	1 (1,89)				
Rinoconjuntivite	10 (17,86)	3 (5,66)				
Antecedentes familiares			0,266 ^a	0,193	0,035	0,314
Asma	24 (42,86)	26 (49,06)				
Nega	21 (37,50)	14 (26,42)				
Rinite	6 (10,71)	3 (5,66)				
Rinite + Asma	5 (8,93)	10 (18,87)				
Dose de corticoide inalatório			0,001 ^a	0,337	0,131	0,480
Baixa	3 (5,36)	4 (7,55)				
Moderada	8 (14,29)	23 (43,40)				
Alta	45 (80,36)	26 (49,06)				
AINEs			< 0,001 ^a	0,437	0,260	0,595
Não	46 (82,14)	21 (39,62)				
Sim	10 (17,86)	32 (60,38)				

^a Teste exato de Fisher.

Tabela 3

Frequência dos antígenos HLA classe I e II e comparação entre os grupos

	Asma alérgica (N = 56) N (%)	Asma não alérgica (N = 53) N (%)	Controle (N = 297) N (%)	Valor-p	Asma alérgica x Asma não alérgica	Asma alérgica x Controle	Asma não alérgica x Controle	Cramer's V		
								Estimate	IC95% lo	IC95% hi
A*02	17 (30,36)	28 (52,83)	116 (39,06)	0,052 ^a	0,052	0,218	0,121	0,104	0,060	0,142
B*42	4 (7,14)	2 (3,77)	5 (1,68)	0,040 ^b	0,679	0,116	0,574	0,117	0,018	0,229
B*48	0 (0,00)	3 (5,66)	2 (0,67)	0,031 ^b	0,223	1,000	0,079	0,157	0,046	0,310
C*17	6 (10,71)	3 (5,66)	10 (3,38)	0,040 ^b	0,854	0,083	0,854	0,120	0,022	0,237
DPA1*03	7 (12,50)	4 (7,55)	4 (2,56)	0,013 ^b	0,391	0,026	0,229	0,159	0,073	0,226
DPB1*105	7 (12,50)	3 (5,66)	5 (3,21)	0,036 ^b	0,644	0,049	0,644	0,159	0,035	0,285

^a Teste qui-quadrado de Pearson, ^b Teste exato de Fisher, *Post hoc* corrigido pelo método de Holm (Bonferroni sequencial).

Na comparação isolada dos grupos asma alérgica e controle, houve associação dos alelos HLA DPA1*03 e HLA DPB1*105 com o fenótipo alérgico. Conforme demonstrado na Tabela 3, não houve associação na análise isolada dos grupo não alérgico e controle. A análise da frequência do HLA A*02 nos dois fenótipos de asma apresentou valor de p limítrofe ($p = 0,052$).

Na análise através da árvore de decisão nos três grupos participantes do estudo, a presença simultânea dos alelos HLA DPA1*03 e DQA*05 está associada com a asma alérgica. O fenótipo não alérgico apresentou associação com a presença do antígeno HLA DPA1*03 e a ausência do HLA DQA*05. A ausência do alelo HLA DPA1*03 prevaleceu no grupo controle (Figura 2). Nesta análise os valores preditivos positivo para asma alérgica, não alérgica e grupo controle foram 62,5%, 42,9% e 74,9%, respectivamente.

A árvore de decisão analisando apenas os grupos asma alérgica e não alérgica mostrou que a presença simultânea dos alelos HLA A*02 e HLA C*05, assim como a ausência do HLA A*02 e do HLA B08 estão associadas com a asma alérgica. Por outro lado, a ausência do alelo HLA A*02 e presença do HLA B*08, assim como a presença do HLA A*02 e ausência do HLA C*05 estiveram associadas ao fenótipo asma não alérgica (Figura 3). Esta análise apresenta sensibilidade de 78,6% e 62,3% e especificidade de 62,3% e 78,6% para os fenótipos alérgico e não alérgico, respectivamente.

Os pacientes com asma com história sugestiva de intolerância aos AINES tinham os alelos antígenos HLA B*40 e HLA DRB1*04 mais frequentemente e os alelos HLA A*68, HLA B*58 e HLA DRB1*13 menos frequentemente do que os pacientes tolerantes aos AINES (Tabela 4). A presença dos alelos HLA A*30 e HLA C*17 e ausência dos alelos HLA A*02, HLA B*38, HLA B*44, HLA DRB1*16 e HLA DQB*03 apresentaram associação estatística com altos níveis séricos de IgE, conforme Tabela 5.

Discussão

A asma é uma das doenças crônicas mais prevalentes no mundo, podendo apresentar alta morbidade, principalmente se não for tratada adequadamente, e inclusive ser fatal. Asma deveria ser considerada uma síndrome ou ao menos uma doença com diferentes fenótipos⁴⁵ e muitos estudos deveriam ser realizados neste contexto. Fatores de risco e genes podem estar associados apenas a determinado fenótipo da doença. A identificação de uma provável associação do sistema HLA com os fenótipos alérgico e não alérgico da asma é importante para a melhor compreensão de sua fisiopatologia, em particular da doença não alérgica.

Observamos que a média da idade de início dos sintomas da asma nos dois fenótipos estudados foi diferente ($p < 0,001$), sendo mais precoce na asma

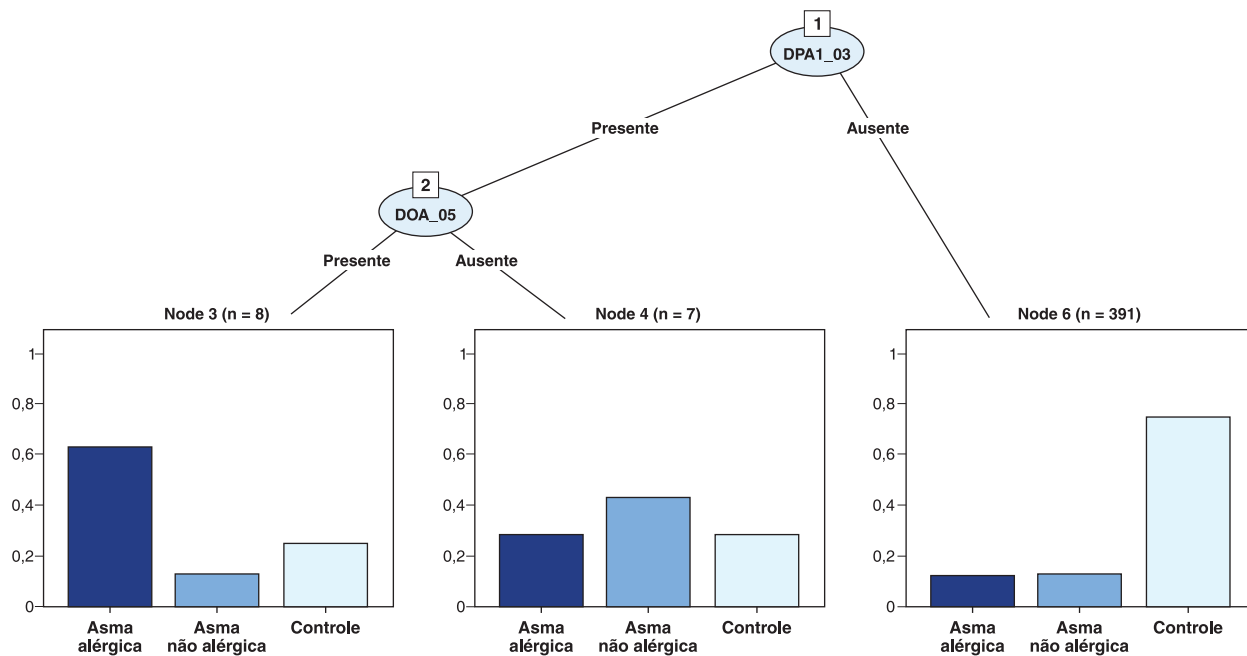


Figura 2
Análise por árvore de decisão entre os três grupos participantes

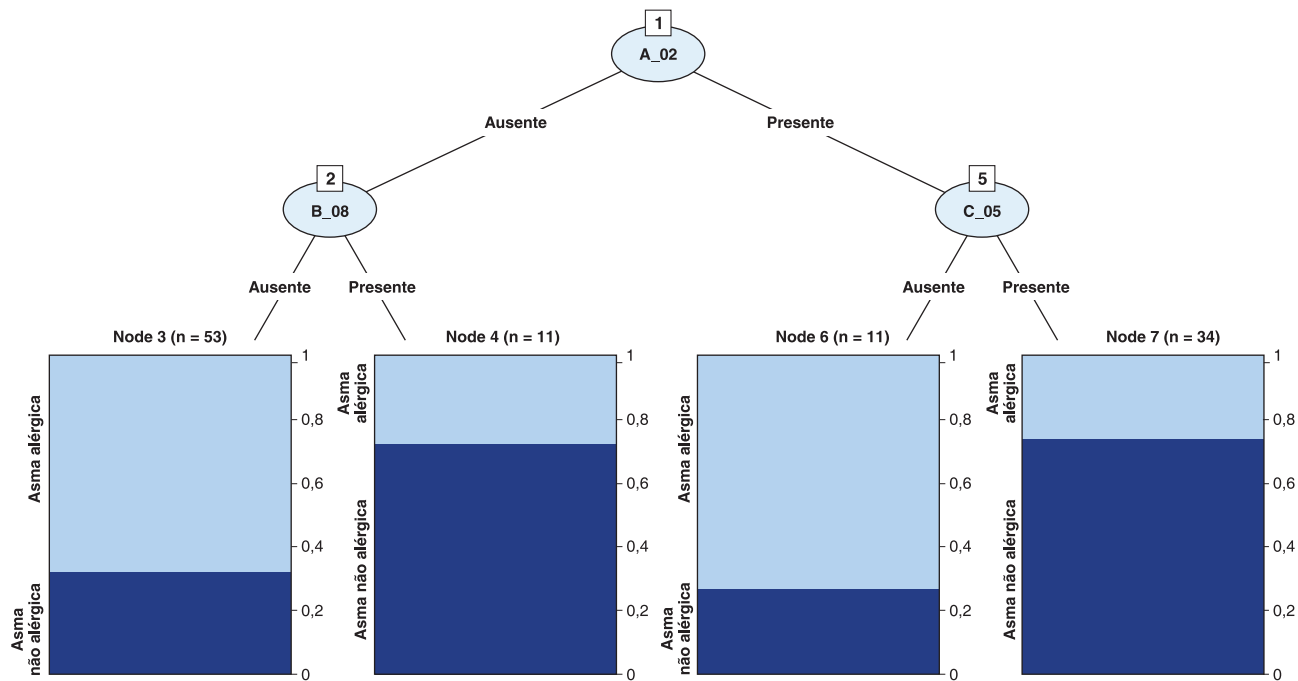


Figura 3
Análise por árvore de decisão entre os grupos alérgico e não alérgico da asma brônquica

alérgica e mais tardia nos pacientes não alérgicos, resultado compatível com a literatura. Verificamos o predomínio do sexo feminino nos dois fenótipos da asma, sendo estatisticamente maior no fenótipo não alérgico. Diversos estudos mostraram que a asma é mais prevalente e mais grave nas mulheres⁴⁷.

Na literatura é descrita uma associação da asma não alérgica com hipersensibilidade aos medicamentos AINEs e polipose nasal⁵⁰. O presente estudo confirma este dado, os pacientes com asma não alérgica apresentando maior prevalência de hipersensibilidade aos medicamentos anti-inflamatórios não esteroidais

Tabela 4

Análise dos participantes com asma com e sem história sugestiva de intolerância a anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs)

	Intolerância aos AINEs		Valor-p	OR	IC95% lo	IC95% hi
	Não N (%)	Sim N (%)				
A*68	12 (17,90)	2 (4,80)	0,046 ^a	0,23	0,02	1,13
B*40	2 (3,00)	7 (16,70)	0,026 ^b	6,39	1,14	66,32
B*58	7 (10,40)	0 (0,00)	0,042 ^b			
DRB1*04	9 (13,40)	13 (31,00)	0,027 ^a	2,86	1,00	8,56
DRB1*13	26 (38,80)	7 (16,70)	0,014 ^a	0,32	0,10	0,87

^a Teste qui-quadrado de Pearson, ^b Teste exato de Fisher.

OR = *odds ratio*.

Tabela 5

Média dos níveis séricos de IgE e associação com HLA classes I e II

	IgE				Valor-p	Cohen's d	IC95% lo	IC95% hi
	HLA ausente		HLA presente					
	N	Média (DP)	N	Média (DP)				
A*02	63	492,38 (825,18)	45	147,19 (185,39)	< 0,001	0,537	0,144	0,930
A*30	95	305,88 (531,46)	13	660,38 (1253,98)	0,036	0,542	-0,048	1,131
B*38	106	354,89 (666,38)	2	12,50 (4,95)	0,036	0,516	-0,898	1,930
B*44	83	393,85 (732,82)	25	198,16 (294,78)	0,031	0,297	-0,156	0,750
C*17	99	348,32 (689,47)	9	351,11 (184,25)	0,029	0,004	-0,685	0,693
DRB1*16	103	362,78 (674,44)	5	55,40 (50,23)	0,039	0,465	-0,444	1,373
DQB1*03	51	406,94 (738,32)	57	296,31 (586,63)	0,029	0,167	-0,215	0,549

Teste Wilcoxon-Mann-Whitney.

do que os pacientes com asma alérgica. Entretanto, o problema também é relevante no fenótipo alérgico.

Estudos têm mostrado que a asma de fenótipo não alérgico é caracterizada por apresentar maior gravidade^{6,51}. Mas nossos pacientes com asma alérgica apresentaram maior gravidade do que os pacientes não alérgicos, com obstrução brônquica maior e utilização de maior dose de corticoide inalatório.

A IgE é um anticorpo produzido em resposta à exposição alérgica, embora níveis elevados também possam ser encontrados em outras afecções, como na síndrome Hiper-IgE, aspergilose broncopulmonar alérgica, nefrite intersticial por drogas e parasitoses intestinais⁵². O fato do Brasil ser um país endêmico em parasitose intestinal limita a utilização da eosinofilia e da IgE sérica total como biomarcadores da asma. Como era esperado, observamos níveis séricos de IgE maiores na asma alérgica e contagens dos eosinófilos sanguíneos similares nos dois fenótipos da doença.

Antecedentes pessoais e familiares de doenças atópicas são característicos da asma alérgica. A presença de rinite não diferenciou os fenótipos de asma, inclusive sendo mais prevalente no fenótipo não alérgico. Estes resultados sugerem que o conceito “ARIA” se aplica para os dois fenótipos da doença. Entretanto, a presença de dermatite atópica e conjuntivite estiveram associadas com asma alérgica ($p = 0,033$). Não foi observada diferença estatística significativa quanto à história familiar de atopia.

Na literatura, os estudos correlacionando asma e o sistema HLA classe I e II, conferindo aumento do risco ou proteção para a doença, são inconsistentes. O pequeno número amostral, não considerar a asma uma doença com diferentes fenótipos, diversidade dos alelos HLA classe I e II selecionados no estudo, existência de alelos desconhecidos, características étnicas populacionais e metodologia aplicada na tipificação do HLA são limitações destes estudos.

Um trabalho avaliou a possível associação entre HLA e a idade de início dos sintomas da asma. Foi observada maior frequência do antígeno HLA-A10 e menor do HLA-B5 em pacientes com início da doença até 17 anos de idade, assim como maior frequência do antígeno HLA-B8 nos pacientes com início mais tardio⁵³. Por outro lado, num estudo com crianças da Croácia o HLA-B8 foi associado com o fenótipo alérgico⁵⁴. Outro estudo observou um aumento da frequência do HLA-B12 em pacientes com asma alérgica e menor frequência do HLA-

A3, HLA-B7 e HLA-DR2 em pacientes com asma não alérgica⁵⁵.

O estudo “GABRIEL” envolveu uma amostra de 10.365 participantes com asma e 16.110 controles e identificou associação da região do HLA-DQ com o início tardio (16 anos ou mais) da doença⁵⁶. Um estudo na população da Venezuela sugeriu que o haplótipo HLA-DRB1*11:01 HLA-DQA1*05:01 HLA-DQB1*03:01 está associado com a asma alérgica, conferindo suscetibilidade para a doença induzida por ácaro. Além disso, concluíram que o HLA-C7 teria um papel protetor para o desenvolvimento do fenótipo alérgico³⁴. O HLA DQ foi o primeiro *locus* descrito que mostrou associação com asma⁵⁷. O estudo TENOR relatou a associação do RAD50-IL13 e HLA-DR/DQ e asma grave ou de difícil controle⁵⁸. Na literatura existem poucos trabalhos que avaliaram a associação entre asma e o HLA-DP. No primeiro *Genome-Wide Association Study* (GWAS) na população asiática, o HLA-DPA1*0201 e o HLA-DPB1*0901 estiveram associados com crianças com asma⁵⁹. Um estudo em pacientes com asma alérgica numa população mulata demonstrou uma frequência estatisticamente menor do alelo HLA-DPB1*0401, sugerindo um caráter protetor para a doença²⁹.

Um estudo semelhante ao nosso analisou a frequência do HLA classe I e II em pacientes com asma alérgica e não alérgica, porém sem realizar a tipificação do HLA DP. Observou maior frequência dos antígenos HLA-A1, HLA-B7 e HLA-DQB1*0302 e menor do HLA-B18 nos pacientes com asma não alérgica, mas sem associação estatisticamente significativa³⁵.

Em relação à hipersensibilidade a aspirina, encontramos maior frequência dos alelos HLA-B*40 e HLA-DRB1*04 entre pacientes com asma e história sugestiva de hipersensibilidade aos AINES (Tabela 4). HLA-DRB1*04 tem isso associado com asma induzida pela aspirina³⁷, e HLA-DPB1 tem sido relatado como um importante marcador deste fenótipo⁶⁰. Neste estudo não houve associação com este último alelo. Inesperadamente, descrevemos a associação do HLA-B*40 com o fenótipo Th2 da asma, no qual observamos menor prevalência de hipersensibilidade a aspirina. A fisiopatogênese da asma induzida por aspirina necessita ser melhor elucidada e pode envolver mais de um mecanismo. É importante ressaltar que como não realizamos o teste de provocação em todos os pacientes, a prevalência de hipersensibilidade a aspirina observada por nós possa ser imprecisa.

Na análise do HLA classe I no presente estudo, os alelos HLA B*42 e HLA C*17 apresentaram associação com o fenótipo asma alérgica e o HLA B*48 para asma não alérgica. Observamos associação do fenótipo alérgico com a presença do haplótipo HLA A*02 e HLA C*05 e a ausência do haplótipo HLA A*02 e HLA B*08. Por outro lado, a asma não alérgica esteve associada à ausência do antígeno HLA A*02 e presença do HLA B*08, assim como com a presença do HLA A*02 e a ausência do HLA C*05. Na análise dos antígenos HLA classe II, verificamos que a frequência do HLA DPA1*03 e do HLA DPB1*105 foi maior nos pacientes com asma alérgica. O haplótipo HLA DPA1*03 DQA*05 foi associado com a asma alérgica; e a ausência do alelo HLA DQA*05 e a presença do HLA DPA1*03 com o fenótipo não alérgico.

A população brasileira originou-se a partir da miscigenação ocorrida entre caucasianos europeus, índios nativos e negros africanos. A análise do polimorfismo do sistema HLA em populações miscigenadas pode revelar diferentes frequências de alelos e haplótipos de HLA em comparação com outros grupos raciais e étnicos, o que pode influenciar nas associações entre HLA e doença. Assim, o conhecimento e a caracterização do HLA e consequente associações com doenças em diferentes populações humanas são de grande valor, principalmente num país com grande mistura racial.

O presente estudo é inovador e relevante por dois atributos principais. Primeiro, por utilizar critérios rigorosos na identificação e comparação dos fenótipos alérgico e não alérgico da asma. Segundo, por identificar associações entre HLA e asma não descritas previamente. É possível que existam diversos alelos/haplótipos envolvidos na asma dependendo do fenótipo da doença e das características étnicas da população estudada. Além disso, a predisposição genética da asma é poligênica e novos estudos em grandes populações são necessários para confirmar o papel do HLA como fator de proteção ou risco para os diversos fenótipos da doença.

Referências

1. Leung DYM, Nelson HS, Szeffler SJ, Busse WW. Analyzing asthma phenotypes. *J Allergy Clin Immunol.* 2004;113:1-2.
2. Miranda C, Busacker A, Balzar S, Trudeau J, Wenzel S. Distinguishing severe asthma phenotypes: Role of age at onset and eosinophilic inflammation. *J Allergy Clin Immunol.* 2004;101:8.
3. Bradding P, Green RH. Subclinical phenotypes of asthma. *Curr Opin Allergy Clin Immunol.* 2010;10:54-9.
4. Haldar P, Pavord ID, Shaw DE, Berry MA, Thomas M, Brightling CE, et al. Cluster analysis and clinical asthma phenotypes. *Am J Respir Crit Care Med.* 2008;178:218-24.
5. Moore WC, Meyers DA, Wenzel SE, Teague WG, Li H, Li X, et al. National Heart, Lung, and Blood Institute's Severe Asthma Research Program: Identification of asthma phenotypes using cluster analysis in the Severe Asthma Research Program. *Am J Respir Crit Care Med.* 2010;181:315-23.
6. Rackeman FM: A working classification of asthma. *Am J Med.* 1947;3:601-6.
7. Johansson SG, Hourihane JO, Bousquet J, Brujinzeel-Koomen C, Dreborg S, Haahtela T, et al. Position Paper. A revised nomenclature for allergy. An EAACI position statement from the EAACI nomenclature task force. *Allergy.* 2001;56:813-24.
8. Johansson SG, Bieber T, Dahl R, Friedmann PS, Lanier BQ, Lockey RF, et al. Revised nomenclature for allergy for global use: report of the nomenclature review committee of the World Allergy Organization. *J Allergy Clin Immunol.* 2004;113:832-6.
9. Moore WC, Bleecker ER, Curran-Everett D, Erzurum SC, Ameredes BT, Bacharier L, et al. National Heart, Lung, Blood Institute's Severe Asthma Research Program: Characterization of the severe asthma phenotype by the National Heart, Lung and Blood Institute's Severe Asthma Research Program. *J Allergy Clin Immunol.* 2007;119:405-13.
10. Hallstrand T, Henderson WJ. *Clinical Immunology Principles and Practice.* 2nd ed. London; 2001.
11. Settiple GA, Chafee FH. Nasal polyps in asthma and rhinitis. A review of 6,037 patients. *J Allergy Clin Immunol.* 1977;59:17-21.
12. Charpin D, Ramadour M, Lanteaume A, Vervloet D. Triggers in intrinsic asthma in the EGEA study. *J Allergy.* 2003;40:87-91.
13. Romanet-Manent S, Charpin D, Magnan A, Lanteaume A, Vervloet D. Allergic vs nonallergic asthma: what makes the difference? *Allergy.* 2002;57:607-13.
14. Ulrik CS, Backer V, Dirksen A. Mortality and decline in lung function in 231 adults with bronchial asthma: a ten year follow up. *J Asthma.* 1992;29:29-38.
15. Sibbald B, Turner-Warwick M. Factors influencing the prevalence of asthma among first degree relatives of extrinsic and intrinsic asthmatics. *Thorax.* 1979;34:332-7.
16. Macek V, Sorli J, Kopriva S, Marin J. Persistent adenoviral infection and chronic airway obstruction in children. *Am J Respir Crit Care Med.* 1994;150:7-10.
17. Comi AL, Tedeschi A, Lorini M, Miadonna A. Novel clinical and serological aspects in non-allergic asthma. *Respir Med.* 2007;101:2526-33.
18. Leopold HC, Rynes S, Stoloff IL. Fluorescent antibody study for antinuclear antibodies in bronchial asthma. *J Allergy.* 1965;36:175-7.
19. Szczeklik A, Nizankowska E, Serafin A, Dyczek A, Duplaga M, Musial J. Autoimmune phenomena in bronchial asthma with special reference to aspirin intolerance. *Am J Respir Crit Care Med.* 1965;152:1753-6.
20. Nahm DH, Shin MJ, Yim H, Kang Y, Choi DC, Kim JK, et al. Increased levels of circulating autoantibodies to cultured human bronchial epithelial cell in adult patients with non-atopic asthma. *J Korean Med Sci.* 2001;16:407-10.
21. Pillai P, Corrigan CJ, Ying S. Airway epithelium in atopic and nonatopic asthma: similarities and differences. *Allergy.* 2011;2011:195846.
22. Lockey RF. Asthma phenotypes: An Approach to the diagnosis and treatment of asthma. *J Allergy Clin Immunol Pract.* 2014;2:682-5.
23. Thorsby E, Engeset A, Lie SO. HL-A antigens and susceptibility to diseases. A study of patients with acute lymphoblastic leukaemia, Hodgkin's disease and childhood asthma. *Tissue Antigens.* 1971;1:147-52.
24. Ostergaard PA, Ericksen J. Association between HLA A1/B8 in children with extrinsic asthma and IgA deficiency. *Eur J Pediatr.* 1979;131:263-70.

25. Turton CW, Morris L, Buckingham JA, Lawler SD, Turner-Warwick M. Histocompatibility antigens in asthma: population and family studies. *Thorax*. 1979;34:670-9.
26. Brostoff J, Mowbray JF, Kapoor A, Hollowell SJ, Rudolf M, Saunders KB. 80% of patients with intrinsic asthma are homozygous for HLA BW6- is intrinsic asthma a recessive disease? *Lancet*. 1976;2:872-3.
27. Morris MJ, Vaughan H, Lane DJ, Morris PJ. HLA in asthma. *Monogr Allergy*. 1977;11:30-4.
28. Hsieh KH, Shieh CC, Hsieh RP, Liu WJ. Association of HLA-DQw2 with Chinese childhood asthma. *Tissue Antigens*. 1991;38:181-2.
29. Caraballo L, Marrugo J, Jimenez S, Angelini G, Ferrara GB. Frequency of DPB1*0401 is significantly decrease in patients with allergic asthma in a mulatto population. *Hum Immunol*. 1991;32:157-61
30. Moloney JR, Oliver RT. HLA antigens, nasal polyps and asthma. *Clin Otolaryngol*. 1980;5:183-9.
31. Wang WX, Yang SZ, Chui XW, Zhang HL. Association of HLA-Bw61 with asthma in the Chinese. *Tissue Antigens*. 1988;32:215-7.
32. Parapanissiou E, Papastavrou T, Deligiannidis A, Adam K, Kanakoudi F, et al. HLA antigens in Greek children with allergic bronchial asthma. *Tissue Antigens*. 2005;65:481-4.
33. Martyn MB, Molis W, Jacobson RM, Poland G, Weaver A, Juhn YJ. Human leukocyte antigen type and progression from onset of symptoms to development of asthma. *Allergy Asthma Proc*. 2010;31:120-5.
34. Lara-Marquez ML, Yunis JJ, Layrisse Z, Ortega F, Carvallo-Gil E, Montagnani S, et al. Immunogenetics of atopic asthma: Association of DRB1*1101 DQA1*0501 DQB1*0301 haplotype with *Dermatophagoides* spp –Sensitive asthma in a sample of the Venezuelan population. *Clin Exp Allergy*. 1999;29:60-71.
35. Torio A, Sánchez-Guerrero I, Muro M, Herrero N, Pagán J, Minguela A, Marín L, et al. Analysis of the phenotypic distribution of HLA class I and class II in atopic and non-atopic asthma patients. *Eur J Immunogenet*. 2000;27:81-5.
36. Gao J, Lin Y, Qiu C, Liu Y, Ma Y, Liu Y. Association between HLA DQA1, -DQB1 gene polymorphisms and susceptibility to asthma in northern Chinese Subjects. *Chin Med J*. 2003;116:1078-82.
37. Esmailzadeh H, Nabavi M, Amirzargar AA, Aryan Z, Arshi S, Bermanian MH, et al. HLA-DRB and HLA-DQ genetic variability in patients with aspirin-exacerbated respiratory disease. *Am J Rhinol Allergy*. 2015;29:63-9.
38. Smit LA, Strachan DP, Vermeulen R, de Bakker PI, Demenais F, Dumas O, et al. Human leukocyte antigen class II variants and adult-onset asthma: does occupational allergen exposure play a role? *Eur Respir J*. 2014;44:1234-42.
39. GINA: The global strategy for asthma management and prevention (updated 2012). Disponível em: <http://www.ginasthma.org>.
40. Toledo MF, Saraiva-Romanholo BM, Oliveira RC, Saldiva PH, Silva LF, Nascimento LF, et al. Changes over time in the prevalence of asthma, rhinitis and atopic eczema in adolescents from Taubaté, São Paulo, Brazil (2005-2012): Relationship with living near a heavily travelled highway. *Allergol Immunopathol (Madr)*. 2016;44:439-44.
41. Brunner E, Munzel U. the Nonparametric Behrens-Fisher Problem: Asymptotic Theory and a Small-sample approximation. *Biom J*. 2000;42:17-25.
42. DiCiccio TJ, Efron B. Bootstrap confidence intervals (with discussion). *Statistical Science*. 1996;11:189-228.
43. Breiman L, Friedman JH, Olshen R A, Stone CJ. *Classification and Regression Trees*. Monterey: Wadsworth and Brook;1984. 358 p.
44. Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia. Diretrizes para Testes de Função Pulmonar. *J Pneumol*. 2002;28:1-221.
45. Giavina-Bianchi P, Agondi RC, Kail J. Asthma studies should be phenotype specific. *J Allergy Clin Immunol*. 2013;131(4):1261-2.
46. Giavina-Bianchi P. Defining phenotypes in rhinitis: a step toward personalized medicine. *J Allergy Clin Immunol*. 2015;135(1):151-2.
47. Jenkins HA, Cherniack R, Szefer SJ, Covar R, Gelfand EW, Spahn JD. A comparison of the clinical characteristics of children and adults with severe asthma. *Chest*. 2003;124:1318-24.
48. Heck S, Nguyen J, Le DD, Bals R, Dinh QT. Pharmacological Therapy of Bronchial Asthma: The Role of Biologicals. *Int Arch Allergy Immunol*. 2015;168:241-52.
49. Bousquet PJ, Devillier P, Tadmouri A, Mesbah K, Demoly P, Bousquet J. Clinical relevance of cluster analysis in phenotyping allergic rhinitis in a real-life study. *Int Arch Allergy Immunol*. 2015;166:231-40.
50. Menz G, Ying S, Durham SR, Corrigan CJ, Robinson DS, Hamid Q, et al. Molecular concepts of IgE-initiated inflammation in atopic and nonatopic asthma. *Allergy*. 1998;53:15-21.
51. ENFUMOSA. The ENFUMOSA cross-sectional European multicentre study of the clinical phenotype of chronic severe asthma. European Network for Understanding Mechanisms of Severe Asthma. *Eur Respir J*. 2003;22:470-7.
52. Dombrowicz D, Capron A, Capron M. Expression of IgE receptors on eosinophils. In: Flick RB Jr, Jardieu PM, editors. *IgE and anti-IgE therapy in asthma and allergic disease*. 1a. ed. Marcel & Dekker; 2002. p. 69-85.
53. Apostolakis J, Toubis M, Konstantopoulos K, Kamaroulis D, Anagnostakis J, Georgoulis V, et al. HLA antigens and asthma in Greeks. *Respir Med*. 1996;90:201-4.
54. Ivkovic-Jurekovic I, Zunec R, Balog V, Grubic Z. The distribution of HLA alleles among children with atopic asthma in Croatia. *Coll Antropol*. 2011;35:1243-9.
55. Morris MJ, Faux JA, Ting A, Morris PJ, Lane DJ. HLA - A, B and C and HLA-DR antigens in intrinsic and allergic asthma. *Clin Allergy*. 1980;10:173-9.
56. Moffatt MF, Gut IG, Demenais F, Strachan DP, Bouzigon E, Heath S, et al. GABRIEL Consortium: a large-scale, consortium-based genome wide association study of asthma. *N Engl J Med*. 2010;23;363:1211-21.
57. Marsh DG, Meyers DA, Bias WB. The epidemiology and genetics of atopic allergy. *N Engl J Med*. 1981;305:1551-9.
58. Li X, Howard TD, Zheng SL, Haselkorn T, Peters SP, Meyers DA, Bleeker ER. Genome-Wide association study of asthma identifies RAD50-IL13 and HLA DR/DQ regions. *J Allergy Clin Immunol*. 2010;125:328-35.
59. Noguchi E, Sakamoto H, Hirota T, Ochiai K, Imoto Y, Sakashita M, et al. Genome-wide association study identifies HLA-DP as a susceptibility gene for pediatric asthma in Asian populations. *PLoS Genet*. 2011;7:1-7.
60. Kontakioti E, Domvri K, Papakosta D, Daniilidis M. HLA and asthma phenotypes/endotypes: a review. *Hum Immunol*. 2014;75:930-9.

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

Correspondência:
Priscila Takejima
E-mail: priscilatak@yahoo.com.br