

POLIMORFISMO NO GENE DA INTERLEUCINA-6 E SUA RELAÇÃO COM SUSCETIBILIDADE ÀS DOENÇAS PULMONARES EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES

*Michele Berger Ferreira*¹
*Lisiane Lisboa Carvalho*²
*Pâmela Ferreira Todendi*³
*Elisa Inês Klinger*⁴
*Miria Suzana Burgos*⁵
*Lia Gonçalves Possuelo*⁶
*Andréia Rosane de Moura Valim*⁷

RESUMO

A ocorrência de polimorfismos de um único nucleotídeo (SNPs) na região promotora de genes, como o da Interleucina-6 (IL-6), tem um papel relevante na suscetibilidade e progressão às doenças pulmonares. Assim, objetivou-se avaliar a prevalência do polimorfismo rs1800795 no gene *IL6* e a possível relação com a susceptibilidade às doenças pulmonares em escolares de Santa Cruz do Sul. Foi realizado um estudo transversal, descritivo e analítico, constituído por 240 crianças e adolescentes, com idades entre 7 e 17 anos, provenientes de cinco escolas do município de Santa Cruz do Sul, RS. A genotipagem foi realizada através de PCR em tempo real e os níveis séricos de IL-6 foram determinados pela técnica de citometria de fluxo variedade pérola (CBA). A análise estatística foi realizada no programa SPSS versão 20.0. A idade média do grupo estudado foi de 13 anos ($\pm 3,13$). Entre as doenças pesquisadas, bronquite e asma foram descritas por 21,7% dos entrevistados e 27,5% estão expostos ao tabagismo. A frequência genotípica identificada foi de 44,2% GC, 43,8% GG e 12,1% CC. Escolares com doença pulmonar apresentaram maior frequência de histórico familiar de doenças pulmonares ($p=0,01$), no entanto não foi observada relação entre os genótipos do polimorfismo rs1800795 e os níveis médios de IL-6, com a presença ou ausência de doenças pulmonares.

Palavras-chave: Doenças pulmonares. Polimorfismo. Suscetibilidade. Crianças. Adolescentes.

ABSTRACT

The presence of single nucleotide polymorphisms (SNPs) in the promoter region of genes, such as Interleukin-6 (IL-6), has an important role in progression and susceptibility to pulmonary diseases. Thereby, the objective was to evaluate the prevalence of the

¹ Aluna do Curso de Farmácia da Universidade de Santa Cruz do Sul. <micheleberferreira@mx2.unisc.br>

² Professora do Departamento de Educação Física e Saúde na Universidade de Santa Cruz do Sul. <lisianecarvalho@unisc.br>

³ Doutoranda em Patologia - UFCSPA. <pamelaferreiratodendi@gmail.com>

⁴ Aluna do Curso de Farmácia da Universidade de Santa Cruz do Sul. <elisaklinger@mx2.unisc.br>

⁵ Professora do Departamento de Educação Física e Saúde na Universidade de Santa Cruz do Sul. <mburgos@unisc.br>

⁶ Professora do Departamento de Biologia e Farmácia na Universidade de Santa Cruz do Sul. <liapossuelo@unisc.br>

⁷ Professora do Departamento de Biologia e Farmácia na Universidade de Santa Cruz do Sul. <avalim@unisc.br>

polymorphism rs1800795 in the *IL6* gene and the possible relationship with susceptibility to lung diseases in schools in Santa Cruz do Sul. It has realized a cross-sectional, descriptive and analytical study, comprising 240 children and adolescents aged between 7 and 17 years, from five schools in the city of Santa Cruz do Sul, RS. Genotyping was performed by real-time PCR and serum levels of IL-6 were determined by means of flow cytometric bead array (CBA). Statistical analysis was performed using SPSS version 20.0 program. The average age of the group was 13 years (± 3.13). Among the surveyed diseases, bronchitis and asthma were reported by 21.7% of respondents and 27.5% are exposed to smoking. The identified genotypic frequency was 44.2% GC, 43.8% GG and 12.1% CC. Students with pulmonary disease had a higher frequency of family history of lung disease ($p = 0.01$), however no relationship was observed between the polymorphism rs1800795 genotypes and mean levels of IL-6 in the presence or absence of pulmonary diseases.

Keywords: Lung diseases. Polymorphism. Susceptibility. Children. Teens.

1 INTRODUÇÃO

As doenças respiratórias afetam um grande percentual da população mundial, constituindo assim uma das principais causas de mortalidade e morbidade. Tanto em adultos quanto em crianças, a manifestação desses índices, no entanto, são ainda negligenciadas pelas atuais políticas de saúde (GAO et al., 2014; TOYOSHIMA et al., 2003; WHO, 2007). Além disso, ressaltamos o impacto que estas doenças podem causar principalmente no que se refere à diminuição ou incapacidade física funcional dos indivíduos (ILDEFONSO et al., 2009). Entre as doenças respiratórias, destacam-se as pulmonares, como a asma, bronquite, doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC) e o câncer de pulmão, as quais são altamente influenciadas pela interação gene-ambiente (ARBEX et al., 2012; COLAKOGULLARI et al., 2008; HE et al., 2009; KUO et al., 2006; NAWROT et al., 2006; SETTIN et al., 2008).

De uma maneira geral, as doenças pulmonares apresentam em comum o desencadeamento de um processo inflamatório que envolve diversos mecanismos, entre eles, a ação de citocinas (RINCON et al., 2012). As citocinas são importantes mediadoras da resposta inflamatória, dentre as quais se encontra a Interleucina-6 (IL-6), que possui característica pleiotrópica multifuncional com atividade pró e anti-inflamatória (KAMIMURA et al., 2003). A IL-6 é secretada por várias células e tecidos, como as células epiteliais das vias respiratórias, macrófagos alveolares, adipócitos e miócitos, desempenhando um papel central na resposta imune e conseqüentemente nos mecanismos de defesa do organismo (DONALDSON et al., 2005; HE et al., 2009; NEVEU et al., 2010; WALSTON et al., 2007).

O gene *IL6* está localizado na região 7p21 do cromossomo, sendo que sua transcrição e expressão podem ser influenciadas pela ocorrência de polimorfismo na região promotora,

acarretando variações inter-individuais ao risco de desenvolver determinadas patologias (FISHMAN et al., 1998; PANTSULAIA et al., 2002; TERRY et al., 2000). Diversos estudos têm sido desenvolvidos visando elucidar a influência de SNPs – polimorfismos de um nucleotídeo único – na suscetibilidade a diversas doenças (BARBISAN et al., 2012; BEN-SELMA et al., 2011; MYSLIWSKA et al., 2009; OANA et al., 2014). Em relação às doenças pulmonares, o SNP rs1800795 localizado na região -174 do gene *IL6*, que consiste na troca de uma base G por C, vem sendo pesquisado em diferentes populações como um possível fator de suscetibilidade e progressão destas patologias (COLAKOGULLARI et al., 2008; CÓRDOBA-LANÚS et al., 2008; SETTIN et al., 2008; TRAJKOV et al., 2008).

Considerando o impacto que as doenças pulmonares acarretam à qualidade de vida e ao reduzido número de estudos neste âmbito envolvendo crianças e adolescentes, nosso grupo objetivou avaliar a prevalência do polimorfismo rs1800795 no gene *IL6* em escolares de 7 a 17 anos de idade, bem como uma possível relação com a ocorrência de doenças pulmonares.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

As doenças respiratórias constituem um grave problema de saúde pública, afetando milhões de pessoas no mundo. Dentre eles, mais de 50% pertencem a países subdesenvolvidos ou a classes menos favorecidas (WHO, 2007). A ocorrência destas patologias impacta negativamente na qualidade de vida, acarreta em altas demandas aos serviços de saúde, além de levar ao óbito prematuro. Vários fatores contribuem para a ocorrência e o aumento da prevalência das doenças que afetam o pulmão, principalmente entre crianças e adolescentes, tais como agentes infecciosos, poluentes atmosféricos, exposição ativa ou passiva ao fumo (ARAÚJO et al., 2006; FONSECA et al., 2011; SOUSA et al., 2012).

As doenças pulmonares possuem como aspecto comum o processo inflamatório que envolve a ação de várias citocinas, as quais desenvolvem um papel central na coordenação da inflamação crônica (BARNES, 2008). Nos últimos anos, estudos têm avaliado a influência genética na suscetibilidade e progressão das doenças pulmonares, considerando a ocorrência de SNPs em regiões gênicas promotoras de citocinas envolvidas no processo inflamatório (GUO et al., 2012; XIAOMIN et al., 2008).

A Interleucina-6 é uma das citocinas mais amplamente estudadas, considerando sua ação na resposta imune do organismo, sendo produzida por várias células, entre elas os linfócitos T e as células epiteliais das vias aéreas (NEVEU et al., 2010). A IL-6 é uma citocina pró-inflamatória que exerce funções moduladoras importantes sobre as células T,

logo esta possui um papel relevante na imunidade e na resposta inflamatória (DIENZ et al., 2009). Deste modo, os níveis de IL-6 são considerados como um importante marcador do estado inflamatório das vias aéreas, principalmente nos períodos de exacerbação de doenças pulmonares como, por exemplo, a asma e a DPOC (EL-SHIMY et al., 2014; NEVEU et al., 2010; RINCON et al., 2012).

Alguns estudos têm avaliado a ocorrência de polimorfismos na região promotora do gene da IL-6, a fim de identificar possíveis relações destes com a ocorrência, suscetibilidade ou agravamento de doenças pulmonares (CÓRDOBA-LANÚS et al., 2008; DANESHMANDI et al., 2012; HE et al., 2009; KOSUGI et al., 2013; MAHDAVIANI et al., 2009). O polimorfismo rs1800795 (174G/C) foi associado à diminuição dos níveis de IL-6, assim indivíduos com o genótipo GG teriam níveis mais elevados da citocina (FISHMAN et al., 1998; MORSE et al., 1999). Deste modo, pacientes homozigóticos para o alelo C teriam uma resposta inflamatória menos intensa e, dessa forma, um melhor prognóstico nas doenças pulmonares.

Apesar dos crescentes estudos a respeito da influência do polimorfismo rs1800795 sobre as doenças pulmonares, poucos destes têm sido voltados a crianças e adolescentes. No entanto, estima-se que a ocorrência de doença pulmonar na infância pode repercutir na idade adulta, ou seja, crianças portadoras de asma possuem um maior risco para o desenvolvimento de DPOC na idade adulta (SILVA et al., 2004; SVANES et al., 2010; TAI et al., 2014). Sendo assim, a realização de pesquisas envolvendo polimorfismos relacionados a citocinas mediadoras na resposta inflamatória são extremamente importantes na busca por ferramentas que possibilitem diagnósticos mais precoces, principalmente em crianças e adolescentes, a fim de diminuir as morbidades e melhorar a qualidade de vida dos indivíduos.

3 METODOLOGIA

3.1 Sujeitos e delineamento do estudo

Foi realizado um estudo transversal, descritivo e analítico incluindo uma amostra de conveniência constituída por 240 crianças e adolescentes, com idades entre 7 e 17 anos, provenientes de cinco escolas do município de Santa Cruz do Sul, RS. A inclusão dos indivíduos na pesquisa ocorreu através do aceite e assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido pelos pais ou responsáveis. O material biológico utilizado nesta pesquisa (sangue) foi proveniente do biorrepositório do Mestrado em Promoção da Saúde da Universidade de Santa Cruz do Sul (UNISC). O presente estudo foi aprovado sob o protocolo

de número 562.043/14 pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Santa Cruz do Sul (UNISC).

3.2 Coleta dos dados e análise das amostras biológicas

Os dados empregados para a realização do estudo foram obtidos no período de abril a maio de 2014, através da realização de entrevistas feitas pelo telefone com os pais ou responsáveis pelos escolares. Eles foram questionados a respeito dos dados pessoais (nome do responsável e do escolar e o seu endereço), sociodemográficos (idade, sexo, etnia, escolaridade), histórico de doenças pregressas e atuais nos escolares e familiares (asma, bronquiolite, pneumonia, coqueluche, bronquite, DPOC, TB e câncer de pulmão) e sobre a exposição ao tabagismo.

A amostra de sangue coletada e utilizada para a análise (10 mL) foi acondicionada e armazenada em freezer -20°C . Para a extração de DNA, utilizamos o sangue total anticoagulado com EDTA e empregamos o método de *Salting out*, conforme descrito por Miller, Dykes e Polesky (1988).

A genotipagem do polimorfismo da IL-6 rs1800795 foi realizada através da técnica de PCR em tempo real no StepOne Plus® (Applied Biosystems, Foster City, CA, EUA), conforme as instruções do fabricante, utilizando ensaios de discriminação alélica. Utilizou-se sonda TaqMan™ rs1800795 (ensaio customizado) e Master Mix PCR Universal. O ensaio foi realizado em duplicata, apresentando precisão de 100%.

Os níveis de IL-6 foram mensurados através da utilização do soro de 71 escolares pela técnica de citometria de fluxo variedade pérola (CBA), usando kits de citocina humana BD™ CBA Human Soluble Protein Flex Set System (Becton–Dickinson, Heidelberg, Germany) conforme as instruções do fabricante. Para determinar os níveis de IL-6 na população estudada, utilizamos os valores de média para as análises, uma vez que não há pontos de corte descritos na literatura para os níveis de IL-6.

3.3 Análise estatística

A análise estatística foi realizada no programa SPSS versão 20.0. Utilizamos o teste χ^2 para as variáveis categóricas, sendo consideradas diferenças significativas para $p < 0,05$, com intervalo de confiança de 95%. Os resultados foram apresentados de forma descritiva, com frequências (%), médias e desvio padrão.

As frequências alélicas foram calculadas pela contagem direta dos alelos observados. A análise do Equilíbrio de Hardy-Weinberg (HWE) e χ^2 foram empregadas as diferenças significativas para $p > 0,05$.

4 RESULTADOS

Observamos que, do total de 240 escolares, 60% destes eram do sexo feminino e 84,6% eram brancos. Além disso, compreendiam 64,6% a faixa etária de 12 a 17 anos, sendo a idade média de 13 anos ($\pm 3,13$). Em relação à localização escolar, a maioria dos indivíduos (65,4%) pertencia a escolas da zona urbana do município. Quanto às doenças pulmonares pesquisadas, bronquite e asma foram descritas por 21,7% dos entrevistados. No que se refere à exposição diária ao tabagismo, verificamos que 27,5% dos escolares encontram-se sujeitos à fumaça de cigarro (Tabela 1).

Tabela 1 – Características sociodemográficas, epidemiológicas e exposição ao tabagismo

Características	n = 240 (%)
Sexo	
Feminino	144 (60,0)
Masculino	96 (40)
Faixa etária	
7 – 11 anos	85 (35,4)
12 – 17 anos	155 (64,6)
Etnia	
Branca	203 (84,6)
Parda	27 (11,3)
Negra	10 (4,2)
Doenças Respiratórias*	
Bronquite	28 (11,7)
Asma	24 (10,0)
Exposição ao tabagismo**	
Sim	66 (27,5)
Não	174 (72,5)

*Diagnóstico das pneumopatias relatado conforme questionário aplicado aos pais e responsáveis.

** Considerou-se exposto ao tabagismo o escolar que tinha contato diário com fumantes na residência.

A análise genotípica do polimorfismo rs1800795 demonstrou que 44,2% dos escolares apresentavam genótipo GC, 43,8% GG e 12,1% CC. A frequência do alelo C foi de 34,2% e do alelo G 65,8%. Não foi encontrada relação entre a presença do alelo de risco e a ocorrência de doenças pulmonares nos indivíduos estudados. Entre as variáveis preditoras das

doenças pulmonares, observamos que os escolares portadores das pneumopatias tinham maior frequência de histórico familiar de doenças pulmonares ($p=0,01$) (Tabela 2).

Tabela 2 – Fatores preditores de doença pulmonar

Variáveis	DOENÇA PULMONAR*		TOTAL N=240 (%)	p
	Sim N=52 (%)	Não N=188 (%)		
Faixa etária				
7 - 11 anos	19 (36,5)	66 (35,1)	85 (35,4)	0,48
12 – 17 anos	33 (63,5)	122 (64,9)	155 (64,6)	
Exposição ao tabagismo	16 (29,1)	50 (27)	66 (27,5)	0,44
Histórico familiar**	21 (40,4)	45 (23,9)	66 (27,5)	0,01
Zona escolar				
Urbana	35 (67,3)	122 (64,9)	157 (65,4)	0,44
Rural	17 (32,7)	66 (35,1)	83 (34,6)	
SNP rs1800795				
CC + GC	29 (55,8)	106 (56,4)	135 (56,2)	0,53
GG	23 (44,2)	82 (43,6)	105 (43,8)	

*Asma ou Bronquite.

**Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica (DPOC), Tuberculose (TB), Câncer de Pulmão ou Asma.

Na Tabela 3, encontram-se as análises dos níveis médios séricos de IL-6 em relação aos genótipos e a presença ou não de doença pulmonar. Não foi encontrada relação estatisticamente significativa, mas observou-se que os níveis médios de IL-6 foram mais elevados nos indivíduos que apresentavam o alelo C e eram portadores de doença pulmonar. Já entre os escolares que não apresentavam doença pulmonar, os portadores do genótipo GG tiveram os níveis médios da citocina mais elevados.

Tabela 3 – Níveis médios séricos de IL-6 em relação ao genótipo de acordo com a presença ou ausência de doença pulmonar

Genótipo rs1800795	Níveis médios IL-6*	
	Doença Pulmonar	
	Sim (n)	Não (n)
GG	11,628 (10) ± 2,698	12,212 (27) ± 4,543
GC+CC	13,427 (10) ± 4,377	11,128 (24) ± 3,263
Valor p	0,283	0,338

*Níveis séricos de IL-6 n=71 escolares.

5 DISCUSSÃO

As doenças pulmonares representam uma das mais prevalentes morbidades entre a população, influenciando na qualidade de vida e gerando uma alta demanda nos serviços e recursos de saúde pública. A ocorrência de um processo inflamatório é o aspecto comum entre

essas doenças, sendo que as diversas citocinas envolvidas nesta situação possuem papel chave tanto na progressão da patologia quanto no reestabelecimento da normalidade do organismo (ALDONYTE et al., 2003; BARNES, 2008; MOERMANS et al., 2011, NEVEU et al., 2010). A IL-6 é reconhecida como uma citocina multifuncional, envolvida nas funções imunitárias, possuindo um importante papel na progressão de várias doenças (DIENZ et al., 2009; ; HE et al., 2009; LI et al., 2014; TOTARO et al., 2013; WU et al., 2012). A presença de polimorfismos no gene da IL-6 tem sido objeto de pesquisas, dentre os quais o rs1800795 é um dos mais estudados, visando identificar associações entre genótipos, suscetibilidade e progressão de doenças pulmonares.

No grupo estudado, a predominância era do sexo feminino e da etnia branca. Em relação às doenças, a asma e a bronquite foram as mais relatadas, além disso, mais da metade dos escolares não se encontram expostos ao tabagismo. Verificou-se a ocorrência de 12,1% do genótipo CC, 44,2% GC e 43,8% GG, sendo o alelo G mais frequente. Estas frequências foram semelhantes às descritas em outras pesquisas realizadas com indivíduos indianos, italianos e brasileiros (GAN et al., 2013; UBOLDI DE CAPEI et al., 2003; VISENTAINER et al., 2008). Em estudo realizado no Brasil, por Gadelha e colaboradores (2005) foi observado que indivíduos de descendência europeia – alemã – possuem maior frequência do genótipo CC (19,15%) quando comparados a outras descendências étnicas, como a africana (4%).

A análise do SNP rs1800795 nos grupos de escolares não apresentou diferença estatisticamente significativa, assim não foi identificada relação positiva entre um genótipo de risco e a ocorrência de doenças pulmonares. O polimorfismo em estudo no gene da IL-6 tem sido alvo de pesquisas em várias partes do mundo, como um possível fator determinante para a suscetibilidade à asma, DPOC, tuberculose, pneumonia e câncer de pulmão (AMIRZARGAR et al., 2006; COLAKOGULLARI et al., 2008; HE et al., 2009; TRAJKOV et al., 2008; ZIDAN et al., 2014). Em estudo realizado com crianças egípcias por Settin e colaboradores (2008), foi observado que aquelas que eram portadoras de asma tiveram uma maior frequência do genótipo GG.

Entre os fatores preditores de doenças pulmonares avaliados, verificamos que os escolares portadores de doença pulmonar apresentavam a maior ocorrência de histórico familiar destas patologias ($p=0,01$). Conforme Willemsen e colaboradores (2008), a hereditariedade é um importante fator a ser considerado na suscetibilidade à asma, contribuindo em 75% para a presença da doença. Em um estudo realizado com indivíduos italianos, o histórico familiar de asma foi associado a um risco três vezes maior em desenvolver a doença e a uma porcentagem de herdabilidade correspondente a de 92%, ou

seja, o fator genético possui extrema relevância na suscetibilidade à doença (FAGNANI et al., 2008)

Nossas análises não mostraram resultados estatisticamente significativos entre a ocorrência de doença pulmonar, faixa etária, zona escolar, exposição ao fumo e frequências genótípicas. No entanto, entre os fatores ambientais relacionados ao desenvolvimento e/ou agravamento das doenças pulmonares, destaca-se a exposição ativa ou passiva ao tabagismo, como um dos principais contribuintes para essas patologias. Diversos estudos têm avaliado a influência da exposição ao tabagismo, tanto na infância quanto na idade adulta, e encontrado relação positiva desta para a suscetibilidade e agravamento das doenças pulmonares. Além disso, também se observou uma redução da função pulmonar e maior incidência de internações hospitalares de crianças expostas passivamente ao fumo (CARROL et al., 2007; LINDBERG et al., 2005; TABUCHI et al., 2015).

Na literatura citada anteriormente, há divergência quanto ao efeito de cada alelo na transcrição e expressão da citocina, de modo que, pesquisas realizadas envolvendo indivíduos com DPOC e asma, citam que a ocorrência de variantes genéticas produziria níveis mais baixos de IL-6 e associam essa variante com a capacidade pulmonar reduzida (DANESHMANDI et al., 2012; HE et al., 2009). Já outros estudos descrevem que a ocorrência do alelo G estaria associada a maiores níveis séricos de IL-6 e, conseqüentemente, a um maior risco no desenvolvimento e agravamento de doenças (FISHMAN et al., 1998; BONAFÈ et al., 2001; PEREIRA et al., 2011). Em nosso estudo, a análise dos níveis médios circulantes de IL-6 comparada aos genótipos do SNP rs1800795 e aos grupos com e sem doença pulmonar não demonstrou relação positiva, no entanto, verificou-se que os escolares com doença pulmonar portadores do genótipo GG apresentaram níveis menores da citocina.

Estudos demonstram que a ocorrência do polimorfismo rs1800795/C interfere na expressão da IL-6, bem como nos níveis plasmáticos desta (FISHMAN et al., 1998; MORSE et al., 1999). Deste modo, sugere-se que o alelo C seria um possível fator protetor, contribuindo para uma resposta inflamatória mediada pela IL-6 menos acentuada, ou seja, indivíduos homocigóticos para este alelo teriam um melhor prognóstico das doenças inflamatórias que afetam o trato respiratório (EDDAHIB et al., 2006). Em oposição a estas informações, nossas análises demonstraram que os escolares portadores de doença pulmonar e do genótipo GG tiveram níveis médios menores em comparação aos escolares portadores do mesmo genótipo e que não tinham doença pulmonar.

6 CONCLUSÃO

O presente estudo possibilitou identificar a prevalência de 34,2% do polimorfismo rs1800795/C no grupo de escolares estudado, bem como a porcentagem de indivíduos que se encontra exposta ao tabagismo (27,5%) e a influência significativa do histórico familiar na ocorrência de doenças pulmonares ($p=0,01$). Além disso, ressaltamos a necessidade de mais estudos, envolvendo crianças e adolescentes, que investiguem a relação entre a susceptibilidade a estas doenças e polimorfismos em genes envolvidos na resposta imune que contribuem no processo inflamatório.

Ainda existem lacunas tanto em dados epidemiológicos quanto na busca por possíveis marcadores preditivos de doenças pulmonares, principalmente envolvendo crianças e adolescentes. A busca por novos diagnósticos visando identificar fatores associados à susceptibilidade e agravos, como o efeito de polimorfismos às doenças pulmonares, é de extrema relevância, a fim de possibilitar ações preventivas e diminuir morbidades e taxas de mortalidade.

7 AGRADECIMENTOS

Agradecemos à Universidade de Santa Cruz do Sul (UNISC), à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), ao Programa de Pós-Graduação em Promoção da Saúde (PPGPS/UNISC), ao Laboratório de Genética e Toxicologia da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre e a Prof. Doutora Dinara Jaqueline Moura. Os autores também agradecem aos escolares, pais, professores e aos voluntários por participarem da pesquisa.

REFERÊNCIAS

ALDONYTE, R. et al. Circulating monocytes from healthy individuals and COPD patients. *Respiratory Research*, Filadélfia, n. 4, v. 11, set. 2003.

AMIRZARGAR, A. A. et al. Cytokine single nucleotide polymorphisms in Iranian patients with pulmonar tuberculosis. *European Citokine Network*, [S.I.], n. 2, v. 17, p. 84-89, jun. 2006.

ARAÚJO, A. M. F.; SILVA, A. H. M. F. T.; VABO, R. V. do. Prevalência de sintomas e doenças respiratórias em crianças na idade escolar, fumantes ou não-fumantes passivas. *Pulmão RJ*, Rio de Janeiro, n. 1, v.15, p. 16-19, mar. 2006.

- ARBEX, M. A. et al. A poluição do ar e o sistema respiratório. *Jornal Brasileiro de Pneumologia*, Brasília, n. 5, v. 38, p. 643-655, set./out. 2012.
- BEN-SELMA, W.; HARIZI, H.; BOUKADIDA, J. Association of TNF- α and IL-10 polymorphisms with tuberculosis in Tunisian populations. *Microbes and Infection*, [S.I.], n. 10, v. 13, p. 837-843, set. 2011.
- BARBISAN, G. et al. TNF- α and IL-10 promoter polymorphisms, HPV infection, and cervical cancer risk. *Tumor Biology*, [S.I.], n. 5, v. 33, p. 1549-1556, out. 2012.
- BARNES, P.J. The cytokine network in asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *Journal of Clinical Investigation*, [S.I.], n. 11, v. 118, p. 3546-3556, nov. 2008.
- BONAFÈ, M. et al. A gender-dependent genetic predisposition to produce high levels of IL-6 is detrimental for longevity. *European Journal of Immunology*, [S.I.], n. 8, v. 31, p. 2357-2361, ago. 2001.
- CARROLL, K.N. et al. Maternal asthma and maternal smoking are associated with increased risk of bronchiolitis during infancy. *Pediatrics*, [S.I.], n. 6, v. 119, p. 1104-1112, jun. 2007.
- COLAKOGULLARI, M. et al. The involvement of IL-10, IL-6, IFN- γ , TNF- α and TGF- β gene polymorphisms among Turkish lung cancer patients. *Cell Biochemistry and Function*, [S.I.], n. 3, v. 26, p. 283-290, abr. 2008.
- CÓRDOBA-LANÚS, E. et al. Association of IL-6 gene polymorphisms and COPD in a Spanish population. *Respiratory Medicine*, [S.I.], n. 12, v. 102, p. 1805-1811, dez. 2008.
- DANESHMANDI, S. et al. Cytokine gene polymorphism and asthma susceptibility, progress and control level. *Molecular Biology Reports*, [S.I.], n. 2, v. 39, p. 1845-1853, fev. 2012.
- DIENZ, O.; RINCON, M. The effects of IL-6 on CD4 T cell responses. *Clinical Immunology*, [S.I.], n. 1, v. 130, p. 27-33, jan. 2009.
- DONALDSON, G. C. et al. Airway and systemic inflammation and decline in lung function in patients with COPD. *Chest*, [S.I.], n. 4, v. 128, p. 1995-2004, out. 2005.
- EDDAHIBI, S. et al. Interleukin-6 gene polymorphism confers susceptibility to pulmonary hypertension in chronic obstructive pulmonary disease. *Proceedings of the American Thoracic Society*, [S.I.], n. 6, v. 3, p. 475-476, ago. 2006.
- EL-SHIMY, W. S. et al. A study of IL-6, IL-8, and TNF- α as inflammatory markers in COPD patients. *The Egyptian Journal of Bronchology*, [S.I.], n. 2, v. 8, p. 91-99, nov. 2014.
- FAGNANI, C. et al. Heritability and shared genetic effects of asthma and hay fever: an Italian study of young twins. *Twin Research and Human Genetics*, [S.I.], n. 2, v. 11, p. 121-131, abr. 2008.
- FISHMAN, D. et al. The effect of novel polymorphisms in the interleukin-6 (IL-6) gene on IL-6 transcription and plasma IL-6 levels, and an association with systemic-onset juvenile

chronic arthritis. *Journal of Clinical Investigation*, [S.I.], n. 7, v. 102, p. 1369-1376, out. 1998.

FONSECA, F.R.; VASCONCELOS, C.H. Estudo da distribuição de doenças respiratórias no estado de Santa Catarina, Brasil. *Caderno de Saúde Coletiva*, Rio de Janeiro, n. 4, v. 19, p. 454-60, out/dez.2011.

GADELHA, S. R. et al. Ethnic differences in the distribution of interleukin-6 polymorphisms among three Brazilian ethnic groups. *Human Biology*, [S.I.], n. 4, v. 77, p. 509-514, ago. 2005.

GAN, G. G. et al. Ethnic variation in interleukin-6 -174 (G/C) polymorphism in the malaysian population. *Balkan Journal of Medical Genetics*, [S.I.], n. 2, v. 16, p. 53-58, dez. 2013.

GAO, Y. et al. Chronic effects of ambient air pollution on respiratory morbidities among Chinese children: a cross-sectional study in Hong Kong. *BMC Public Health*, [S.I.], n. 105, v. 14, p. 1-11, fev. 2014.

GUO, Y. et al. Association of genetic polymorphisms with chronic obstructive pulmonary disease in the Chinese Han population: a case-control study. *BMC Medical Genomics*, [S.I.], n. 64, v. 5, p. 1-19, dez. 2012.

HE, J. Q. et al. Associations of IL-6 polymorphisms with lung function decline and COPD. *Thorax*, [S.I.], n. 8, v. 64, p. 698-704, ago. 2009.

ILDEFONSO, S. de A.G. et al. Prevalência de benefícios de seguridade social temporários devido a doença respiratória no Brasil. *Jornal Brasileiro de Pneumologia*, São Paulo, n. 1, v. 35, p. 44-53, jan. 2009.

KAMIMURA, D.; ISHIHARA, K.; HIRANO, T. IL-6 signal transduction and its physiological roles: the signal orchestration model. *Reviews of Physiology, Biochemistry and Pharmacology*, [S.I.], v. 149, p. 1-38, abr. 2003.

KOSUGI, E.M. et al. Interleukin-6 -174 G/C promoter gene polymorphism in nasal polyposis and asthma. *Rhinology*, [S.I.], n. 1, v. 51, p. 70-76, mar. 2013.

KUO, C.Y. et al. Accumulation of chromium and nickel metals in lung tumors from lung cancer patients in Taiwan. *Journal of Toxicology Environmental Health*, [S.I.], n. 14, v. 69, p. 1337-1344, jul. 2006

LI, F. et al. Association between interleukin-6 gene polymorphisms and rheumatoid arthritis in Chinese Han population: A case-control study and ameta-analysis. *Scientific Reports*, Londres, n. 5714, v. 4, p. 1-5, jul. 2014.

LINDBERG, A. et al. Ten-year cumulative incidence of COPD and risk factors for incident disease in a symptomatic cohort. *Chest*, [S.I.], n. 5, v. 127, p. 1544-1552, maio 2005.

MAHDAVIANI, S. A. et al. Proinflammatory Cytokine Gene Polymorphisms among Iranian patients with Asthma. *Journal of clinical immunology*, [S.I.], n. 1, v. 29, p. 57-62, jan. 2009.

- MILLER, S. A.; DYKES, D. D.; POLESKY, H. F. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Research*, [S.I.], n. 3, v. 16, p. 1215, fev. 1988.
- MOERMANS, C. et al. Local and systemic cellular inflammation and cytokine release in chronic obstructive pulmonary disease. *Cytokine*, [S.I.], n. 2, v. 56, p. 298-304, nov. 2011.
- MORSE, H.R. et al. Induced heteroduplex genotyping of TNF-alpha, IL-1beta, Il-6 and IL-10 polymorphisms associated with transcriptional regulation. *Cytokine*, [S.I.], n. 10, v. 11, p. 789-795, out. 1999.
- MYSLIWSKA, J. et al. The 174GG interleukin-6 genotype is protective from retinopathy and nephropathy in juvenile onset type 1 diabetes mellitus. *Pediatric Research*, [S.I.], n. 3, v. 66, p. 341-345, set. 2009.
- NAWROT, T. et al. Environmental exposure to cadmium and risk of cancer: a prospective population-based study. *Lancet Oncology*, [S.I.], n. 2, v.7, p. 119-126, fev. 2006.
- NEVEU, W.A. et al. Elevation of IL-6 in the allergic asthmatic airway is independent of inflammation but associates with loss of central airway function. *Respiratory Research*, [S.I.], n. 28, v. 11, p. 11-28, mar. 2010.
- OANA, M. C. et al. The role of IL-6 572 G/C, 190 C/T and 174 G/C gene polymorphism in children's obesity. *European Journal of Pediatrician*, [S.I.], n. 10, v. 173, p. 1285-1296, abr. 2014.
- PANTSULAIA, I. et al. Genetic and environmental influences on IL-6 and TNF-alpha plasma levels in apparently healthy general population. *Cytokine*, [S.I.], n. 3, v. 19, p. 138-146, ago. 2002.
- PEREIRA, D.S. et al. Effects of -174 G/C polymorphism in the promoter region of the interleukin-6 gene on plasma IL-6 levels and muscle strength in elderly women. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, [S.I.], n. 2, v. 44, p. 123-129, fev 2011.
- RINCON, M.; IRVIN, C.G. Role of IL-6 in asthma and other inflammatory pulmonary diseases. *International Journal of Biological Sciences*, [S.I.], n. 9, v.8, p. 1281-1290, out. 2012.
- SETTIN, A. et al. Gene polymorphisms of IL-6(-174) G/C and IL-1Ra VNTR in asthmatic children. *Indian Journal of Pediatrics*, [S.I.], n. 10, v. 75, p.1019-1023, out. 2008.
- SILVA, G. E. et al. Asthma as a risk factor for COPD in a longitudinal study. *Chest*, [S.I.], n. 1, v. 126, p. 59-65, jul. 2004.
- SOUSA, C.A. et al. Doenças respiratórias e fatores associados: estudo de base populacional em São Paulo, 2008-2009. *Revista de Saúde Pública*, São Paulo, n. 1, v. 46, p. 16-25, fev. 2012.

- SVANES, C. et al. Early life origins of chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax*, [S.I.], n. 1, v. 65, p. 14-20, jan. 2010.
- TABUCHI, T. et al. Maternal and paternal indoor or outdoor smoking and the risk of asthma in their children: a nationwide prospective birth cohort study. *Drug and Alcohol Dependence*, [S.I.], n. 1, v. 147, p. 103-108, fev. 2015.
- TAI, A. et al. The association between childhood asthma and adult chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax*, [S.I.], n. 9, v. 69, p. 805-810, mar. 2014.
- TERRY, C. F.; LOUKACI, V.; GREEN, F. R. Cooperative influence of genetic polymorphisms on interleukin 6 transcriptional regulation. *The Journal of Biological Chemistry*, [S.I.], n. 24, v. 275, p. 18138-18144, jun. 2000.
- TOTARO, T. et al. Impact of interleukin-6 – 174 G>C gene promoter polymorphism on neuroblastoma. *Plos One*, São Francisco, n. 10, v. 8, p. 76810, out. 2013.
- TOYOSHIMA, M.T.K.; MUNEMASA, G.; GOUVEIA, N. Tendências temporais da morbidade e da mortalidade por doenças respiratórias na cidade de São Paulo. *Revista Medicina*, São Paulo, n. 1-4, v. 82, p. 67-77, jan./dez. 2003.
- TRAJKOV, D. et al. Association of cytokine gene polymorphisms with bronchial asthma in Macedonians. *Iran Journal of Allergy, Asthma and Immunology*, [S.I.], n. 3, v. 7, p. 143-156, set. 2008.
- UBOLDI DE CAPEI, M. U. et al. Genotyping for cytokine polymorphisms: allele frequencies in the Italian population. *European Journal of Immunogenetics*, [S.I.], n. 1, v. 30, p. 5-10, fev. 2003.
- VISENTAINER, J. E. L. et al. TNF, IFNG, IL6, IL10 and TGFB1 gene polymorphisms in South and Southeast Brazil. *International Journal of Immunogenetics*, [S.I.], n. 4-5, v. 35, p. 287-293, ago. 2008.
- WALSTON, J. D. et al. IL-6 gene variation is associated with IL-6 and C reactive protein levels but not cardiovascular outcomes in the Cardiovascular Health Study. *Human Genetics*, [S.I.], n. 5, v. 122, p. 485-494, set. 2007.
- WILLEMSSEN, G. et al. Heritability of self-reported asthma and allergy: a study in adult Dutch twins, siblings and parents. *Twin Research and Human Genetics*, [S.I.], n. 2, v. 11, p. 132-142, abr. 2008.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. Global surveillance, prevention and control of chronic respiratory diseases: a comprehensive approach. Disponível em: http://www.who.int/gard/publications/GARD_Manual/en/. Acesso em: 11 maio 2015.
- WU, W. et al. The predictive value of TNF- α and IL-6 and the incidence of macrovascular complications in patients with type 2 diabetes. *Acta Diabetologica*, [S.I.], n. 1, v. 49, p. 3-7, fev. 2012.

XIAOMIN, L. et al. Correlation between genetic polymorphism of cytokine genes, plasma protein levels and bronchial asthma in the han people in northern China. *Journal of Asthma*, [S.I.], n. 7, v. 45, p. 583–589, set. 2008.

ZIDAN, H. E.; ELBEHEDY, R. M.; AZAB, S. F. IL6-174 G/C gene polymorphism and its relation to serum IL6 in Egyptian children with community-acquired pneumonia. *Cytokine*, [S.I.], n. 2, v.67, p. 60-64, jun. 2014.