



## REVISIÓN

# Lesión pulmonar aguda y síndrome de distrés respiratorio agudo: una perspectiva genómica

P. Cardinal-Fernández<sup>a,\*</sup>, N. Nin<sup>b</sup> y J.A. Lorente<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Unidad de Cuidados Intensivos, CASMU-IAMPP-Hospital Central de las Fuerzas Armadas, Montevideo, Uruguay

<sup>b</sup> Unidad de Cuidados Intensivos y Grandes Quemados, Hospital Universitario de Getafe, Madrid, España

Recibido el 3 de septiembre de 2010; aceptado el 2 de febrero de 2011

Disponible en Internet el 22 de marzo de 2011

### PALABRAS CLAVE

Polimorfismo;  
LPA;  
SDRA;  
Susceptibilidad;  
Genómica;  
Medicina crítica

### KEYWORDS

Polymorphism;  
ALI;  
ARDS;  
Susceptibility;  
Genomic;  
Critical care

**Resumen** Recientemente la genómica ha adquirido una enorme relevancia, permitiendo sustanciales avances en el conocimiento de la etiología y patogenia de entidades complejas como la lesión pulmonar aguda (LPA) y el síndrome de distrés respiratorio agudo (SDRA).

La medicina genómica procura personalizar y optimizar el diagnóstico, pronóstico y tratamiento mediante el reconocimiento de la influencia que ejercen los polimorfismos genéticos en enfermedades específicas.

Uno de los principales desafíos que la comunidad científica debe afrontar es lograr que este conocimiento sea transferido pertinente y rápidamente a la práctica clínica. En caso contrario, es posible que los pacientes sean sometidos a un riesgo innecesario.

En el presente artículo se describen los principales aspectos de la medicina genómica en la LPA/SDRA y cuáles son las aplicaciones clínicas actuales.

© 2010 Elsevier España, S.L. y SEMICYUC. Todos los derechos reservados.

### Acute lung injury and acute respiratory distress syndrome: a genomic perspective

**Abstract** Genomics have allowed important advances in the knowledge of the etiology and pathogenesis of complex disease entities such as acute lung injury (ALI) and acute respiratory distress syndrome (ARDS).

Genomic medicine aims to personalize and optimize diagnosis, prognosis and treatment by determining the influence of genetic polymorphisms in specific diseases.

The scientific community must cope with the important challenge of securing rapid transfer of knowledge to clinical practice, in order to prevent patients from becoming exposed to unnecessary risks.

\* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: [pablocardinal@hotmail.com](mailto:pablocardinal@hotmail.com) (P. Cardinal-Fernández).

URL: <http://www.genes.com.uy> (P. Cardinal-Fernández).

In the present article we describe the main concepts of genomic medicine pertaining to ALI/ARDS, and its currently recognized clinical applications.

© 2010 Elsevier España, S.L. and SEMICYUC. All rights reserved.

## Introducción

Hace 10 años aproximadamente, líderes de los Estados Unidos y el Reino Unido acompañados por representantes de grupos científicos anunciaron el primer borrador del Proyecto Genoma Humano (PGH)<sup>1</sup>. Su publicación marcó el inicio de la era posgenómica, al tiempo que cambió radical e irreversiblemente nuestra forma de concebir la salud y la enfermedad<sup>2,3</sup>. Una de las principales áreas que se beneficiaron de esta explosión del conocimiento fue la investigación médica básica, en particular la genómica<sup>4</sup>.

Durante el siglo xx, se definieron la mayoría de las enfermedades genéticas, las cuales se caracterizan por corresponderse con una única mutación y explicar muy pocas muertes debido a que su frecuencia en la población general es relativamente baja. En años recientes se incorporó el concepto de genética de las enfermedades, en referencia al estudio de la influencia que ejercen determinadas variantes nucleotídicas en la susceptibilidad y el pronóstico de enfermedades complejas y frecuentes como, entre otras, la diabetes<sup>5,6</sup>, la hipertensión arterial<sup>7,8</sup>, la lesión pulmonar aguda (LPA) y el síndrome de distrés respiratorio agudo (SDRA)<sup>9,10</sup>. En estas enfermedades, a diferencia de lo que sucede en las enfermedades genéticas, hay muchos genes involucrados con variantes normales denominadas polimorfismos. Los polimorfismos, actuando en ambientes específicos, son capaces de modificar la susceptibilidad y/o determinar la gravedad para determinadas enfermedades<sup>11</sup>.

William Osler (1849-1919) fue el primero en reconocer que «la variabilidad es la regla de la vida, al igual que no existen dos rostros iguales, no hay dos cuerpos iguales ni dos individuos que reaccionen igual ante circunstancias anormales como la enfermedad»<sup>12</sup>. La medicina genómica procura personalizar y optimizar el diagnóstico, el pronóstico y el tratamiento de las enfermedades mediante el reconocimiento de la influencia que ejercen las normales y frecuentes variantes genómicas existentes entre distintos individuos.

El vertiginoso desarrollo de la medicina genómica o personalizada ha determinado que actualmente cientos de variantes genéticas hayan sido asociadas a la susceptibilidad o severidad de distintas enfermedades. Cerca del 10% de los medicamentos aprobados por la Food and Drugs Administration (FDA) de los Estados Unidos contienen información farmacogenómica en su etiqueta<sup>13</sup>, y se están comenzado a utilizar exámenes diagnósticos basados en la identificación de esas variantes, u otros mecanismos moleculares capaces de predecir individualmente la respuesta a determinadas terapias<sup>14</sup>.

Uno de los principales desafíos que la comunidad científica debe afrontar es lograr que este conocimiento sea transferido pertinente y rápidamente a la práctica clínica.

De otra forma, es posible que algunos pacientes se expongan a riesgos innecesarios.

En el presente artículo se describen los principales aspectos de la medicina genómica en la LPA/SDRA y cuáles son las aplicaciones clínicas actualmente disponibles.

## Variabilidad genética: polimorfismos

La descripción del genoma humano evidenció la existencia de tan sólo 20.000 o 25.000 genes aproximadamente en lugar de los 100.000 estimados previamente. El 99% de la secuencia nucleotídica es idéntica entre los distintos individuos<sup>2,3</sup>, a pesar de lo cual cada uno de los aproximadamente 6.800 millones de habitantes de la tierra son diferentes e individuales. Gran parte de estas diferencias, refiriéndose exclusivamente al aspecto genético, radican en la presencia de polimorfismos.

Los polimorfismos se caracterizan por ser variantes normales de la secuencia del ácido desoxirribonucleico (ADN). Por definición, se considera polimorfismo la variante que se encuentra en más del 1% de la población y que determina la existencia de al menos dos alelos<sup>15</sup>. El alelo más frecuente es denominado nativo (*wild type*) y el otro (u otros) polimórfico. Debido a que la frecuencia de los polimorfismos de cada gen varía entre las distintas poblaciones y áreas geográficas, el alelo nativo y el/los polimórfico/s son específicos para cada población.

A diferencia de las mutaciones, los polimorfismos, individualmente considerados, no causan enfermedades específicas. Por ejemplo, la LPA y el SDRA están desencadenados evidentemente por factores ambientales, como la sepsis o el traumatismo, y no existe un único gen que sea el causante de su desarrollo. Sin embargo, la variabilidad en la susceptibilidad y/o la gravedad entre distintos individuos si está influida por factores genéticos.

Los polimorfismos pueden ser de diferentes tipos:

- De nucleótido simple (*single nucleotide polymorphism*, SNP), que consiste en la sustitución de un único nucleótido por otro. En el genoma humano se encuentran registrados más de 3,1 millones de SNP<sup>16,17</sup>, constituyendo el tipo más frecuente.
- De longitud de fragmentos de restricción (*restriction fragment length polymorphism*, RFLP). Se trata de secuencias específicas de nucleótidos capaces de ser reconocidas y cortadas por enzimas de restricción. Un individuo puede tener o no la secuencia y, por consiguiente, ser polimórfico o no.
- Repetición en tándem de número variable (*variable number tandem repeat*, VNTR). Consiste en secuencias específicas de ADN que se repiten; el alelo que presenta

el número de repeticiones más frecuente en la población se denomina nativo y los demás son polimórficos<sup>18</sup>.

Los polimorfismos pueden actuar:

1. Directamente, en el caso en que la presencia del polimorfismo se asocie con la variación en el riesgo de determinado evento, por ejemplo, mortalidad o susceptibilidad respecto a controles sanos o a pacientes en riesgo que no desarrollan la enfermedad.
2. En «grupo ligado», constituyendo un haplotipo. Por ejemplo, la uroquinasa es una serina proteasa que transforma el plasminógeno en plasmina<sup>19,20</sup>. Arcaroli et al<sup>21</sup> comunicaron que el haplotipo conformado por los SNP rs1916341C/ rs2227562G/ rs2227564C/ rs2227566C/ rs2227568C/ rs4066C está asociado a una mayor mortalidad a 60 días en pacientes con LPA y SDRA, a pesar de que cada variante considerada individualmente no llegó a tener significación estadística.
3. En «grupo no ligado», constituyendo combinaciones de genotipos. Por ejemplo, Schroeder et al<sup>22</sup> analizaron la relación de SNP de interleucinas con la susceptibilidad a la LPA/SDRA. Encontraron que la presencia en el mismo individuo del genotipo rs114634TC y el rs1800872AC se asociaba a un riesgo 12 veces superior de desarrollar LPA, a pesar de que individualmente no estaban asociados al desarrollo de LPA y que sus genes (IL1 $\beta$  e IL10, respectivamente) están localizados en cromosomas diferentes.

## LPA y SDRA: un fenotipo «imperfecto»

Una de las principales limitaciones que presentan los estudios de asociación genética con la LPA/SDRA es la ausencia de un fenotipo que sea fácilmente reconocible, objetivo y reproducible entre distintos observadores.

El estándar para el diagnóstico de LPA/SDRA es la demostración histológica de daño alveolar difuso. Sin embargo, generalmente no se dispone de esta información en la práctica clínica<sup>23,24</sup>.

La Conferencia de Consenso Americano-Europeo definió LPA/SDRA según criterios clínicos, radiológicos y gasométricos<sup>25</sup>. Múltiples trabajos han demostrado que el cumplimiento de los criterios depende del patrón ventilatorio instaurado, que son difíciles de reconocer y que existe escasa concordancia en su identificación por distintos observadores.

Villar et al<sup>26</sup>, tras aplicar los mismos patrones ventilatorios en 170 pacientes que cumplían los criterios de consenso, encontraron que la mencionada definición sobrestima la incidencia del SDRA y subestima la mortalidad.

Los cambios en el criterio gasométrico en función de la fracción inspirada de oxígeno (FiO<sub>2</sub>) fueron estudiados por Gowda et al<sup>27</sup> y por Ferguson et al<sup>28</sup>. Ambos grupos coinciden en que la relación PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub> es modificada por los cambios en la FiO<sub>2</sub>. La aplicación de presión positiva al final de la espiración (PEEP) y las maniobras de reclutamiento mejoran la oxigenación<sup>29,30</sup>, y el decúbito prono mejora la mortalidad en situaciones extremas<sup>31,32</sup>. Los tres son procedimientos de uso habitual en la UCI; sin embargo, no son considerados en la definición de la conferencia de consenso.

El patrón radiológico fue analizado en dos trabajos, ambos muestran una concordancia moderada en la interpretación de las radiografías entre distintos observadores<sup>33,34</sup>.

El reconocimiento de la LPA/SDRA es extremadamente difícil aun para especialistas entrenados. Ferguson et al<sup>35</sup> estudiaron la historia clínica de 138 pacientes en los que se realizó autopsia. Encontraron que sólo 20 de los 42 pacientes con LPA/SDRA histológicamente confirmada habían sido reconocidos clínicamente previamente al fallecimiento.

Por último, es de destacar la moderada concordancia entre la presencia de los cambios histológicos y los criterios de la Conferencia de Consenso Americano-Europeo. Esteban et al<sup>36</sup>, en 382 autopsias de pacientes fallecidos en la unidad de cuidados intensivos, encontraron que la sensibilidad y la especificidad de la definición del consenso son del 75 y el 84% respectivamente, en comparación con los hallazgos histológicos.

## Aproximaciones al estudio genético de la LPA/SDRA

Existen dos enfoques «clásicos» para el estudio genético de las enfermedades complejas: a) el abordaje amplio del genoma (*genome wide approach*, GWA), y b) el estudio de genes candidatos (*candidate gene approach*, CGA).

El estudio amplio del genoma implica el análisis de un gran número de polimorfismos distribuidos en todo el genoma mediante el empleo de «chips de ADN» (*arrays*). La estructura del genoma en «haplotipos» permite que, conociendo una posición (*locus*), se puedan predecir los *loci* adyacentes hasta una distancia aproximada de  $3 \times 10^4$  pares de bases<sup>37</sup>. Por lo tanto, con  $50 \times 10^4$  *loci* «marcadores» se puede estudiar todo el genoma humano, que contiene  $3 \times 10^9$  nucleótidos<sup>38</sup>.

Las limitaciones de los GWA están en relación con que proporcionan información sobre *loci*, pero no sobre genes *per se*, y con las dificultades de interpretación cuando existen múltiples alelos en una misma población<sup>39</sup>. Este tipo de estudio procura identificar qué *loci* están asociados con determinada enfermedad, siendo necesario recurrir a técnicas complementarias como la reacción en cadena de la polimerasa cualitativa o la secuenciación de ADN para conocer cuál es la variación genética específicamente.

El análisis mediante genes candidatos implica *a priori* seleccionar genes y polimorfismos que podrían relacionarse con la etiopatogenia y/o fisiopatología de la enfermedad<sup>40</sup>. Las ventajas de este enfoque son su menor coste económico y su mayor sencillez técnica, permitiendo el estudio de un mayor número de individuos al tiempo que existe un fundamento racional capaz de darle mayor solidez a los hallazgos. Utilizando esta metodología, se han encontrado polimorfismos en 23 genes vinculados a la susceptibilidad y/o mortalidad de la LPA/SDRA (tabla 1)<sup>41-65</sup>. Estas variantes génicas pueden ser protectoras o de riesgo, con valores de *odds ratio* que oscilan desde 0,27 (rs4678047) a 9,95 (rs1799768) cuando son analizadas individualmente.

Los trabajos publicados previamente analizan un número limitado de genes. Dada la indiscutible interacción entre genes y, consiguientemente, sus polimorfismos, sería importante realizar investigaciones que explorasen distintas variantes en una misma vía. Por ejemplo, se ha demostrado

**Tabla 1** Polimorfismos asociados a la lesión pulmonar aguda y el síndrome de distrés respiratorio agudo

Autor	Gen	Polimorfismo	Alelo/s	Fenotipo analizado	Riesgo	Comentarios
Arcaroli <sup>21</sup>	Urocinasa	h: rs1916341/ rs2227562/ rs2227564/ rs2227566/ rs2227568/ rs4066	C/G/C/C/C/C	Mortalidad a 60 días	Incrementa el riesgo	
Arcaroli <sup>41</sup>	Superóxido dismutasa extracelular	h: rs1007991/ rs8192291/ rs2695232/ rs2855262	C/T/C/T	Susceptibilidad	OR = 2,04 (1,12-3,71)	En el grupo «ARDS Network»
		h: rs1007991/ rs8192291/ rs2695232/ rs2855262	G/C/C/T	Mortalidad a 28 días	OR = 0,15 (0,01-0,77)	
		h: rs1007991/ rs8192291/ rs2695232/ rs2855262	G/C/C/T	Mortalidad a 28 días	Disminuye el riesgo	En el grupo «Canadian Waveform Abnormalities of activated partial thromboplastin time in Critically Ill Hospitalized Patient (WaTTCH)»
Li Su <sup>42</sup>	Angiopoyetina 2	p: rs2515475 p: rs2959811 h: rs2916702/ rs2442468/ rs2442634/ rs2515435/ rs2515470 h: rs2515474/ rs2959811	T T C/C/T/G/G	Susceptibilidad Susceptibilidad Susceptibilidad	OR = 1,28 (1,01-1,63) OR = 1,21 (1,02-1,45) OR = 1,69 (1,15-2,48)	
		h: rs2515474/ rs2959811	T/T	Susceptibilidad	OR = 1,42 (1,09-1,85)	
Gong <sup>43</sup>	IL10	p: rs 1800896	GG	Susceptibilidad	OR = 5,1 (2-13)	Adultos menores de 52 años
Schroeder <sup>22</sup>	IL10	p: rs 1800896	GG	Mortalidad a 60 días	HR = 0,55 (0,31-0,99)	
	IL1β e IL10	p: rs 1800896 gg: rs 114634 y rs 1800872	A CT y AC	Susceptibilidad Susceptibilidad	OR = 5,1 (1,6-16,8) OR = 12,8 (1,6-104,5)	
	IL6 e IL10	gg: rs 1800795 y rs 1800896	GG y GG	Susceptibilidad	OR = 0,2 (0,1-0,7)	
	IL10	gg: rs 1800872 y rs 1800896	CC y GG	Susceptibilidad	OR = 0,2 (0,1-0,6)	

Tabla 1 (Continuación)

Autor	Gen	Polimorfismo	Alelo/s	Fenotipo analizado	Riesgo	Comentarios
Marshall <sup>44</sup> Flores <sup>47</sup>	IL6 IL6	p: rs1800795 h: rs2069827/ rs1800796/ rs1800795/ rs2069837/ rs1474347/ rs2069861	GG G/G/G/A/A/C	Mortalidad Susceptibilidad	Aumenta el riesgo OR = 3,22 (1,11-9,31)	
Adamzik <sup>46</sup> Tsangaris <sup>48</sup>	Factor V Leiden Inhibidor del activador del plasminógeno 1	p: rs 6025 p: rs 1799768	GA 4G4G	Mortalidad a 30 días Mortalidad a 28 días	Disminuye el riesgo OR = 9,95 (1,79-55,28)	
Ye <sup>71</sup>	Visfatina	p: -1001 h: -1001/-1543	G G/C	Susceptibilidad Susceptibilidad	OR = 2,16 (1,01-4,62) OR = 7,71 (3,01-19,75)	
Bajwa <sup>72</sup>	Visfatina	p: -1001 h: -1001/-1543	G G/C	Susceptibilidad Susceptibilidad	OR = 1,35 (1,02-1,778) OR = 1,4 (1,07-1,83)	
Tejera <sup>49</sup>	Elafin	p: rs2664581 h: rs1983649/ rs6032040/ rs2664581	C T/T/C	Susceptibilidad Susceptibilidad	OR = 1,35 (1,07-1,7) OR = 1,31 (1,05-1,64)	
Quasney <sup>50</sup> Gong <sup>51</sup>	Surfactante B Surfactante B	p: rs1130866 p: rs AF 400074.1 (VNTR intrón 4)	C Polimórfico	Susceptibilidad Susceptibilidad	RR = 1,72 (1,42-2,09) OR = 4,5 (1,1-18,8)	Sólo en mujeres
Currier <sup>52</sup>	Surfactante B	p: rs AF 400074.1 (VNTR intrón 4)	Polimórfico	Mortalidad	OR = 3,51 (1,39-8,88)	
Adamzik <sup>53</sup> Gong <sup>54</sup>	Factor nuclear κB Manosa ligadora de lectina 2	p: rs 28363491 p: rs1800450  h: rs5030737/ rs1800450/ rs1800451/ rs70930740	Delección ATTG AA  C/A/A/G	Gravedad (LIS = 3) Susceptibilidad-mortalidad  Susceptibilidad-mortalidad	OR = 3,7 (1,8-7,9) OR = 6,7 (1,5- 31); HR = 4 (1,6-10)  Incrementa el riesgo	
Sheu <sup>56</sup>	Factor de crecimiento epidérmico	p: rs4444903  p: rs2298991 p: rs7692976 p: rs4698803	A  T A A	Susceptibilidad  Susceptibilidad Susceptibilidad Susceptibilidad	OR = 1,64 (1,17-2,31)  OR = 1,5 (1,07-2,1) OR = 1,64 (1,17-2,31) OR = 0,67 (0,48-0,95)	Exclusivo en varones

Tabla 1 (Continuación)

Autor	Gen	Polimorfismo	Alelo/s	Fenotipo analizado	Riesgo	Comentarios
		h: rs4444903/ rs2298991/ rs11568893/ rs7692976/ rs4698803/ rs6533486	G/G/C/G/T/C	Susceptibilidad	OR = 0,05 (1-1,81)	
		h: rs4444903/ rs2298991/ rs11568893/ rs7692976/ rs4698803/ rs6533487	A/T/C/A/A/G	Susceptibilidad	OR = 0,64 (0,44-0,94)	
Lagan <sup>57</sup>	Cadena ligera de la ferritina	p: rs 905238	GG	Susceptibilidad	OR = 2,44 (1,29-4,63)	LPA/SDRA de origen extrapulmonar
	Hemooxigenasa 2	p: rs1051308	A	Susceptibilidad	OR = 0,36 (0,17-0,8)	
	Hemooxigenasa 2	p: rs 1362626/ rs2404579/ rs2270366/ rs1051308/ rs7702	G/G/A/A/G	Susceptibilidad	OR = 0,29 (0,14-0,6)	
Sheu <sup>55</sup>	Hemooxigenasa 1	p: microsatellite HM-1 SM	Corto-medio	Susceptibilidad	OR = 0,46 (0,26-0,83)	
		p: microsatellite HM-1 MM	Medio-medio	Susceptibilidad	OR = 0,44 (0,25-0,78)	
		p: microsatellite HM-1 SL	Corto-largo	Susceptibilidad	OR = 0,39 (0,19-0,82)	
		p: microsatellite HM-1 ML	Medio-largo	Susceptibilidad	OR = 0,33 (0,18-0,61)	
		h: S/ rs20771746/ rs2071748/ rs5755721	h: corto/T/A/G	Susceptibilidad	OR = 1,75 (1,15-2,68)	
Marshall <sup>58</sup>	Enzima de conversión de la angiotensina	p: rs 1799752	Delección	Susceptibilidad-mortalidad	Incrementa el riesgo	
Jerng <sup>59</sup>	Enzima de conversión de la angiotensina	p: rs 1799752	Homocigoto inserción	Mortalidad a 28 días	HR = 0,46 (0,26-0,81)	
Admzik <sup>60</sup>	Enzima de conversión de la angiotensina	p: rs 1799752	Homocigoto delección	Susceptibilidad	HR = 3,6 (1,3-8,7)	
		p: rs 1799752	Homocigoto delección	Mortalidad a 30 días	HR = 5,7 (1,7-19,2)	

Tabla 1 (Continuación)

Autor	Gen	Polimorfismo	Alelo/s	Fenotipo analizado	Riesgo	Comentarios
Gao <sup>61</sup>	Cinasa de la cadena ligera de la miosina	p: rs 4678062	CT	Susceptibilidad	OR = 2,04 (1,06-3,92)	
		p: rs 11714297	CT	Susceptibilidad	OR = 2,08 (1,09-3,99)	
		p: rs11718105	T	Susceptibilidad	OR = 1,62 (1,02-2,58)	
		p: rs820336	GG	Susceptibilidad	OR = 5,1 (1,35-19,31)	
		p: rs36025624	G	Susceptibilidad	OR = 3,5 (1,12-12,9)	
Christie <sup>62</sup>	Cinasa de la cadena ligera de la miosina	p: rs820336	A	Susceptibilidad	OR = 2,07 (1,09-3,95)	
		p: rs 4678047	CC	Susceptibilidad	OR = 0,27 (0,11-0,7)	
		p: rs9840993	TT	Susceptibilidad	OR = 2,42 (1,03-5,69)	
		p: rs28497577	CC	Susceptibilidad	OR = 2,53 (1,13-5,65)	
		h: rs4678062/ rs28497577	G/A	Susceptibilidad	OR = 0,54 (IC 95% no publicado)	Exclusivamente para afroamericanos
		h: rs4678062/ rs28497577	G/C	Susceptibilidad	OR = 1,72 (IC 95% no publicado)	
		h: rs36025624/ rs4678062/ rs28497577	C/G/A	Susceptibilidad	OR = 0,39 (IC 95% no publicado)	
		h: rs2682211/ rs36025624/ rs4678062/ rs28497577	T/C/G/A	Susceptibilidad	OR = 0,45 (IC 95% no publicado)	
		h: rs36025624/ rs4678062/ rs28497577/ rs11707609	C/G/A/T	Susceptibilidad	OR = 0,39 (IC 95% no publicado)	
Gong <sup>63</sup>	Factor de necrosis tumoral	p: rs800629	A	Susceptibilidad	OR = 0,52 (0,3-0,91)	Exclusivamente para daño pulmonar directo
Zhai <sup>64</sup>	NFKBIA	h: rs3138053/ rs2233406/ rs2233409	G/T/C	Susceptibilidad	OR = 1,66 (1,09-2,53)	
Medford <sup>65</sup>	Factor de crecimiento del endotelio vascular	p: rs833061	T	Susceptibilidad	OR = 2,01 (1,13-3,58)	Respecto a controles
		p: rs833061	T	Susceptibilidad	OR = 2,05 (1,02-2,2)	Respecto a los paciente en riesgo

gg: grupo génico; h: haplotipo; HR: *hazard ratio*; IC: intervalo de confianza; LIS: *lung injury score*; OR: *odds ratio*; p: polimorfismos; rs: secuencia de referencia (*reference sequence*).



la asociación de la LPA/SDRA con genes de productores de reactantes de fase aguda (MBL2), de citocinas (IL10, IL1 $\beta$ , IL6, TNF $\alpha$ ) y reguladores de la respuesta inmunitaria (NKBA). Sin embargo, no se han analizado de forma conjunta todos ellos en una misma cohorte. Los polimorfismos tienen efectos específicos en determinados subgrupos, por ejemplo Lagan et al<sup>57</sup> demostraron que el genotipo rs905238 GG de la cadena ligera de la ferritina constituye un factor de riesgo para la LPA/SDRA exclusivamente cuando la enfermedad causante es de origen extrapulmonar, Gong et al<sup>43</sup> encontraron que el SNP IL10 rs1800896 (+1082) GG incrementa la susceptibilidad en pacientes menores de 52 años y Sheu et al<sup>56</sup> publicaron resultados similares para el rs444490 (+61) A del gen del factor de crecimiento epidérmico exclusivamente en hombres.

Actualmente, algunos investigadores intentan realizar aproximaciones integrales, combinando diversas técnicas de biología molecular. Un interesante ejemplo lo constituye el gen de la visfatina (factor estimulante de colonias de células Pre-B, PBEF). Esta es una adipocina vinculada a la formación de colonias pre-B, el parto normal y pretérmino, la sepsis, el cáncer colorrectal, la obesidad y la diabetes<sup>66-70</sup>. Shui et al<sup>71</sup>, utilizando chips de expresión, analizaron los productos génicos en células respiratorias obtenidas de lavado broncoalveolar de pacientes con LPA/SDRA y de controles sanos, y en tejido pulmonar obtenido de modelos caninos y murinos de LPA. Encontraron que la visfatina se expresaba significativamente más en las tres especies (3,79 veces más en humanos; 5,79 veces más en perros; 2,13 veces más en ratas). Posteriormente, secuenciaron todo el gen en algunos pacientes con LPA/SDRA, con sepsis y en controles sanos, con el objetivo de identificar los posibles SNP. Encontraron que el SNP -1001T/G estaba sobreexpresado en el grupo de pacientes con LPA/SDRA respecto a los otros dos grupos. Subsiguientemente, se procedió a la genotipificación en 87 individuos con LPA/SDRA, en 100 enfermos con sepsis y en 84 sujetos controles sanos. Se demostró así que el alelo «G» incrementaba el riesgo de desarrollar LPA/SDRA 2,16 veces. Similares resultados encontraron Bajwa et al<sup>72</sup>, que estudiaron el SNP -1001T/G y el -1543C/T de la visfatina en 375 pacientes con LPA/SDRA y en 787 pacientes críticos.

## Validez de los resultados

Las publicaciones de asociación genética han sufrido un aumento exponencial en los últimos años. Los dos tipos principales de estudios de asociación genética corresponden a estudios de cohortes y a estudios de casos-control. Para que los resultados sean válidos con ambos diseños, más allá del análisis estadístico empleado, deben considerarse algunos aspectos fundamentales<sup>73</sup>:

- Definición clara y específica de la enfermedad y su fenotipo. Este aspecto, como se ha comentado antes, es una de las grandes limitaciones de los estudios de LPA/SDRA.
- Definición clara y específica de la población. Los genes actúan en contextos determinados, por lo cual es esencial caracterizar correctamente a la población de estudio, sus orígenes, procedencia, raza, etc. Resultados genéticos obtenidos de forma ciega respecto a la información clínica.

**Tabla 2** Factores que pueden explicar ausencia del equilibrio de Hardy-Weinberg

A. Poblacionales
Apareamiento no aleatorio
Mutaciones
Selección positiva o negativa
Tamaño pequeño de la población
Flujo de genes (migración)
B. De laboratorio
Error de genotipificación
Error en la selección de la muestra o de la cohorte

- Control de errores en la genotipificación. Los errores de la genotipificación pueden variar desde menos del 1 hasta el 30%<sup>74</sup>. Se pueden producir en cualquier momento desde la obtención de la muestra biológica hasta la lectura del resultado. Es necesario explicitar claramente la cadena de eventos que sufre el material biológico y las estrategias empleadas para el control de errores.
- Equilibrio de Hardy-Weinberg (EHW). Esta Ley establece que, bajo ciertas condiciones, los genotipos de una población permanecen estables. En el caso más sencillo de un *locus* con dos alelos A y a, cuyas frecuencias alélicas son p y q, respectivamente, el EHW predice que la frecuencia genotípica para el homocigoto AA es p<sup>2</sup>, para el heterocigoto es 2pq y para el homocigoto aa es q<sup>2</sup>. Considerar el EHW es fundamental pues su ausencia puede estar vinculada a factores poblacionales o de laboratorio capaces de invalidar los resultados obtenidos (tabla 2)<sup>75,76</sup>. En el caso de los estudios casos-control, el equilibrio debe buscarse en el grupo control, y en el caso de estudios de cohortes, el equilibrio se analiza habitualmente en toda la muestra.
- Ajuste de la significación para comparaciones múltiples. Esta corrección, aplicable tanto al equilibrio de HW como a los resultados de la genotipificación cuando se estudian múltiples variantes en la misma muestra, es una de las causas más frecuentes de asociaciones falsas positivas. La corrección más sencilla es la de Bonferroni, que implica dividir el valor p por el número de asociaciones realizadas para obtener la significación. Por ejemplo, si se considera un valor de p de 0,05 y se realizaron 15 tests, la significación real será 0,05/15, es decir 0,003.

## Recomendaciones para comunicar los resultados de estudios genéticos

La comunicación de los resultados debe ser clara y concisa, brindando al lector y al revisor la información necesaria para interpretar los hallazgos.

Flores et al<sup>77</sup> analizaron la calidad de los trabajos de asociación genética. La media de calidad, utilizando una escala de 0 a 10 puntos, fue de 6,62 puntos con un intervalo entre 0,71 y 7,14. Al considerar los trabajos en función del año de publicación, se observó una tendencia en el tiempo hacia la mejora, especialmente referida a los trabajos con casos y controles.

En un esfuerzo por mejorar las comunicaciones y adaptando las directivas generales del Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology



(STROBE)<sup>78</sup>, en el año 2009 se publicaron las recomendaciones denominadas Strengthening the Reporting of Genetic Association Studies (STREGA)<sup>79</sup>. Las recomendaciones del STREGA se organizan en cinco grupos principales: errores de genotipificación, estratificación de la población, modelos de haplotipos, equilibrio de Hardy Weinberg y replicación de los resultados. El formato adoptado (*check list*) permite homogeneizar las comunicaciones y facilita la labor de los revisores de las distintas revistas.

## Del laboratorio a la clínica

Es aceptado por la prácticamente unanimidad de los clínicos que la mayoría de las enfermedades complejas están influenciadas por la estructura génica del individuo. Sin embargo, aún persiste la idea subjetiva de que el conocimiento genómico carece de pragmatismo.

La medicina genómica expande, continua y rápidamente, su influencia en la práctica clínica diaria. Las principales aplicaciones actualmente son:

- Reconocimiento y cuantificación de riesgo. Es la principal aplicación que actualmente tiene la medicina genómica. Los factores de riesgo genéticos, a diferencia de los tradicionales, están presentes y pueden identificarse en cualquier momento de la vida, lo cual otorga una oportunidad única para implementar estrategias preventivas. Por ejemplo, está demostrado que el riesgo de morir por una infección es familiar y heredable<sup>80</sup>, por lo cual podría ser importante identificar variantes genéticas asociadas a la sepsis/*shock* séptico en familiares consanguíneo de los paciente que hayan padecido esa enfermedad.
- Optimización del diagnóstico. Disponer de una «firma genómica» en la LPA/SDRA permitiría resolver las dificultades diagnósticas que presenta este síndrome.
- Generación de nuevos conocimientos etiológicos y fisiopatológicos. La medicina moderna propicia el desarrollo de innovadoras hipótesis y líneas de investigación. La identificación de variantes génicas permitirá orientar el desarrollo del conocimiento hacia vías específicas al tiempo que diseñar tratamientos innovadores e individualizados.
- Farmacogenética es la ciencia que estudia cómo las diferencias genéticas determinan la respuesta a los fármacos. La farmacogenética permite prescribir fármacos a pacientes específicos con el objetivo de obtener el mayor beneficio terapéutico y minimizar los efectos adversos<sup>81,82</sup>.
- Nutrigenómica es la ciencia que estudia la expresión de los genes en relación con la nutrición y el desarrollo de enfermedades asociadas a dicha expresión. Esta rama de la medicina ayuda a la comprensión de la interacción ambiente-genes.

La desafíos que la medicina genómica presenta para los próximos años incluyen<sup>83</sup>: a) la replicación de los estudios por grupos independientes, dado que la confianza se incrementa exponencialmente cuando los resultados son reproducidos por distintos grupos en muestras independientes; b) el estudio de poblaciones con mayor tamaño muestral con el objetivo de disminuir las asociaciones falsas positivas

y negativas; c) la extensión de las investigaciones a diversas poblaciones procurando identificar nuevas variantes genéticas y generalizar los resultados; d) el estudio de variantes «raras», dado que si existen variantes frecuentes con escasa influencia individual, podrían existir otras raras con importante influencia, y e) la profundización en el conocimiento de la influencia que ejercen las variantes genéticas en la patogenia de las enfermedades<sup>84</sup>.

El futuro de la medicina genómica se sustenta principalmente en el vertiginoso desarrollo de las técnicas moleculares, particularmente la secuenciación del ADN. La primera generación (*chain-termination method*) en la secuenciación de ADN fue descrita por Sanger et al<sup>85,86</sup>, a finales de la década de los setenta. Posteriormente, en el año 2005, emergió la segunda (*wash-and-scan*), con el objetivo de disminuir los costos y aumentar la producción. Esta tecnología se basa en el anclaje de decenas de miles de cadenas idénticas en posiciones específicas para ser reconocidas en un proceso de «lavado y lectura». La matriz de anclaje del ADN puede tener una gran densidad de fragmentos de ADN, determinando un rendimiento global extremadamente alto a un costo por nucleótido identificado muy inferior al método tradicional. En los últimos años la tercera generación de secuenciación (SMS, *single-molecule sequencing*) ha emergido como la opción para incrementar aún más el rendimiento a un costo y tiempo mucho menores. Esta generación está constituida por un grupo de técnicas caracterizadas principalmente por no interrumpir el proceso de secuenciación tras la incorporación de un nucleótido<sup>87</sup>.

Con la introducción de las técnicas capaces de segregar las secuencias exónicas<sup>88-90</sup> del resto del ADN, la posibilidad de construir «exomas completos» se ha hecho realidad. El estudio de los exomas, cuyo tamaño es de tan sólo 30 Mb, es especialmente importante en las enfermedades monogénicas, dado que la gran mayoría de las variantes génicas que las determinan se ubican en exones o en regiones de empalme (*splicing sites*). Si bien la LPA/SDRA no es monogénica, explorar el exoma podría ser de gran utilidad dado que en caso de identificarse rasgos monogénicos podrían reconocerse subgrupos específicos y orientar la investigación hacia nuevos «genes candidatos».

## Conclusiones

La publicación del genoma humano brindó el contexto e impulso necesarios para el desarrollo de la medicina genómica o personalizada.

La medicina genómica procura personalizar y optimizar el diagnóstico, pronóstico y tratamiento mediante el reconocimiento de la influencia que ejercen las normales y frecuentes variaciones del genoma entre distintos individuos.

La LPA/SDRA es una enfermedad severa, compleja y multigénica cuyo fenotipo «clínico», definido por la Conferencia de Consenso Americano-Europeo, presenta serias limitaciones.

En el momento actual, prácticamente todos los trabajos publicados sobre genética de la LPA/SDRA utilizan el análisis de genes candidatos. Recientemente, se han resaltado las dificultades inherentes al diseño de los estudios, la validez de los resultados y la forma de comunicarlos, por lo

cual se han elaborado criterios generales que considerar en el momento de interpretar los resultados y de redactar los manuscritos.

El futuro de la medicina genómica se basa en el desarrollo y optimización de las técnicas de biología molecular que permitirán la producción masiva de información a un costo menor, con lo cual será posible el cumplimiento de los objetivos propuestos.

## Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

## Bibliografía

- Varmus H. Ten Years On - The Human Genome and Medicine. *N Engl J Med.* 2010;27:2028–9.
- Venter JC, Adams MD, Myers EW, Li PW, Mural RJ, Sutton GG, et al. The sequence of the human genome. *Science.* 2001;291:1304–51.
- Lander ES, Linton LM, Birren B, Nusbaum C, Zody MC, Baldwin A, et al. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature.* 2001;409:860–921.
- Butler D. Science after the sequence. *Nature.* 2010;465:1000–1.
- Florez JC. Clinical review: the genetics of type 2 diabetes: a realistic appraisal in 2008. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008;93:4633–42.
- McCarthy MI, Zeggini E. Genome-wide association studies in type 2 diabetes. *Curr Diab Rep.* 2009;9:164–71.
- Arora P, Newton-Cheh C. Blood pressure and human genetic variation in the general population. *Curr Opin Cardiol.* 2010;25:229–37.
- Binder A. A review of the genetics of essential hypertension. *Curr Opin Cardiol.* 2007;22:176–84.
- Frutos F, Nin N, Esteban E. Epidemiology of acute lung injury and acute respiratory distress syndrome. *Current Opin Crit Care.* 2004;10:1–5.
- Manteiga E, Martínez O, Frutos F. Epidemiología del daño pulmonar agudo y síndrome de distress respiratorio agudo. *Med Intensiva.* 2006;30:151–61.
- Gao L, Barnes KC. Recent advances in genetic predisposition to clinical acute lung injury. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2009;296:L713–25.
- Won Hong K, Oh B. Overview of personalized medicine in the disease genomic era. *BMB Report.* 2010;43:643–8.
- Frueh FW, Amur S, Mummaneni P, Epstein RS, Aubert RE, DeLuca TM, et al. Pharmacogenomic biomarker information in drug labels approved the United States Food and Drug Administration: Prevalence of related drug use. *Pharmacotherapy.* 2008;28:992–8.
- Gutmacher A, Porteous M, McLerrney J. Educating health-care professionals about genetics and genomics. *Nature Review.* 2007;8:151–7.
- Pearson T, Manolio T. How to Interpret a Genome-wide Association Study. *JAMA.* 2008;299:1335–44.
- The International HapMap Consortium. A Haplotype Map of the Human Genome. *Nature.* 2005;437:1299–320.
- The International HapMap Consortium. A second generation human haplotype map of over 3.1 million SNPs. *Nature.* 2007;449:851–61.
- Attia J, Ioannidis JP, Thakkestian A, McEvoy M, Scott RJ, Minelli C, et al. How to use an article about genetic association. A: Background Concepts. *JAMA.* 2009;301:74–81.
- Blasi F, Carmeliet P. uPAR: a versatile signaling orchestrator. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2002;3:932–43.
- Idell S. Endothelium and disordered fibrin turnover in the injured lung: newly recognized pathways. *Crit Care Med.* 2002;30:S274–80.
- Arcaroli J, Sankoff J, Liu N, Allison DB, Maloney J, Abraham E. Association between urokinase haplotypes and outcome from infection-associated acute lung injury. *Intensive Care Med.* 2008;34:300–7.
- Schroeder O, Schulte KM, Schroeder J, Ekkernkamp A, Laun RA. The -1082 interleukin-10 polymorphism is associated with acute respiratory failure after major trauma: a prospective cohort study. *Surgery.* 2008;143:233–42.
- Katzenstein AL, Bloor CM, Leibow AA. Diffuse alveolar damage - the role of oxygen, shock and related factors. A review. *Am J Pathol.* 1976;85:209–28.
- Tomashefski Jr JF. Pulmonary pathology of acute respiratory distress syndrome. *Clin Chest Med.* 2000;21:435–66.
- Bernard GR, Artigas A, Brigham KL, Carlet J, Falke K, Hudson L, et al., The American/European Consensus Conference on ARDS. Definitions, mechanisms, relevant outcomes and clinical trial coordination. *Am J Respir Crit Care Med.* 1994;149:818–24.
- Villar J, Pérez-Méndez L, López J, Belda J, Blanco J, Saralegui I, et al. An early PEEP/FiO2 trial identifies different degrees of lung injury in patients with Acute Respiratory Distress Syndrome. *Am J Respir Crit Care Med.* 2007;176:795–804.
- Gowda MS, Klocke RA. Variability of indices of hypoxemia in adult respiratory distress syndrome. *Crit Care Med.* 1997;25:41–5.
- Ferguson ND, Kacmarek RM, Chiche JD, Singh JM, Hallett DC, Mehta S, et al. Screening of ARDS patients using standardized ventilator settings: influence on enrollment in a clinical trial. *Intensive Care Med.* 2004;30:1111–6.
- Suárez Sipmann F. Utilidad de las maniobras de reclutamiento (pro). *Med Intensiva.* 2009;33:134–8.
- Ochagavía A, Blanch L, López-Aguilar J. Utilidad de las maniobras de reclutamiento (contra). *Med Intensiva.* 2009;33:139–43.
- Martínez O, Nin N, Esteban A. Evidencias de la posición en decúbito prono para el tratamiento del síndrome de distrés respiratorio agudo: una puesta al día. *Arch Bronconeumol.* 2009;45:291–6.
- Sud S, Friedrich JO, Taccone P, Polli F, Adhikari NK, Latini R, et al. Prone ventilation reduces mortality in patients with acute respiratory failure and severe hypoxemia: systematic review and meta-analysis. *Intensive Care Med.* 2010;36:585–99.
- Rubinfeld GD, Caldwell E, Granton JT, Hudson LD, Matthay MA. Interobserver Variability in Applying a Radiographic Definition for ARDS. *Chest.* 1999;116:1347–53.
- Meade MO, Cook RJ, Guyatt GH, Groll R, Kachura JR, Bedard M, et al. Interobserver variation in interpreting chest radiographs for the diagnosis of acute respiratory distress syndrome. *Am J Resp Crit Care Med.* 2000;161:85–90.
- Ferguson N, Frutos F, Esteban A, Fernández P, Aramburu JA, Nájera L, et al. Acute respiratory distress syndrome: Underrecognition by clinicians and diagnostic accuracy of three clinical definitions. *Crit Care Med.* 2005;33:2228–34.
- Esteban A, Fernández-Segoviano P, Frutos-Vivar F, Aramburu JA, Nájera L, Ferguson ND, et al. Comparison of clinical criteria for the acute respiratory distress syndrome with autopsy findings. *Ann Intern Med.* 2004;141:440–5.
- Hardy J, Singleton A. Genome-wide association studies and human disease. *N Engl J Med.* 2009;360:1759–68.
- Wang WY, Barratt BJ, Clayton DG, Todd JA. Genome-wide association studies: theoretical and practical concerns. *Nat Rev Genet.* 2005;6:109–18.

39. Terwilliger JD, Hiekkalinna T. An utter refutation of the "Fundamental Theorem of the HapMap". *Eur J Hum Genet.* 2006;14:426–37.
40. Sirgo G, Rello J, Bodi M, Díaz E, Pérez Vela JL, Hernández G, et al. Polimorfismo genético en el paciente crítico (I). Aspectos generales, inflamación y sepsis. *Med Intensiva.* 2003;27:24–31.
41. Arcaroli JJ, Hokanson JE, Abraham E, Geraci M, Murphy JR, Bowler RP, et al. Extracellular superoxide dismutase haplotypes are associated with acute lung injury and mortality. *Am J Respir Crit Care Med.* 2009;179:105–12.
42. Su L, Zhai R, Sheu CC, Gallagher DC, Gong MN, Tejera P, et al. Genetic variants in the angiotensin-2 gene are associated with increased risk of ARDS. *Intensive Care Med.* 2009;35:1024–30.
43. Gong MN, Thompson BT, Williams PL, Zhou W, Wang MZ, Pothier L, et al. Interleukin-10 polymorphism in position -1082 and acute respiratory distress syndrome. *Eur Respir J.* 2006;27:674–81.
44. Marshall RP, Webb S, Hill MR, Humphries SE, Laurent GJ. Genetic polymorphisms associated with susceptibility and outcome in ARDS. *Chest.* 2002;121:685–95.
45. Villar J, Flores C, Pérez-Méndez L, Maca-Meyer N, Espinosa E, Blanco J, et al. Angiotensin-converting enzyme insertion/deletion polymorphism is not associated with susceptibility and outcome in sepsis and acute respiratory distress syndrome. *Intensive Care Med.* 2008;34:488–95.
46. Adamzik M, Frey UH, Riemann K, Sixt S, Lehmann N, Siffert W, et al. Factor V Leiden mutation is associated with improved 30-day survival in patients with acute respiratory distress syndrome. *Crit Care Med.* 2008;36:1776–9.
47. Flores C, Ma SF, Maresco K, Wade MS, Villar J, Garcia JG. IL6 gene-wide haplotype is associated with susceptibility to acute lung injury. *Transl Res.* 2008;152:11–7.
48. Tsangaris I, Tsantes A, Bonovas S, Lignos M, Kopterides P, Gialeraki A, et al. The impact of the PAI-1 4G/5G polymorphism on the outcome of patients with ALI/ARDS. *Thromb Res.* 2009;123:832–6.
49. Tejera P, Wang Z, Zhai R, Su L, Sheu CC, Taylor DM, et al. Genetic polymorphisms of peptidase inhibitor 3 (elafin) are associated with acute respiratory distress syndrome. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2009;41:696–704.
50. Quasney MW, Waterer GW, Dahmer MK, Kron GK, Zhang Q, Kessler LA, et al. Association between surfactant protein B + 1580 polymorphism and the risk of respiratory failure in adults with community-acquired pneumonia. *Crit Care Med.* 2004;32:1115–9.
51. Gong MN, Wei Z, Xu LL, Miller DP, Thompson BT, Christiani DC. Polymorphism in the surfactant protein-B gene, gender, and the risk of direct pulmonary injury and ARDS. *Chest.* 2004;125:203–11.
52. Currier PF, Gong MN, Zhai R, Pothier LJ, Boyce PD, Xu L, et al. Surfactant protein-B polymorphisms and mortality in the acute respiratory distress syndrome. *Crit Care Med.* 2008;36:2511–6.
53. Adamzik M, Frey UH, Riemann K, Sixt S, Beiderlinden M, Siffert W, et al. Insertion/deletion polymorphism in the promoter of NFKB1 influences severity but not mortality of acute respiratory distress syndrome. *Intensive Care Med.* 2007;33:1199–203.
54. Gong MN, Zhou W, Williams PL, Thompson BT, Pothier L, Christiani DC. Polymorphisms in the mannose binding lectin-2 gene and acute respiratory distress syndrome. *Crit Care Med.* 2007;35:48–56.
55. Sheu CC, Zhai R, Wang Z, Gong MN, Tejera P, Chen F, et al. Heme oxygenase-1 microsatellite polymorphism and haplotypes are associated with the development of acute respiratory distress syndrome. *Intensive Care Med.* 2009;35:1343–51.
56. Sheu CC, Zhai R, Su L, Tejera P, Gong MN, Thompson BT, et al. Sex-specific association of epidermal growth factor gene polymorphisms with acute respiratory distress syndrome. *Eur Respir J.* 2009;33:543–50.
57. Lagan AL, Quinlan GJ, Mumbly S, Melley DD, Goldstraw P, Bellingan GJ, et al. Variation in iron homeostasis genes between patients with ARDS and healthy control subjects. *Chest.* 2008;133:1302–11.
58. Marshall RP, Webb S, Bellingan GJ, Montgomery HE, Chaudhari B, McAnulty RJ, et al. Angiotensin converting enzyme insertion/deletion polymorphism is associated with susceptibility and outcome in acute respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med.* 2002;166:646–50.
59. Jerng JS, Yu CJ, Wang HC, Chen KY, Cheng SL, Yang PC. Polymorphism of the angiotensin-converting enzyme gene affects the outcome of acute respiratory distress syndrome. *Crit Care Med.* 2006;34:1001–6.
60. Adamzik M, Frey U, Sixt S, Knemeyer L, Beiderlinden M, Peters J, et al. ACE I/D but not AGT (-6)A/G polymorphism is a risk factor for mortality in ARDS. *Eur Respir J.* 2007;29:482–8.
61. Gao L, Grant A, Halder I, Brower R, Sevransky J, Maloney JP, et al. Novel polymorphisms in the myosin light chain kinase gene confer risk for acute lung injury. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2006;34:487–95.
62. Christie JD, Ma SF, Aplenc R, Li M, Lanken PN, Shah CV, et al. Variation in the myosin light chain kinase gene is associated with development of acute lung injury after major trauma. *Crit Care Med.* 2008;36:2794–800.
63. Gong MN, Zhou W, Williams PL, Thompson BT, Pothier L, Boyce P, et al. -308GA and TNFB polymorphisms in acute respiratory distress syndrome. *Eur Respir J.* 2005;26:382–9.
64. Zhai R, Zhou W, Gong MN, Thompson BT, Su L, Yu C, et al. Inhibitor kappaB-alpha haplotype GTC is associated with susceptibility to acute respiratory distress syndrome in Caucasians. *Crit Care Med.* 2007;35:893–8.
65. Medford AR, Keen LJ, Bidwell JL, Millar AB. Vascular endothelial growth factor gene polymorphism and acute respiratory distress syndrome. *Thorax.* 2005;60:244–8.
66. Ognjanovic S, Bryant-Greenwood GD. Pre-B cell colony-enhancing factor, a novel cytokine of human fetal membranes. *Am J Obstet Gynecol.* 2002;187:1051–8.
67. Rongvaux A, Shea RJ, Mulks MH, et al. Pre-Bcell colony-enhancing factor, whose expression is up-regulated in activated lymphocytes, is a nicotinamide phosphoribosyltransferase, a cytosolic enzyme involved in NAD biosynthesis. *Eur J Immunol.* 2002;32:3225–34.
68. Van der Veer E, Nong Z, O'Neil C, Urquhart B, Freeman D, Pickering JG. Pre-B-cell colony-enhancing factor regulates NAD-dependent protein deacetylase activity and promotes vascular smooth muscle cell maturation. *Circ Res.* 2005;97:25–34.
69. Ye SQ, Zhang LQ, Adyshev D, Usatyuk PV, Garcia AN, Lavoie TL, et al. Pre-B-cell colony-enhancing factor is critically involved in thrombin-induced lung endothelial cell barrier dysregulation. *Microvasc Res.* 2005;70:142–51.
70. Ognjanovic S, Bao S, Yamamoto SY, Garibay-Tupas J, Samal B, Bryant-Greenwood GD. Genomic organization of the gene coding for human pre-B-cell colony enhancing factor and expression in human fetal membranes. *J Mol Endocrinol.* 2001;26:107–17.
71. Ye SQ, Simon BA, Maloney JP, Zambelli-Weiner A, Gao L, Grant A, et al. Pre-B-cell colony-enhancing factor as a potential novel biomarker in acute lung injury. *Am J Respir Crit Care Med.* 2005;171:361–70.
72. Bajwa EK, Yu CL, Gong MN, Thompson BT, Christiani DC. Pre-B-cell colony-enhancing factor gene polymorphisms and risk of acute respiratory distress syndrome. *Crit Care Med.* 2007;35:1290–5.

73. Attia J, Ioannidis J, Thakkinstian A, McEvoy M, Scott R, Minelli C, et al. How to use an article about genetic association. B: Are the Results of the study valid? *JAMA*. 2009;301:191–7.
74. Akey JM, Zhang K, Xiong M, Doris P, Jin L. The effect that genotyping errors have on the robustness of common linkage-disequilibrium measures. *Am J Hum Genet*. 2001;68:1447–56.
75. Leal SM. Detection of genotyping errors and pseudo-SNPs via deviations from Hardy-Weinberg equilibrium. *Genet Epidemiol*. 2005;29:204–14.
76. Hosking L, Lumsden S, Lewis K, Yeo A, McCarthy L, Bansal A, et al. Detection of genotyping errors by Hardy-Weinberg equilibrium testing. *Eur J Hum Genet*. 2004;12:395–9.
77. Flores C, Pino-Yanes M, Villar J. A quality assessment of genetic association studies supporting susceptibility and outcome in acute lung injury. *Critical Care*. 2008;12:R120.
78. Vandembroucke JP, Von Elm E, Altman DG, Gotzsche PC, Mulrow CD, Pocock SJ, et al. STROBE initiative. Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE): explanation and elaboration. *Ann Intern Med*. 2007;147:163–94.
79. Little J, Higgins J, Ioannidis J, Moher D, Gagnon F, Von Elm E, et al. Strengthening the reporting of genetic association studies (STREGA): an extension of the STROBE Statement. *Hum Genet*. 2009;125:131–51.
80. Sorensen TI, Nielsen GG, Andersen PK, Teasdale TW. Genetic and environmental influences on premature death in adult adoptees. *N Engl J Med*. 1988;318:727–32.
81. Evans WE, Relling M. Moving towards individualized medicine with pharmacogenomics. *Nature*. 2004;429:464–8.
82. Evans WE, Relling M. Pharmacogenomics: translating functional genomics into rational therapeutics. *Science*. 1999;286:487–91.
83. Manolio TA, Collins FS, Cox NJ, Goldstein DB, Hindorf LA, Hunter DJ, et al. Finding the missing heritability of complex diseases. *Nature*. 2009;461:747–53.
84. Flores C, Pino-Yanes MM, Casula M, Villar J. Genetics of acute lung injury: past, present and future. *Minerva Anesthesiol*. 2010;76:860–4.
85. Sanger F, Coulson A. A rapid method for determining sequences in DNA by primed synthesis with DNA polymerase. *J Mol Biol*. 1975;94:441–8.
86. Sanger F, Nicklen S, Coulson A. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1977;74:5463–7.
87. Schadt E, Turner S, Kasarkis A. A window into third-generation sequencing. *Human Molecular Genetics*. 2010;19:227–40.
88. Mamanova L, Coffey AJ, Scott CE, Kozarewa I, Turner EH, Kumar A, et al. Target-enrichment strategies for next-generation sequencing. *Nat Methods*. 2010;7:111–8.
89. Summerer D. Enabling technologies of genomic-scale sequence enrichment for targeted high-throughput sequencing. *Genomics*. 2009;94:363–8.
90. Turner EH, Ng SB, Nickerson DA, Shendure J. Methods for genomic partitioning. *Annu Rev Genomics Hum Genet*. 2009;10:263–84.