



REVISTA CHILENA DE PEDIATRÍA

www.elsevier.es/RCHP



ACTUALIDAD

Predisposición genética y síndrome de distrés respiratorio agudo pediátrico: nuevas herramientas de estudio genético



Benjamín Erranz M.¹, Jan Wilhelm B.², Raquel Riquelme V.³, Pablo Cruces R.^{3,4,*}

1. Centro de Medicina Regenerativa, Facultad de Medicina Clínica Alemana-Universidad del Desarrollo, Santiago, Chile
2. Departamento de Pediatría, Facultad de Medicina Clínica Alemana-Universidad del Desarrollo, Santiago, Chile
3. Unidad de Paciente Crítico Pediátrica, Hospital El Carmen de Maipú, Santiago, Chile
4. Centro de Investigación de Medicina Veterinaria, Escuela de Medicina Veterinaria, Facultad de Ecología y Recursos Naturales, Universidad Andres Bello, Santiago, Chile

Recibido el 10 de diciembre de 2014, aceptado el 02 de marzo de 2015

PALABRAS CLAVE

Síndrome de distrés respiratorio agudo; lesión pulmonar aguda; pediatría; genética; polimorfismos de nucleótido simple; estudio de asociación del genoma completo

Resumen

El síndrome de distrés respiratorio agudo (SDRA) es la forma más grave de falla respiratoria. Teóricamente, cualquier noxa pulmonar aguda puede resultar en un SDRA, pero solo un pequeño porcentaje de individuos desarrolla la enfermedad. Sobre este fundamento, factores genéticos han sido implicados en el riesgo de desarrollar SDRA. Basado en la fisiopatología de esta enfermedad, múltiples genes candidatos han sido evaluados como potenciales modificadores, tanto en pacientes como en modelos animales de SDRA.

Datos experimentales y estudios clínicos recientes sugieren que variantes de genes implicados en procesos clave de daño tisular, celular y molecular pulmonar pueden influir en la predisposición y el pronóstico del SDRA. Sin embargo, la patogénesis del SDRA pediátrico es compleja y, en consecuencia, es posible anticipar que muchos genes pueden contribuir a ella. Variantes genéticas, tales como polimorfismos de nucleótido simple y variantes del número de copias, están probablemente asociadas con la predisposición al SDRA en niños con lesión pulmonar primaria. El estudio de asociación del genoma completo (GWAS, del inglés *Genome-Wide Association Study*) puede examinar estas variantes sin sesgos y ayudar a identificar nuevos genes fundamentales y vías patogénicas clave para futuros análisis. Esta aproximación también puede tener implicancias clínicas diagnósticas y terapéuticas, como predecir el riesgo del paciente o desarrollar un enfoque terapéutico personalizado para este grave síndrome.

© 2015 Sociedad Chilena de Pediatría. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Este es un artículo de acceso abierto distribuido bajo los términos de la Licencia Creative Commons CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

*Autor para correspondencia:

Correo electrónico: pcrucesr@gmail.com (Pablo Cruces R.).

KEYWORDS

Acute Respiratory Distress Syndrome; Acute Lung Injury; Pediatrics; Genetics; Single Nucleotide Polymorphisms; Genome-Wide Association Study

Genetic predisposition and Pediatric Acute Respiratory Distress Syndrome: New tools for genetic study

Abstract

Acute respiratory distress syndrome (ARDS) is the most severe form of respiratory failure. Theoretically, any acute lung condition can lead to ARDS, but only a small percentage of individuals actually develop the disease. On this basis, genetic factors have been implicated in the risk of developing ARDS. Based on the pathophysiology of this disease, many candidate genes have been evaluated as potential modifiers in patient, as well as in animal models, of ARDS.

Recent experimental data and clinical studies suggest that variations of genes involved in key processes of tissue, cellular and molecular lung damage may influence susceptibility and prognosis of ARDS. However, the pathogenesis of pediatric ARDS is complex, and therefore, it can be expected that many genes might contribute. Genetic variations such as single nucleotide polymorphisms and copy-number variations are likely associated with susceptibility to ARDS in children with primary lung injury. Genome-wide association (GWA) studies can objectively examine these variations, and help identify important new genes and pathogenetic pathways for future analysis. This approach might also have diagnostic and therapeutic implications, such as predicting patient risk or developing a personalized therapeutic approach to this serious syndrome.

© 2015 Sociedad Chilena de Pediatría. Published by Elsevier España, S.L.U. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons CC BY-NC ND Licence (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Síndrome de distrés respiratorio agudo, un problema relevante

El síndrome de distrés respiratorio agudo (SDRA) es una forma devastadora de insuficiencia respiratoria, que se caracteriza por una intensa inflamación y el aumento de la permeabilidad vascular pulmonar en respuesta a una noxa aguda, tal como neumonía, sepsis, trauma o aspiración^{1,2}. Desde una perspectiva clínica, se caracteriza por síntomas respiratorios agudos, opacidades bilaterales en imágenes de tórax e hipoxemia, en ausencia de insuficiencia cardiaca o sobrecarga de fluidos (definición de Berlín de SDRA)¹. Fisiopatológicamente, el SDRA se caracteriza por la presencia de noxa epitelial y endotelial, acumulación anormal de fluido extravascular pulmonar, hemorragia alveolar y alteración de la homeostasis del surfactante³. Durante la última década se ha visto un progreso sin precedentes en la comprensión del SDRA, pero su tratamiento es exclusivamente de soporte (ventilación mecánica y soporte hemodinámico). El SDRA consume una fracción significativa de los recursos dedicados a la medicina de alta complejidad, con una incidencia ajustada por edad de 86,2/100 000 personas-año. Aproximadamente 190 600 casos de SDRA se diagnostican cada año solo en los Estados Unidos, asociados a 74 500 muertes (mayores que aquellas causadas por enfermedad pulmonar obstructiva crónica o VIH) y 3,6 millones de días de hospitalización⁴. El SDRA es la principal causa de insuficiencia respiratoria aguda en niños; representa el 66-79% de los casos, con una mortalidad cercana al 40% y una frecuente morbilidad a largo plazo en los supervivientes^{4,9}. De este modo, las intervenciones destinadas a prevenir o tratar el SDRA pueden tener un impacto significativo en cuidados intensivos y salud pública.

Predisposición genética a SDRA

A pesar de la ocurrencia frecuente de lesiones capaces de causar un SDRA, solo una minoría de los pacientes lo desarrolla¹⁰. La comprensión actual del SDRA es aún incompleta, ya que en su predisposición y pronóstico están implicados factores genéticos. Por ejemplo, una fuerte asociación en el riesgo de desarrollar infecciones graves, principal desencadenante de SDRA, ha sido descrita entre niños adoptados y sus padres biológicos¹¹. Del mismo modo, la predisposición a SDRA es notablemente distinta entre grupos étnicos de una misma población, hecho que no puede explicarse completamente por factores socioeconómicos¹². Además, estudios en cepas de roedores consanguíneos han encontrado diferencias en la predisposición y la gravedad del SDRA, identificando múltiples *loci* involucrados, y han demostrado la naturaleza multigénica de esta condición¹³⁻¹⁵.

Marcadores genéticos versus proteicos para estudiar el SDRA

Durante los últimos 20 años, múltiples estudios han reportado el rol de mediadores proteicos en el curso del SDRA, como citoquinas y factores de crecimiento¹⁶. Estos biomarcadores han mostrado predecir el desarrollo y la gravedad del SDRA, contribuyendo fuertemente en el entendimiento de la patogénesis de esta enfermedad¹⁷⁻²⁷. Sin embargo, han presentado algunas limitaciones que afectan a la reproducibilidad de los hallazgos. La concentración de marcadores proteicos varía según la noxa precipitante y el curso temporal de la enfermedad. Algunos de ellos deben ser medidos idealmente por lavado broncoalveolar, procedimiento inva-

sivo y vulnerable a problemas técnicos, no siempre seguro y apropiado para un paciente críticamente enfermo. En contraparte, el ADN puede ser extraído fácilmente y en forma segura desde una muestra sanguínea, el genotipo permanece constante durante toda la vida del sujeto y podría ser utilizado para predecir la predisposición a esta enfermedad.

Polimorfismos genéticos para estudiar enfermedades complejas

La epidemiología genética es una disciplina que estudia el rol de factores genéticos y su interacción con el ambiente, en la predisposición y los resultados de enfermedades en una población²⁸. Tras completar el International HapMap Project y el 1000 Genomes Project, esfuerzos internacionales para catalogar similitudes y diferencias entre humanos, se ha obtenido una cantidad considerable de información sobre la variación del genoma humano²⁹⁻³³. Dos fuentes de variación en el ADN han sido profusamente investigadas como explicaciones potenciales de las diferencias interindividuales en la predisposición a enfermar; estos son los **polimorfismos de nucleótido simple (SNP, *single nucleotide polymorphism*)** y las **variantes en el número de copias (CNV, *copy number variation*)** (fig. 1).

Los SNP ocurren con una frecuencia de 1/300 a 1/1000 nucleótidos, y los más comunes son bialélicos. El HapMap Project y el 1000 Genomes Project han catalogado sobre 3 millones de SNP³²⁻³⁴. Algunos están localizados en regiones regulatorias, aunque la mayoría parecen ser SNP silentes

(no modifican la codificación de un aminoácido). El mapeo de desequilibrio de ligamiento de los SNP ha mostrado la existencia de bloques de haplotipos en el genoma humano. El término **haplotipo** se refiere a una combinación particular de SNP que están vinculados entre sí. La mayor parte de la estructura de haplotipos en una región cromosómica particular puede ser capturada por la genotipificación de un número pequeño de SNP que sirven como marcadores de otros SNP cercanos. En efecto, si un polimorfismo incrementa el riesgo de una enfermedad, el análisis de haplotipo puede discernir cuál de los SNP cercanos o combinaciones de SNP causan esta enfermedad^{35,36}.

Las CNV son otro tipo de variante del genoma de identificación más reciente, que han sido definidas como un segmento de ADN ≥ 1 kb presentes en un número variable de copias en comparación con el genoma de referencia^{37,38}. Deleciones, duplicaciones, inserciones, inversiones y translocaciones representan algunos de los procesos resultantes en CNV. En los años recientes ha aparecido evidencia acumulativa que las CNV están presentes en el genoma de individuos sanos, estimándose que equivaldría al 15-18% del genoma y siendo más comunes que los SNP y, por ende, una rica fuente de diferencias interindividuales en el riesgo genético de enfermar³⁷⁻⁴².

Estas dos variantes genéticas pueden alterar la expresión génica, determinando diferentes fenotipos. Existe evidencia fehaciente de que estas variantes genéticas tienen una implicación en la predisposición y el pronóstico de muchas enfermedades, pero su impacto en pacientes críticamente enfermos es aún un tópico emergente.

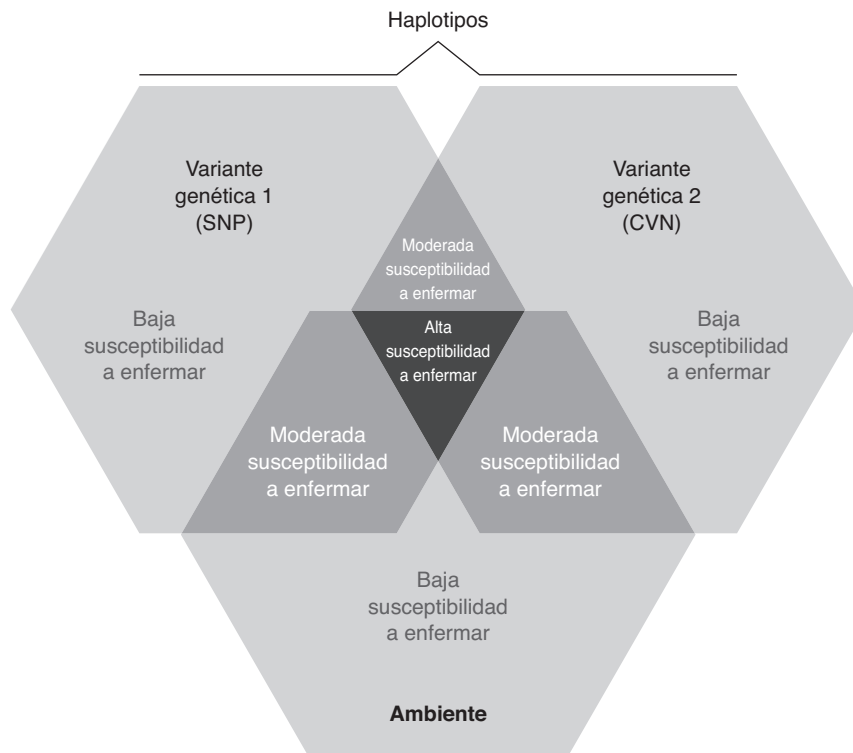


Figura 1 Variantes genéticas comunes y la predisposición a enfermedades complejas.

Aproximación de gen candidato en SDRA

La aproximación de gen candidato implica una selección *a priori* de genes y polimorfismos que pudieran estar relacionados con la patogénesis de la enfermedad. A pesar de sus limitaciones, ha sido la aproximación genética de elección en SDRA. Se enfoca en genes específicos, seleccionados considerando mecanismos celulares y moleculares de la lesión pulmonar, como daño epitelial y endotelial, inflamación tisular, estrés oxidativo y coagulopatía^{43,44}.

La aproximación de gen candidato ha contribuido a dilucidar las bases genéticas del SDRA e identificar potenciales nuevos blancos terapéuticos. Por ejemplo, nuestro grupo encontró asociación entre polimorfismo inserción/delección de la enzima convertidora de angiotensina (ECA) e hipoxemia grave en niños con SDRA. Los pacientes portadores del alelo D tuvieron mayores niveles plasmáticos de angiotensina II, confirmando que este es un polimorfismo funcional, y evidenciándose además una fuerte interacción gen-ambiente⁴⁵.

Hasta ahora, veintinueve polimorfismos genéticos han sido asociados con la predisposición y/o la mortalidad por SDRA. Las variantes genéticas pueden conferir protección o riesgo, con *odds ratio* (OR) entre 0,27 y 9,95, al evaluarlos individualmente⁴⁶. Estos estudios analizaron un número limitado de genes, pero las complejas interacciones gen-gen y gen-ambiente hacen necesario realizar estudios que exploren un amplio número de variantes en pacientes con SDRA.

Además, es importante considerar que solo tres estudios fueron realizados en pacientes pediátricos, existiendo diferencias fisiológicas y etiopatogénicas relevantes respecto a población adulta (tabla 1)^{8,47-49}, por lo que sería inapropiado asumir que los mismos genes identificados en adultos estén involucrados en la predisposición a desarrollar SDRA pediátrico.

Estudio de asociación del genoma completo (GWAS): una herramienta poderosa para identificar variantes genéticas asociadas a SDRA

La hipótesis de variante común/enfermedad común establece que desórdenes comunes son influenciados por variantes genéticas que también son comunes en la población. Se supone que si la variante genética común incide en una enfermedad, la penetrancia o el tamaño del efecto de ella debe ser pequeña, porque una variante deletérea de alta penetrancia no puede tener una frecuencia alta en la población. Dada la alta mortalidad del SDRA, podemos suponer la asociación de múltiples variantes comunes de baja penetrancia. La limitación en la aproximación de gen candidato, la cual detecta solo genes con gran penetrancia, puede ser resuelto con el estudio de asociación del genoma completo (GWAS, del inglés *Genome-Wide Association Study*) (fig. 2). Vasta evidencia ha demostrado que variantes genéticas comunes con escaso efecto fisiológico pueden modificar la predisposición a enfermedades multigénicas⁵⁰⁻⁵⁵.

Actualmente, el GWAS mide y analiza más de 1,8 millones de variaciones de la secuencia de ADN a través de todo el genoma humano (más de 900 000 SNP y 945 000 CNV), para identificar factores de riesgo genético para enfermedades comunes en la población⁵⁶. Por tamizaje simultáneo, el GWAS tiene la habilidad de detectar asociación de enfermedades con genes previamente insospechados.

Múltiples metodologías están disponibles a gran escala, de alto rendimiento para genotipificar SNP. Estas tecnologías permiten detectar simultáneamente cientos de miles de SNP en miles de pacientes y se acoplan a programas computacionales para el control de calidad y análisis estadístico⁵⁵. Dado el aumento de la densidad de los SNP que se ha produ-

Tabla 1 Variantes en genes candidatos asociadas a SDRA pediátrico

Función/ Vía patogénica	Gen (símbolo)	Variante	Ref. (año)	Población/ Diseño	Asociación significativa	
					Predisposición	Gravedad/pronóstico
Regulación presión arterial	Enzima convertidora de angiotensina I (ECA)	DIP	45 (2012)	Hispanica (SDRA: 60; En riesgo: 60)	No	Alelo D: mayores niveles de angiotensina-II en plasma Alelo I: mayor hipoxemia
Citoquina	Factor de necrosis tumoral α (TNF) y linfotoxina α (LTA)	Haplotipo	47 (2012)	Hispanica (Sepsis: 490; Controles: 610)	Alto riesgo de SDRA: portadores de alelos TNF-863 CA y -863A Bajo riesgo de SDRA: portadores de alelos TNF-308 GA y -308A	Efecto protector de TNF-308 GA para mortalidad en sepsis y SDRA
Intercambio gaseoso	Proteína B surfactante (SFPTB)	Haplotipo	48 (2011)	Afroamericana (SDRA: 26; En riesgo: 395)	No	rs1130866 y rs3024793, mayor necesidad de VM rs7316 y gravedad de SDRA

DIP: polimorfismo delección/inserción (287-pb) en el intrón 16 del gen ECA; rs: indicador de identificación o referencia del polimorfismo de nucleótido simple (SNP); SDRA: síndrome de distrés respiratorio agudo; VM: ventilación mecánica.

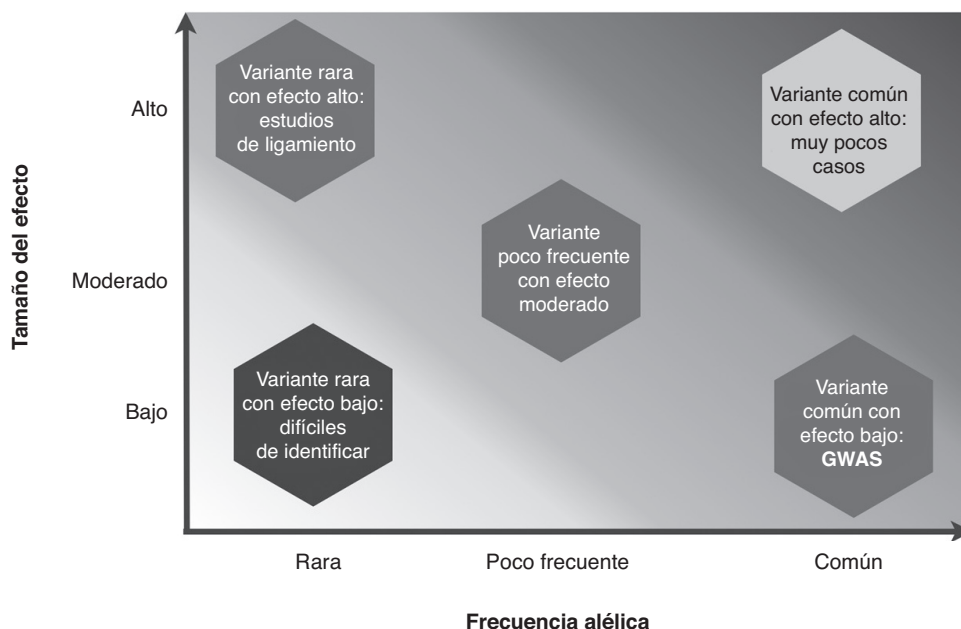


Figura 2 La estrategia para la identificación de variantes genéticas depende de su frecuencia alélica y penetrancia (tamaño del efecto).

cido en los ensayos durante los últimos 8 años, estos chips también pueden detectar CNV en desequilibrio de ligamiento con un SNP³⁷⁻⁴⁰. La introducción de ensayos de SNP y CNV ha conducido a un gran número de estudios no sesgados de variantes a través de todo el genoma, permitiendo examinar una potencial asociación con múltiples fenotipos diferentes. Además, el GWAS es cada vez más accesible, de modo que se reduce el costo de la genotipificación de alto rendimiento. Basado en el análisis de datos del proyecto HapMap, más de un 80% de los SNP que ocurren comúnmente en la población pueden ser capturados utilizando un subconjunto de 0,5-1 millón de SNP repartidos por todo el genoma, de una manera costo-efectiva⁵⁶.

El GWAS ha mostrado ser una herramienta robusta en la identificación de variantes o *locus* genéticos en casi 40 enfermedades complejas, incluyendo asma⁵⁷⁻⁵⁹. El Wellcome Trust Case Control Study evaluó 500 000 SNP en 2000 casos para siete enfermedades comunes (trastorno bipolar, hipertensión, diabetes, etc.) para un total de casi 14 000 casos y

3 000 controles sanos del Reino Unido, equivalente a 8,5 billones de genotipos⁶⁰, identificando nuevas variantes asociadas con estas enfermedades y reafirmando asociaciones previamente conocidas⁶¹.

Asimismo, otros estudios han asociado CNV con enfermedades. Un ejemplo relevante es el hallazgo de deleciones recurrentes en pacientes con esquizofrenia^{62,63}. Varios de estos *loci* o variantes no han sido previamente identificados por otros métodos, lo que ilustra el valor de esta aproximación⁶⁴.

Aunque ha habido mucho interés en el GWAS, este ha sido utilizado solo una vez en pacientes con SDRA, identificando a PPFIA1 (*protein tyrosine phosphatase alpha 1*) como un nuevo gen candidato funcional, no detectado por la aproximación de gen candidato^{65,66}.

El GWAS es una buena herramienta para mejorar nuestra comprensión de los factores genéticos que afectan a la predisposición y el pronóstico del SDRA, siendo inminente y necesaria su aplicación en SDRA pediátrico (fig. 3).

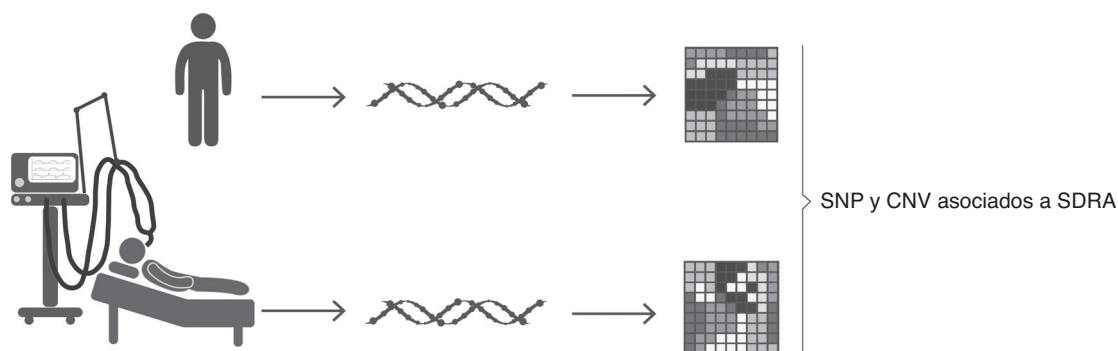


Figura 3 Uso del GWAS para la identificación de variantes genéticas asociadas a SDRA pediátrico.

Conclusión

El SDRA es una enfermedad común con un amplio rango de manifestaciones fenotípicas. La multiplicidad de factores involucrados en la variabilidad clínica de esta entidad no han sido dilucidados, siendo la aproximación de gen candidato poco concluyente. El GWAS es una herramienta poderosa para identificar variantes genéticas o interacciones gen-gen en enfermedades complejas. Es integral, evaluando múltiples polimorfismos a través de todo el genoma, y sin sesgos hacia genes específicos, pudiendo identificar genes y vías patogénicas previamente insospechadas.

Debido a la naturaleza compleja de enfermedades inflamatorias como el SDRA, es posible anticipar que múltiples variantes comunes contribuyen en su predisposición y pronóstico. Como el efecto de estas variantes debe ser relativamente modesto, podemos suponer que múltiples genes tienen efecto sinérgico o aditivo, modificando el riesgo de enfermar. Nosotros pensamos que nuevas variantes asociadas con el *fenotipo SDRA* pueden ser identificadas con el GWAS, generando nuevas hipótesis y potenciales blancos terapéuticos. Dado que su patogénesis y bases genéticas son parcialmente conocidas, la identificación de nuevos genes y vías patogénicas es crucial para el desarrollo de una aproximación terapéutica más racional y personalizada. En un futuro próximo, el manejo del SDRA en UCI podría incluir protocolos de fenotipificación que individualicen la estrategia terapéutica y mejoren la supervivencia.

Conflictos de interés

Este trabajo cumple con los requisitos sobre consentimiento/asesentimiento informado, comité de ética, financiamiento, estudios animales y sobre la ausencia de conflictos de intereses según corresponda.

Referencias

1. ARDS Definition Task Force, Ranieri VM, Rubenfeld GD, Thompson BT, et al: Acute respiratory distress syndrome: the Berlin Definition. *JAMA* 2012; 307: 2526-33.
2. Villar J: What is the acute respiratory distress syndrome? *Respir Care* 2011; 56: 1539-45.
3. Raghavendran K, Napolitano LM: Definition of ALI/ARDS. *Crit Care Clin* 2011; 27: 429-37.
4. Rubenfeld GD, Caldwell E, Peabody E, et al: Incidence and outcomes of acute lung injury. *N Engl J Med* 2005; 353: 1685-93.
5. Villar J, Blanco J, Añón J, et al: The ALIEN study: incidence and outcome of acute respiratory distress syndrome in the era of lung protective ventilation. *Intensive Care Med* 2011; 37: 1932-41.
6. López-Fernández Y, Azagra AM, de la Oliva P, et al; Pediatric Acute Lung Injury Epidemiology and Natural History (PED-ALIEN) Network: Pediatric Acute Lung Injury Epidemiology and Natural History study: Incidence and outcome of the acute respiratory distress syndrome in children. *Crit Care Med* 2012; 40: 3238-45.
7. Zhu YF, Xu F, Lu XL, et al; Chinese Collaborative Study Group for Pediatric Hypoxemic Respiratory Failure: Mortality and morbidity of acute hypoxemic respiratory failure and acute respiratory distress syndrome in infants and young children. *Chin Med J (Engl)* 2012; 125: 2265-71.
8. Hu X, Qian S, Xu F, et al; Chinese Collaborative Study Group for Pediatric Respiratory Failure: Incidence, management and mortality of acute hypoxemic respiratory failure and acute respiratory distress syndrome from a prospective study of Chinese paediatric intensive care network. *Acta Paediatr* 2010; 99: 715-21.
9. Yu WL, Lu ZJ, Wang Y, Shi LP, et al; Collaborative Study Group of Pediatric Respiratory Failure: The epidemiology of acute respiratory distress syndrome in pediatric intensive care units in China. *Intensive Care Med* 2009; 35: 136-43.
10. Hudson LD, Milberg JA, Anardi D, et al: Clinical risks for development of the acute respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 151: 293-301.
11. Sorensen TI, Nielsen GG, Andersen PK, Teasdale TW: Genetic and environmental influences on premature death in adult adoptees. *N Eng J Med* 1988; 318: 727-32.
12. Moss M, Mannino DM: Race and gender differences in acute respiratory distress syndrome deaths in the United States: an analysis of multiple-cause mortality data (1979-1996). *Crit Care Med* 2002; 30: 1679-85.
13. Prows DR, Shertzer HG, Daly MJ, Sidman CL, Leikauf GD: Genetic analysis of ozone-induced acute lung injury in sensitive and resistant strains of mice. *Nat Genet* 1997; 17: 471-4.
14. Nonas SA, Moreno-Vinasco L, Ma SF, et al: Use of consomic rats for genomic insights into ventilator-associated lung injury. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2007; 293: 292-302.
15. Prows DR, Hafertepen AP, Winterberg AV, et al: Reciprocal congenic lines of mice capture the aliq1 effect on acute lung injury survival time. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2008; 38: 68-77.
16. Matthay MA, Zimmerman GA: Acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome: four decades of inquiry into pathogenesis and rational management. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2005; 33: 319-27.
17. Prabhakaran P, Ware LB, White KE, et al: Elevated levels of plasminogen activator inhibitor-1 in pulmonary edema fluid are associated with mortality in acute lung injury. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2003; 285: L20-8.
18. Bersten AD, Hunt T, Nicholas TE, et al: Elevated plasma surfactant protein-B predicts development of acute respiratory distress syndrome in patients with acute respiratory failure. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 164: 648-52.
19. Marks JD, Marks CB, Luce JM, et al: Plasma tumor necrosis factor in patients with septic shock. Mortality rate, incidence of adult respiratory distress syndrome, and effects of methylprednisolone administration. *Am Rev Respir Dis* 1990; 141: 94-7.
20. Meduri GU, Headley S, Kohler G, et al: Persistent elevation of inflammatory cytokines predicts a poor outcome in ARDS. Plasma IL-1 beta and IL-6 levels are consistent and efficient predictors of outcome over time. *Chest* 1995; 107: 1062-73.
21. Ware LB, Conner ER, Matthay MA: von Willebrand factor antigen is an independent marker of poor outcome in patients with early acute lung injury. *Crit Care Med* 2001; 29: 2325-31.
22. Makabe H, Kojika M, Takahashi G, et al: Interleukin-18 levels reflect the long-term prognosis of acute lung injury and acute respiratory distress syndrome. *J Anesth* 2012; 26: 658-63.
23. Curtis BR: Future Preventive and Therapeutic Targets for Transfusion-Related Acute Lung Injury. *Curr Pharm Des* 2012; 18: 3285-92.
24. Calfee CS, Gallagher D, Abbott J, et al: Plasma angiopoietin-2 in clinical acute lung injury: Prognostic and pathogenetic significance. *Crit Care Med* 2012; 40: 1731-7.
25. Carnesecchi S, Pache JC, Barazzzone-Argiroffo C: NOX enzymes: potential target for the treatment of acute lung injury. *Cell Mol Life Sci* 2012; 69: 2373-85.
26. de Pablo R, Monserrat J, Reyes E, et al: Sepsis-induced acute respiratory distress syndrome with fatal outcome is associated to increased serum transforming growth factor beta-1 levels. *Eur J Intern Med* 2012; 23: 358-62.

27. Dolinay T, Kim YS, Howrylak J, et al: Inflammasome-Regulated Cytokines are Critical Mediators of Acute Lung Injury. *Am J Respir Crit Care Med* 2012; 185: 1225-34.
28. Khoury MJ, Yang Q: The future of genetic studies of complex human diseases: an epidemiologic perspective. *Epidemiol* 1998; 9: 350-4.
29. *The International Hap Map Consortium*: The International Hap-Map Project. *Nature* 2003; 426: 789-96.
30. *International HapMap Consortium*: A haplotype map of the human genome. *Nature* 2005; 437: 1299-320.
31. Thorisson GA, Smith AV, Krishnan L, Stein LD: The International HapMap Project Web site. *Genome Res* 2005; 15: 1592-3.
32. Frazer KA, Ballinger DG, Cox DR, et al: A second generation human haplotype map of over 3.1 million SNPs. *Nature* 2007; 449: 851-61.
33. *1000 Genomes Project Consortium*, Abecasis GR, Auton A, Brooks LD, et al: An integrated map of genetic variation from 1,092 human genomes. *Nature* 2012; 491: 56-65.
34. *International HapMap 3 Consortium*, Altshuler DM, Gibbs RA, Peltonen L, et al: Integrating common and rare genetic variation in diverse human populations. *Nature* 2010; 467: 52-8.
35. Schork N: The future of genetic case-control studies. In: Rao DC, Province MA, editors. *Genetic dissection of complex traits*. Academic Press; 2001. p. 191-212.
36. lafrate AJ, Feuk L, Rivera MN, et al: Detection of large-scale variation in the human genome. *Nat Genet* 2004; 36: 949-51.
37. Lee C, Hyland C, Lee AS, Hislop SCI: Copy Number Variation and Human Health. In: Willard HF, Ginsburg GF, eds. *Genomic and Personalized Medicine*. San Diego, CA: Elsevier, Inc; 2009. p. 108-19.
38. Almal SH, Padh H: Implications of gene copy-number variation in health and diseases. *J Hum Genet* 2012; 57: 6-13.
39. Sebat J, Lakshmi B, Troge J, et al: Large-scale copy number polymorphism in the human genome. *Science* 2004; 305: 525-8.
40. Redon R, Ishikawa S, Fitch KR, et al: Global variation in copy number in the human genome. *Nature* 2006; 444: 444-54.
41. Lee C, Morton CC: Structural genomic variation and personalized medicine. *N Engl J Med* 2008; 358: 740-1.
42. Ellsworth DL, Manolio TA: The emerging importance of genetics in epidemiologic research. II. Issues in study design and gene mapping. *Ann Epidemiol* 1999; 9: 75-90.
43. Gao L, Barnes K: Recent Advances in Genetic Predisposition to Clinical Acute Lung Injury. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2009; 296: L713-25.
44. Arcaroli JJ, Hokanson JE, Abraham E, et al: Extracellular superoxide dismutase haplotypes are associated with acute lung injury and mortality. *Am J Respir Crit Care Med* 2009; 179: 105-12.
45. Cruces P, Díaz F, Puga A, et al: Angiotensin-converting enzyme insertion/deletion polymorphism is associated with severe hypoxemia in pediatric ARDS. *Intensive Care Med* 2012; 38: 113-9.
46. Cardinal-Fernández P, Nin N, Lorente JA: Acute lung injury and acute respiratory distress syndrome: a genomic perspective. *Med Intensiva* 2011; 35: 361-72.
47. Azevedo ZM, Moore DB, Lima FC, et al: Tumor necrosis factor (TNF) and lymphotoxin-alpha (LTA) single nucleotide polymorphisms: Importance in ARDS in septic pediatric critically ill patients. *Hum Immunol* 2012; 73: 661-7.
48. Dahmer MK, O'cain P, Patwari PP, et al: The influence of genetic variation in surfactant protein B on severe lung injury in African American children. *Crit Care Med* 2011; 39: 1138-44.
49. Rodriguez Martinez CE, Guzman MC, Castillo JM, Sossa MP, Ojeda P: Evaluation of clinical criteria for the acute respiratory distress syndrome in pediatric patients. *Pediatr Crit Care Med* 2006; 7: 335-9.
50. Manolio TA, Collins FS, Cox NJ, et al: Finding the missing heritability of complex diseases. *Nature*. 2009;461:747-53.
51. Shianna KV: Genome-wide association studies and genotyping technologies. In: Willard HF, Ginsburg G, eds. *Genomic and Personalized Medicine*. San Diego: Elsevier, Inc; 2009. p. 101-17.
52. Clarke GM, Anderson CA, Pettersson FH, Cardon LR, Morris AP, Zondervan KT: Basic statistical analysis in genetic case-control studies. *Nat Protoc* 2011; 6: 121-33.
53. Bush WS, Moore JH: Chapter 11: Genome-wide association studies. *PLoS Comput Biol* 2012; 8: e1002822.
54. Hirschhorn JN, Daly MJ: Genome-wide association studies for common diseases and complex traits. *Nat Rev Genet* 2005; 6: 95-108.
55. Cordell HJ, Clayton DG: Genetic association studies. *Lancet* 2005; 366: 1121-31.
56. Li M, Li C, Guan W: Evaluation of coverage variation of SNP chips for genome-wide association studies. *Eur J Hum Genet* 2008; 16: 635-43.
57. Bush WS, Moore JH: Chapter 11: Genome-wide association studies. *PLoS Comput Biol* 2012; 8: e1002822.
58. Manolio TA, Brooks LD, Collins FS: A HapMap harvest of insights into the genetics of common disease. *J Clin Invest* 2008; 118: 1590-605.
59. Moffatt MF, Kabesch M, Liang L, et al: Genetic variants regulating ORMDL3 expression contribute to the risk of childhood asthma. *Nature* 2007; 448: 470-3.
60. *Wellcome Trust Case Control Consortium*: Genome-wide association study of 14,000 cases of seven common diseases and 3,000 shared controls. *Nature* 2007; 447: 661-78.
61. Klein RJ, Zeiss C, Chew EY, et al: Complement factor H polymorphism in age-related macular degeneration. *Science* 2005; 308: 385-9.
62. Stefansson H, Rujescu D, Cichon S, et al: Large recurrent microdeletions associated with schizophrenia. *Nature* 2008; 455: 232-6.
63. Kirov G, Grozeva D, Norton N, et al: Support for the involvement of large copy number variants in the pathogenesis of schizophrenia. *Hum Mol Genet* 2009; 18: 1497-503.
64. *Wellcome Trust Case Control Consortium*: Genome-wide association study of CNVs in 16,000 cases of eight common diseases and 3,000 shared controls. *Nature* 2010; 464: 713-20.
65. Garcia JG: Genomic investigations into acute inflammatory lung injury. *Proc Am Thorac Soc* 2011; 8: 167-72.
66. Christie JD, Wurfel MM, Feng R, et al; *Trauma ALI SNP Consortium (TASC) investigators*: Genome wide association identifies PPF1A1 as a candidate gene for acute lung injury risk following major trauma. *PLoS One* 2012; 7: e28268.