

Genética de las enfermedades respiratorias

P.J. Romero Palacios, J.A. Lorente Acosta, J.C. Álvarez Merino,
J.D. Luna del Castillo

El conocimiento más profundo de los determinantes genéticos de las enfermedades, y su importancia en la caracterización de las mismas, hace que cada vez sea más importante tener en cuenta esta dimensión en su estudio. Este aspecto requiere manejar la nomenclatura y las ideas necesarias para comprender esta información, que en muchas ocasiones puede resultar compleja. En este capítulo hemos tratado de establecer los conceptos básicos que son necesarios a los clínicos para comprender en su justo término la literatura científica centrada en estos aspectos de la enfermedad. En este sentido, hemos abordado la interpretación y significado de los cambios en el ADN y su nomenclatura, no siempre clara, así como algunos conceptos actuales acerca de la interacción gen medio ambiente. Finalmente pasamos a exponer de forma sucinta algunas enfermedades respiratorias en las que la carga genética resulta determinante, y en las que probablemente en un futuro no lejano habremos de cambiar nuestra forma de entender la enfermedad.

INTRODUCCIÓN

Muchas de las enfermedades tienen una etiología directamente relacionada con alteraciones genéticas, mientras que otras cuyo origen genético no es directo, sí se ven matizadas a lo largo de su evolución por las características genéticas o geno-

tipo del enfermo, lo cual es significativo tanto en su pronóstico y evolución como en el tratamiento (farmacogenómica)⁽¹⁾.

De modo general e intuitivo, también simplista, los estudios genéticos clásicos parten de la base (véase de modo detallado más adelante) de que una alteración genética en uno o varios nucleótidos puede originar un cambio en el triplete que origina un cambio de aminoácido, lo cual implica un cambio en la proteína y las alteraciones funcionales (o la disminución en el tamaño por interrupción de la síntesis) de la misma son las que originan las enfermedades. Esta reducción simplista es una falacia, si bien es útil para el estudio. Además de las alteraciones genéticas influyen los procesos de transcripción (*splicing*), epigenéticos, mitocondriales, etc.^(2,3).

Sin embargo, el solo estudio del ADN nos demuestra que hay casi 6.000 defectos genéticos listados en el OMIM (*Online Mendelian Inheritance of Man*) cuya herencia o bien es tipo mendeliano, o bien es mitocondrial (por lo tanto de transmisión exclusivamente materna). Algunas de las enfermedades, llamadas monogénicas, dependen de la alteración de un solo gen, estando entre las más frecuentes la fibrosis quística (que afecta de modo especial al pulmón), la drepanocitosis, la hemocromatosis o el retraso mental ligado al cromosoma X. En estas patologías la herencia es auto-

sómica (dominante, codominante o recesiva), o ligada al cromosoma X. Sin embargo, las enfermedades con herencia poligénica son con mucho las más frecuentes, ya que las características y funciones del cuerpo humano (que conformarían el fenotipo) vienen determinados por la interacción de múltiples genes. El estudio de las mismas es especialmente complejo, ya que no sólo hay que detectar las alteraciones existentes en una serie de genes, sino que además hay que valorar las alteraciones que esas alteraciones tienen en conjunto (pueden ir todas en la misma dirección y provocar graves síntomas, o puede que las alteraciones en unos genes compensen las producidas por otros)⁽⁴⁾.

Las enfermedades respiratorias constituyen un campo complejo para la genética, y ello por dos razones. Primera, porque la mayoría de ellas son poligénicas, con la complejidad que el estudio de las mismas tiene. Segunda, por los muy diferentes procesos que tienen lugar en este aparato: infecciosos, inflamatorios, irritativos, alérgicos, tumorales y otros mixtos o complejos. Por otra parte, el permanente contacto que gran parte del parénquima pulmonar tiene con los contaminantes medioambientales que, a través del aire inspirado, modifica continuamente la reacción de las células en un corto plazo de tiempo.

El estudio del genoma humano, imprescindible como podemos deducir, puede hacerse por medio de técnicas de secuenciación, de estudio de polimorfismos nucleotídicos simples (SNPs) o por el análisis de fragmentos repetidos en tándem (*tandem repeats* o TRs). Hay estudios más generales que, pese a que siguen teniendo absoluta vigencia y utilidad –como ciertos bandeados cromosómicos o el estudio por medio de polimorfismos de restricción de longitud variable o polimórfica (RFLP)– son usados cada vez menos al desarrollarse técnicas más informativas y exactas.

La secuenciación es la técnica “reina”, sin duda alguna. Estos estudios nos ofrecen información exacta del orden (o secuencia) en el que se encuentran los nucleótidos de un gen o, en general, de cualquier parte del genoma. De hecho, es importante destacar que tras el desarrollo del Proyecto Genoma Humano (que consistía en secuenciar los

6.000 millones de pares de base que conforman el genoma diploide) se ha impuesto la necesidad de estudiar los diversos genes en diferentes poblaciones para conocer la variabilidad de los mismos y su relación con las diferentes patologías, con la gravedad y la evolución de las mismas.

Tras el estudio de un gen completo o de fragmentos del mismo (normalmente los exones o partes que transmiten la información que se transforma en ARN, y a veces también los intrones cercanos a los exones), podemos encontrar dos posibilidades.

- Primera, que la variabilidad relacionada con patologías sea muy amplia; por ejemplo, que en un fragmento de 1.000 pares de bases (1 kilobase) pueda haber variaciones relacionadas con patologías en cientos de nucleótidos diferentes. En estos casos, no cabe otra alternativa que secuenciar ese fragmento de ADN en cada paciente.
- Segunda, la posibilidad de que se conozca que una patología está asociada a cambios puntuales en uno o en unos pocos nucleótidos del gen o exón, o que –al menos– un alto porcentaje de casos de enfermedad se deban o expliquen por cambios en unos pocos nucleótidos. En estas situaciones no es necesario secuenciar todo el gen o exón, sino que podemos centrarnos en el estudio de esos lugares (*loci*, en términos latinos) que acumulan variabilidad relacionada con la enfermedad. Son cambios o polimorfismos en un solo nucleótido que, como se explica después, son capaces de inducir cambios en los aminoácidos y proteínas, explicando la enfermedad o características de la misma.

Es por ello especialmente importante el poder conocer cómo se expresan estos resultados y cuál es su significado genético y genómico ya que, cada vez más, decisiones clínicas, incluido el tratamiento, dependen de esta información procedente de los análisis genéticos.

INTERPRETACIÓN Y SIGNIFICADO DE LOS CAMBIOS EN EL ADN

Desde que la secuencia completa del ADN fue determinada, han ido apareciendo millones de varia-

1ª BASE		2ª BASE						3ª BASE				
		U		C		A			G			
U	U	UUU	Fenilalanina (Phe)	UCU	Serina (Ser)	UAU	Tirosina (Tyr)	UGU	Cisteína (Cys)	U		
		UUC		UCC		UAC		UGC		C		
		UUA		UCA		UAA		Señal parada (X)		UGA	Señal parada (X)	A
		UUG		UCG		UAG		Señal parada (X)		UGG	Triptófano (Trp)	G
	C	CUU	Leucina (Leu)	CCU	Prolina (Pro)	CAU	Histidina (His)	CGU	Arginina (Arg)	U		
		CUC		CCC		CAC		CGC		C		
		CUA		CCA		CAA		Glutamina (Gln)		CGA	A	
		CUG		CCG		CAG		CGG		G		
	A	AAU	Isoleucina (Ile)	ACU	Treonina (Thy)	AAU	Asparagina (Asn)	AGU	Serina (Ser)	U		
		AUC		ACC		AAC		AGC		C		
		AUA		ACA		AAA		Lisina (Lys)		AGA	Arginina (Arg)	A
		AUG		Metionina (Met)/Señal		ACG		AAG		AGG	G	
	G	GUU	Valina (Val)	GCU	Alanina (Ala)	GAU	Ácido aspártico (Asp)	GGU	Glicina (Gly)	U		
		GUC		GCC		GAC		GCC		C		
		GUA		GCA		GAA		Ácido glutámico (Glu)		GGA	A	
		GUG		GCG		GAG		GGG		G		

Figura 1. Código genético. En el momento de la transcripción la base timina es sustituida por uracilo que también será complementaria a la base adenina. Se suele hablar de triplete de nucleótidos cuando nos referimos a las tres bases del ADN que se transcribirán en tres bases de ARN y desde este momento hablamos de codón para referirnos a esas tres bases que codificarán un aminoácido.

ciones genéticas que a su vez están siendo evaluadas para buscar asociación con características fisiológicas o enfermedades. Este hecho está siendo posible gracias al espectacular avance de las técnicas de genotipado.

Los aproximadamente 25.000 genes del genoma humano representan apenas un 3 por ciento del genoma total. En un gen hay segmentos conocidos como exones que proporcionan las instrucciones genéticas que son copiadas para dirigir la síntesis de proteínas (son codificados, por tanto) y otros segmentos conocidos como intrones que no son codificados. Cerca de cada gen se encuentra una secuencia reguladora que es capaz de activar o desactivar el gen.

Si un gen es activado, éste producirá una proteína previa transcripción de la información a una molécula de ARN mensajero. La traducción de las secuencias de bases del ADN a proteína es dependiente del triplete de nucleótidos (denominado codón) en el ARNm. Cada codón codifica un aminoácido individual (Figura 1) y, finalmente, una cadena de aminoácidos forma una proteína. Existen un total de 60 codones de ARNm para 19 aminoácidos, 3 de ellos son tripletes de parada de lec-

tura y uno de inicio de lectura (también sirve para codificar el aminoácido metionina).

Mutaciones y polimorfismos

Es frecuente encontrar un uso sinónimo de los términos mutación y polimorfismo, ambos son cambios en la secuencia del ADN, pero el término mutación suele aludir a cambios cuyas consecuencias a menudo son patológicas o anormales (posee por tanto una connotación negativa), mientras que los polimorfismos son variaciones normales en la secuencia del ADN entre unos individuos y otros y que superan el uno por ciento en la población; no obstante, los polimorfismos pueden afectar, tanto como las mutaciones, las características de un individuo aunque de un modo más complejo. Podemos encontrar distintos tipos de polimorfismos que van desde los polimorfismos de longitud VNTRs y STRs (*Variable Number of Tandem Repeats* y *Short Tandem Repeats*, respectivamente) hasta los polimorfismos de un solo nucleótido o SNPs (*Single Nucleotide Polymorphisms*).

Las mutaciones son cambios en la secuencia de bases del ADN que pueden ocurrir tanto en las regiones codificadas como en las no codificadas

(principalmente en zonas próximas al sitio de corte y empalme que permite eliminar los intrones –*splicing*– y en zonas reguladoras que podrían afectar a la tasa de producción de proteínas). Las mutaciones pueden ser silenciosas y no tener efecto alguno en la proteína resultante o involucrar enormes cambios.

Los cambios en los nucleótidos se describen siempre en relación a una secuencia de referencia (a veces denominada *wild type* o “wt”) presente en las bases de datos (como GenBank o Ensembl); no obstante, algunos cambios pueden ser muy comunes (cerca del 50%) y variables entre distintas poblaciones por lo que es confuso establecer cuál es la secuencia de referencia.

Tipos de mutaciones

Podemos dividir las mutaciones en:

Mutación puntual

Si el nuevo triplete (codón) codifica el mismo aminoácido que el original esta mutación es neutra o “silenciosa”. Por ejemplo, el codón CUA que podría por una mutación convertirse en CUG, en ambos casos este codón codifica el aminoácido leucina (Leu).

Si el nuevo triplete codifica un aminoácido diferente del original, tenemos varias posibilidades:

- Mutaciones de sentido erróneo o alterado (mutación *missense*). El nuevo aminoácido es de un tipo químico similar. Por ejemplo, el triplete GAC (codifica el aminoácido ácido aspártico) que pasa a GAA (codifica el aminoácido ácido glutámico). El nuevo aminoácido es de un tipo químico muy distinto y/o afecta a un sitio especial en la proteína llevando a cabo o inestabilidad estructural o alteración en la estructura secundaria o inactivación.
- Mutaciones “sin sentido” (mutación *nonsense*). La mutación cambia el triplete por uno de “señal de parada” de la traducción: UAG, UAA, UGA con la terminación prematura de la proteína (proteína truncada que será más o menos severa dependiendo de la zona en la que se produzca).

Mutaciones de desplazamiento del marco de lectura (*frameshifts*)

Se pueden originar por pérdida o ganancia de un pequeño número de nucleótidos (que no sea 3 o múltiplo de 3), de este modo se produce un cambio total en el sentido del mensaje genético; a partir del sitio de la mutación se sintetiza una proteína distinta, inactiva y a menudo truncada.

Nomenclatura

Otra fuente de confusión es la nomenclatura con la que se designan las mutaciones y los polimorfismos. En estos últimos parece haber consenso (particularmente en los SNPs) y se suelen denominar por los números “rs” o *Reference SNP*, por ejemplo, rs2306220 (*Genbank database SNP ID*)⁽⁵⁾.

En cuanto a las mutaciones, éstas pueden aludir al ADN (se antepone el prefijo “c.” si la secuencia de referencia es la parte de ADN que será codificada, “g.” si la secuencia de referencia es ADN genómico) o al posible cambio producido en la proteína (estos datos son deducidos en base a lo observado en el ADN y se colocará el prefijo “p.”). Si aludimos al ADN las mutaciones serán nombradas con la posición que ocupa el nucleótido seguido del nucleótido “normal” (el que posee la secuencia de referencia); a continuación el símbolo “>” (como símbolo de sustitución) y después el nucleótido mutado (p. ej., c.957A>T, a veces incluso nos podemos encontrar en la literatura científica una barra o una flecha como símbolo de sustitución, aunque es una nomenclatura más obsoleta). También podemos encontrar una nomenclatura que aluda al cambio que eventualmente se pueda producir en la proteína; en este caso se coloca el nombre del aminoácido abreviado (Tabla II) “normal”, la posición que ocupa, seguido de la abreviatura del aminoácido al que, siguiendo el código genético (Figura 1), correspondería por la mutación observada, por ejemplo, p.Glu6Val indicaría que en el codón 6 se ha sustituido el ácido glutámico (Glu) por una valina (Val). Para los casos en los que el codón sea una señal de parada de lectura se representaría por una “X”, por ejemplo p.G542X.

En ocasiones los cambios son observados en heterocigosis (se observa una mezcla de 2 nucleó-

Tabla I. Correspondencias entre los aminoácidos y sus códigos

Aminoácido	Código (3 letras)	Código (1 letra)
Alanina	Ala	A
Arginina	Arg	R
Asparagina	Asn	N
Ácido aspártico	Asp	D
Cisteína	Cys	C
Glutamina	Gln	Q
Ácido glutámico	Glu	E
Glicina	Gly	G
Histidina	His	H
Isoleucina	Ile	I
Leucina	Leu	L
Lisina	Lys	K
Metionina	Met	M
Fenilalanina	Phe	F
Prolina	Pro	P
Serina	Ser	S
Treonina	Thr	T
Triptófano	Trp	W
Tirosina	Tyr	Y
Valina	Val	V

Es recomendable llamar a los aminoácidos por su abreviatura de tres letras puesto que si no podría dar lugar a alguna confusión, por ejemplo, con la mutación A60G alguien podría interpretar que en el nucleótido 60 ha habido un cambio de A por G cuando en realidad se trata de un cambio de aminoácido en el codón 60 de una alanina (Ala o A) por una glicina (Gly o G).

tidos) utilizando la nomenclatura que aluda a las diferentes mezclas de nucleótidos (Tabla II).

Para describir las variantes intrónicas se utiliza una nomenclatura que aluda a la posición que ocupe el cambio con respecto al comienzo o final del intrón (tomando como referencia el nucleótido final o inicial del exón más próximo al cambio). Por ejemplo, c.256+1G>T es un cambio en el comienzo 5' de un intrón, mientras que c.257-1G>T es un cambio en el final 3' de un intrón. En la Figura 2 se

Tabla II. Correspondencias entre los nucleótidos (bases nitrogenadas) y su relación cuando hay mezcla o heterocigosis

Código IUB
Y = T, C
K = G, T
M = A, C
S = G, C
W = A, T
B = C, G, T
D = A, G, T
H = A, C, T
V = A, C, G
N = A, C, G, T

A: adenina; C: citosina; G: guanina; T: timina.

observa la secuencia de nucleótidos y su posterior traducción a aminoácidos y distintos ejemplos con los efectos sobre determinados cambios en los nucleótidos de un exón. En la Figura 2 se observa una secuencia de referencia con las regiones no traducidas (5'UTR y 3'UTR), los intrones y los exones, y donde se exponen distintos ejemplos con variaciones.

Como consideración hay que valorar que en la actualidad hay un conocimiento mucho más exacto de la estructura de muchos genes (es posible que hoy se consideren un número distinto de exones en un gen del considerado originalmente). Algunas mutaciones por "tradición" pueden seguir expresándose del modo en que se expresaron en un momento determinado o bien han podido cambiar su nomenclatura adecuándola al conocimiento actual y esto puede originar confusiones al referirse a una misma mutación con distintos nombres.

Las distintas nomenclaturas utilizadas, el conocimiento más profundo de los genes, etc., hacen complicadas en ocasiones la búsqueda de información y la interpretación, es por ello por lo que se están haciendo esfuerzos para establecer unas recomendaciones únicas, tanto para los genes (HUGO: *Human Genome Organization*)⁽⁶⁾ como

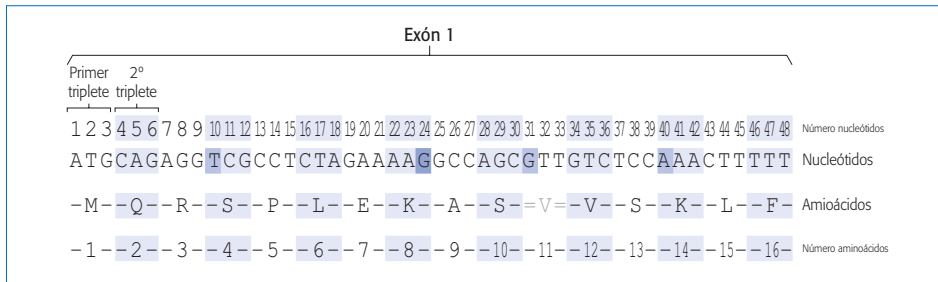


Figura 2. Secuencia de nucleótidos y su correspondiente traducción en aminoácidos que componen un exón.

Ejemplos de cambios en exón

AAG. Triplete AAG (número 8) que codifica para el aminoácido lisina (abreviadamente, Lys o K). Si hay un cambio G por A, el nuevo triplete pasaría a ser AAA que igualmente codificaría para lisina. Este cambio sería "silencioso". La nomenclatura para denominar este cambio sería c.24G>A.

GTT. Triplete GTT (número 11) que codifica para el aminoácido valina (abreviadamente, Val o V). Si hay un cambio G por A, el nuevo triplete pasaría a ser ATT, que codificaría isoleucina (Ile o I). Este cambio sería de sentido erróneo o alterado (*misense*). La nomenclatura para denominar este cambio sería c.31G>A (junto con el cambio de aminoácido que sería p.Val11Ile).

AAA. Triplete AAA (número 14) que codifica para el aminoácido lisina (abreviadamente, Lys o K). Si hay un cambio A por T (en la primera base), el nuevo triplete pasaría a ser TAA, que supondría una señal de parada y la proteína codificada estaría truncada (más corta y en ocasiones no funcional). Este cambio sería una mutación "sin sentido" (mutación *nonsense*). La nomenclatura para denominar este cambio sería p.Lys14X (la "X" indica señal de parada en la codificación).

TCG. Triplete CTA (número 4), que codifica para el aminoácido serina (abreviadamente, Ser o S). Si hay una delección de la T, la C pasaría a ser la primera base del nuevo triplete, la G, la segunda base y la tercera sería el primer nucleótido (C) del triplete siguiente (número 5), siendo por tanto CGC y codificando un aminoácido distinto (arginina o R). El siguiente triplete sería CTC (leucina o L) y el siguiente TAG, que supondría una señal de parada (Figura 3) y la proteína codificada estaría truncada (más corta y en ocasiones no funcional sin mencionar los aminoácidos distintos que contendría). Estas inserciones o delecciones (*indels*) provocan un desplazamiento del marco de lectura (*frameshifts*). La nomenclatura para denominar este cambio sería c.10delT ("del" indica delección del nucleótido o nucleótidos cuya posición es indicada por el número que lo precede. Si hubiese dos delecciones seguidas, sería descrito como en este ejemplo: c.10_11del o c.10_11delTC. Las inserciones de nucleótidos serían descritas como, por ejemplo: c.10_11insA).

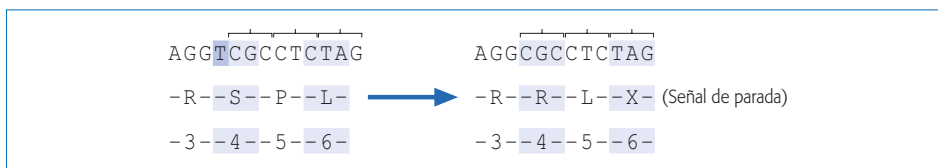


Figura 3. Desplazamiento del marco de lectura "frameshifts" por delección de la base T en 4 triplete.

para las descripciones de las variaciones de secuencia (HGVS: *Human Genome Variation Society*)⁽⁷⁸⁾.

Interacción gen-ambiente en las enfermedades de vías respiratorias

Desde un punto puramente epidemiológico, estadístico, la interacción gen-ambiente se entiende como la situación en la que el efecto de un determinado alelo de un gen ve modificados su

efecto sobre la enfermedad que se esté estudiando, dependiendo de la exposición a un factor ambiental o no, también puede leerse tal interacción como la forma en la que se modifica el efecto de un determinado factor ambiental ante la presencia, o ausencia, de un determinado factor de riesgo. Dicho de manera más rápida, la interacción gen-ambiente es la situación en la que las personas con carga genética diferente res-

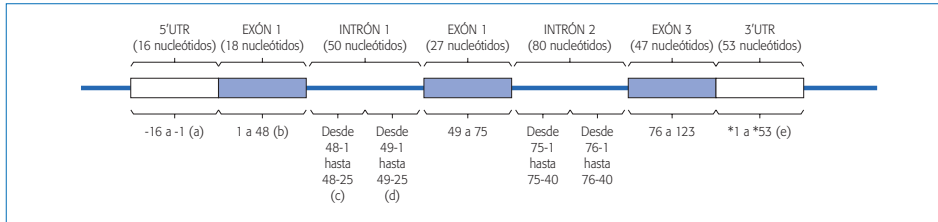


Figura 4. Estructura de una secuencia de referencia con las regiones 5'UTR y 3'UTR (*UnTranslated Region* o regiones no traducidas), los exones y los intrones.

Ejemplos de cambios en exones, intrones y regiones UTR (ejemplos a, b, c, d, e).

(a): c.-14G>C indica una sustitución de G a C en el nucleótido 14 de la región 5'UTR contado desde el codón de iniciación de la traducción.

(b): c.24G>A indica una sustitución de G a A en el nucleótido 24 de un exón (exón 1).

(c): c.48+20G>T indica una sustitución de G a T en el nucleótido 20 de un intrón (intrón 1) contado a partir del 48 (último nucleótido del exón 1). Esta nomenclatura se usa hasta mitad del intrón ya que una vez pasada esta zona se cambiará a la nomenclatura (d).

(d): c.49-5A>C indica una sustitución de A a C en el nucleótido 5 de un intrón (intrón 1) contado hacia la izquierda (dirección 3' a 5') del 48 (último nucleótido del exón 1).

(e): c.*46T>A indica una sustitución de T a A en el nucleótido 46 de la región 3'UTR contado desde el final del codón de terminación de la traducción.

ponden de manera diferente al mismo estímulo ambiental.

La forma en la que esa interacción se determina suele ser a partir de un modelo de regresión logística en el que aparecen los términos de primer nivel del gen (G) y del ambiente (E) para determinar la probabilidad de padecer la enfermedad. Para probar si existe interacción se añade un nuevo término al modelo, G*E, que representa el término de interacción, de manera que si ese término aporta algo significativo a la explicación de la enfermedad diremos que existe tal interacción, mientras que si no aporta nada significativo declaramos como no existente la interacción. La determinación de que la interacción existe no es el final del problema, sino que obliga a buscar la forma de esa interacción, es decir, cómo modifica el efecto del gen el ambiente o viceversa.

Desde un punto de vista gráfico, la Figura 5 que aparece a continuación explica en qué consiste la interacción.

En las figuras aparecen los dos genotipos posibles de un gen (Figura 5A y B) y aparecen las categorías de un factor de exposición binario, en blanco los no expuestos al factor de exposición y en azul los si expuestos al factor de exposición. En la

Figura 5A se ve la situación en que ni el gen ni el factor de exposición tienen ningún efecto sobre la prevalencia de la enfermedad, todas las combinaciones tienen la misma prevalencia. En la Figura 5B la situación es distinta, el grupo de expuestos da lugar a una mayor prevalencia, sin embargo esa superioridad del grupo de expuestos es la misma para el genotipo A que para el genotipo B; por tanto, hay un efecto del factor de exposición, no hay efecto del gen, ya que en los dos genotipos el efecto es el mismo, y además no hay interacción porque el efecto de la exposición es el mismo en el genotipo A ($4,3 - 1,3 = 3,0$) que en el B. La Figura 5C presenta una interacción clara ya que el estar expuesto a la exposición ambiental en el caso del genotipo A incrementa la probabilidad de sufrir la enfermedad de 1,3 a 2,5%, es decir, 1,2%, mientras que en el caso del genotipo B la incrementa de 2,0 a 4,3, es decir, 2,3%; o sea, el riesgo de tener la enfermedad se ve incrementado al estar expuesto al factor de riesgo ambiental pero ese incremento es mayor si está presente el genotipo B que si está presente el genotipo A. Por último, la Figura 5D presenta un caso extremo, y raro de interacción; ahora la modificación del efecto que provoca el genotipo B es que hace descender el efec-

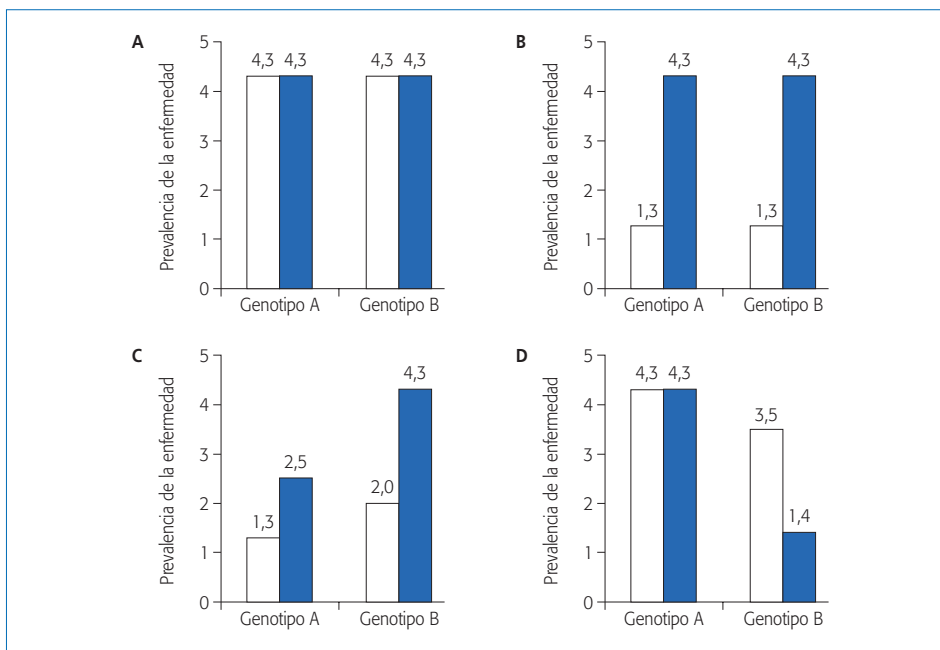


Figura 5. Efectos de un gen y de un factor ambiental y de la interacción entre ambos.

to del factor de exposición ambiental, mientras que este factor de exposición ambiental no tiene efecto cuando se tiene el genotipo A.

En el caso de las enfermedades respiratorias, los factores de exposición ambiental en los que se han estudiado de manera más detallada la interacción de los genes con ellos son el hábito tabáquico, la contaminación ambiental y exposición a infecciones microbianas. Veamos ahora algunos de los ejemplos más recientes.

Sadeghnejad et al (2008)⁽⁹⁾ estudiaron la interacción existente entre la presencia de los haplotipos más comunes del gen IL13, el hábito tabáquico de la madre durante el embarazo y el riesgo de asma persistente en la infancia. Con una muestra de 791 niños a los que se siguió desde el nacimiento hasta los 10 años. Encontraron que el hábito tabáquico de la madre incrementaba de manera evidente el riesgo de asma persistente en la infancia (OR = 2,93, $P < 0,001$); ahora bien ese incremento era mucho más fuerte si el niño tenía el par de haplotipos comunes del IL13, OR = 5,58, $P < 0,001$, que si no tenía ese par de haplotipos comu-

nes, OR = 1,29. Es, por tanto, un ejemplo muy claro de interacción gen-ambiente en el que, cuando el niño presenta la carga genética oportuna, se incrementa de manera patente el efecto del factor ambiental, que no tiene ese efecto, ni mucho menos, cuando no está presente la información genética oportuna.

Cáceres et al. (2009)⁽¹⁰⁾, llevando a cabo un análisis de casos y controles (111 casos de cáncer de pulmón y 133 controles sanos), estudiaron la interacción entre los portadores del alelo *Pro* del p53cd72 y el hábito tabáquico como factores predisponentes al cáncer de pulmón. Mediante dos estudios diferentes, como ahora veremos, demostraron que existía interacción entre el alelo y el hábito tabáquico OR = 3,90 (1,10-13,81) si se usaba el estudio de casos y controles y OR = 3,05 (1,63-5,72) si se usaban sólo los casos. En cualquier caso el incremento del riesgo cuando se es portador del *Pro* es patente y mucho mayor que cuando no se presenta el alelo, y eso tanto si el estudio es de casos y controles como si es sólo de casos, ya que los estudios de interacción se pueden hacer de

diferentes formas que enumeraremos a continuación.

La determinación de la existencia de la interacción gen-ambiente puede hacerse a través de diferentes estudios epidemiológicos que enumeraremos de manera sucinta:

- Diseños de cohortes: en este caso la determinación se hace a través de todos los casos incidentes que se presentan en una cohorte y de todos los que no son casos en esa misma cohorte, conociendo de ellos la exposición al factor ambiental y del conocimiento de la carga genética.
- Diseños de casos y controles: donde la determinación de las medidas que reflejan la interacción se hace a partir de una muestra de casos incidentes y una muestra de controles no enfermos.
- Diseños de casos solos: en los que la determinación de la interacción se hace a partir de casos con la enfermedad, suponiendo que no existe asociación entre la presencia del alelo y la exposición al factor ambiental.
- Diseños de casos y controles o de cohortes con un análisis de adaptado de casos solamente, es decir, un estudio en el que se ha demostrado que no existe asociación entre el factor de riesgo ambiental y la presencia del alelo en los controles; se usan los casos solamente para determinar que la interacción que nos ocupa ocurre.

En todos los casos los tamaños de muestra necesarios para determinar la interacción son tanto más grandes conforme son menores las tasas de exposición al factor ambiental y la prevalencia del alelo de susceptibilidad es menor. El ejemplo más llamativo de los anteriores es aquel en el que sólo se emplean casos para decidir si existe interacción gen-ambiente y que es potente y ajeno a error si existe evidencia empírica suficiente de que no existe asociación entre el marcador genético y la exposición al factor ambiental, por eso se habla del diseño cuarto de los anteriores, debiendo usarse muy cautelosamente cuando no se tiene esa evidencia empírica porque con ese diseño se puede sobreestimar, y fuertemente, el efecto de la interacción.

Por último, reseñar que los estudios más comunes de interacción gen-ambiente son los estudios con genes candidatos, en los que un número limitado y pequeño de genes son ensayados en su interacción con el factor ambiental estudiado. Estos estudios tienen la ventaja de que normalmente suele haber un modelo teórico que subyace a ellos y que hace, en principio, más potente los estudios. Sin embargo los estudios *genome-wide*, aquellos que han hecho avanzar más los estudios de asociación gen-enfermedad, no se emplean, todavía, de manera importante para intentar detectar la interacción entre el gen y la exposición a un factor ambiental, debido a que la falta de disponibilidad de metodología específica para el problema de la interacción ha hecho que su aplicación sea muy restringida. De otro lado, el uso de metodología *genome-wide* en el caso de estudios de sólo casos, muy usada para las interacciones, arroja serias preocupaciones sobre los resultados, estándose pendiente de metodología que solvante estos problemas. No obstante, los estudios *genome-wide* son, también, los estudios de más futuro en la interacción gen factor ambiental en enfermedades complejas, como pueden ser el asma o el cáncer de pulmón.

PRINCIPALES ENFERMEDADES RESPIRATORIAS DE BASE GENÉTICA

Fibrosis quística (FQ)

La fibrosis quística o mucoviscidosis es una enfermedad multisistémica grave, ocasionada por la alteración funcional de una proteína, CFTR, que actúa en el canal del ion cloro, y que se transmite siguiendo los patrones de herencia autosómica recesiva. En este sentido, desarrollan la enfermedad sólo los pacientes homocigóticos, siendo portadores de la misma los pacientes heterocigóticos. Su incidencia es alta (1 por cada 2.000-4.000 recién nacidos), y se estima que la frecuencia de portadores está en 1 de cada 25 individuos de la población general, aunque su prevalencia varía en función de áreas geográficas, siendo más frecuente en el norte.

El defecto básico se localiza en la regulación del transporte iónico de las células epiteliales exo-

crinas, por lo que se manifiesta clínicamente como una enfermedad multisistémica, con afectación pulmonar, digestiva (insuficiencia pancreática), electrolitos anormales en sudor e infertilidad masculina. En la actualidad, gracias al diagnóstico precoz, a las mejoras en la alimentación, la antibioterapia y el establecimiento de unidades especializadas en pediatría y neumología, la esperanza de vida de los pacientes con FQ se sitúa en torno a los 30 años.

El gen responsable del la FQ (CFTR) se localiza en el cromosoma 7q31, contiene 27 exones, expande unas 230 kb de DNA genómico y produce un RNAm de unas 6,5 kb. La proteína que codifica este gen se describe con el nombre CFTR (proteína reguladora de la conductancia transmembrana). Esta proteína consta de 1.480 aminoácidos, dispuestos en dos estructuras proteicas de membrana, y su función es la de constituir un canal de cloro de baja conductancia, regulado por AMPc, y localizado en la membrana apical de las células epiteliales.

Hasta el momento actual, se han identificado más de 1.300 mutaciones que pueden ocasionar FQ⁽¹¹⁾. La mutación más frecuente es una delección de tres pares de bases que provocan la pérdida de una fenilalanina en la posición aminoacídica 508 (F508del, más conocida como Δ F508), de la proteína CFTR. En la población española la frecuencia de esta alteración es del 53%, siendo G542X la segunda mutación más frecuente (8%). Tan sólo 12 mutaciones tienen una frecuencia superior al 1% en la población española, mientras que el resto (más de 100 mutaciones) tienen una frecuencia muy baja (Tabla III).

La determinación del genotipo específico puede tener mucho interés en lo que respecta al pronóstico y desarrollo de la enfermedad. Algunas mutaciones producen CFTR normal, pero en cantidades muy bajas, como ocurre en el caso de la mutación IVS8-6(5T). En este caso, los pacientes presentan sólo un 10% de la proteína CFTR normal. Clínicamente, estos pacientes se manifiestan con azoospermia obstructiva, sin otras características propias de la FQ. Igualmente, se describen casos de pacientes con esta mutación concreta, en los que la clínica consiste en pancreatitis crónica idiopática y bronquiectasias.

Tabla III. Principales mutaciones en el gen CFTR causantes de fibrosis quística en la población española

Mutación	Exón/intrón	No.Cro	(%)
p.F508del#	E.10	1.009	51,74
G542X#	E.11	150	7,69
p.N1303K#	E.21	57	2,92
c.1811+1.6kbA>G	I.11	36	1,84
p.R334W#	E.7	35	1,79
p.L206W	E.17b	32	1,64
c.711+1G>T#	E.6a	31	1,58
p.Q890X	I.5	28	1,43
p.R1162X#	E.15	25	1,28
c.2789+5G>A#	E.19	24	1,23
p.R1066C	I.14b	23	1,18
p.I507del3#	E.17b	21	1,07
c.1609delCA	E.10	18	0,92
c.712-1G>T	I.5	18	0,92
c.3272-26 A>G	I.17a	18	0,92
c.2183AA>G#	E.13	16	0,82
p.G85E#	E.3	15	0,77
c.2869insG	E.15	15	0,77
p.W1282X#	E.20	15	0,77
p.V2321D	E.6a	14	0,71
p.A1006E	E.17a	12	0,61
c.2184insA	E.13	11	0,56
p.K710X	E.13	11	0,56
Total (n = 23)		1.634	83,72

Modificado de Alonso MJ (2006)⁽¹²⁾.

Déficit de α 1-antitripsina (AAT)

El déficit de α 1-antitripsina (OMIM 107400) es una enfermedad autosómica recesiva, producida por mutaciones en el gen que codifica la producción de esta proteína, y que está situado en el cromosoma 14q32.1 (SERPINA1). Este gen comprende unas 12 kb de DNA genómico y está compuesto por cinco exones que codifican una pro-

teína de 394 aminoácidos. Los genes se heredan como 2 alelos codominantes y la variante deficiente que con más frecuencia causa la enfermedad es la Z⁽¹³⁾.

Dicha proteína tiene la función de inhibir la elastasa de los neutrófilos, además de tener propiedades anti y proinflamatorias. El principal lugar de expresión del gen es el hígado, aunque también se expresa en pulmón, riñón e intestino. Los pacientes homocigotos ZZ presentan una actividad de AAT inferior al 35% del límite inferior del intervalo de normalidad y, por tanto, un desequilibrio en su papel neutralizador de la elastasa, que conduce a la destrucción acelerada de las fibras elásticas pulmonares y a enfisema panacinar progresivo precoz. La enfermedad hepática producida por déficit de AAT consiste en el desarrollo de cirrosis e insuficiencia hepática⁽¹⁴⁾.

Se han identificado más de 100 variantes en el gen SERPINA1, el 95% de las cuales no producen ninguna alteración fenotípica (variantes M). Para que exista un déficit significativo de AAT los individuos han de ser homocigotos para la variante Z (ZZ). Los pacientes homocigotos ZZ tienen una cantidad de AAT en torno al 15-20%. Existe un grupo de mutaciones que conlleva ausencia o concentraciones extraordinariamente bajas de AAT (menos del 1%), se denominan alelos nulos y su frecuencia es muy baja. Actualmente en el diagnóstico prenatal se estudia directamente en el DNA la mutación responsable de la enfermedad.

Síndrome del cilio inmóvil

Ésta es una enfermedad que se describió por primera vez en 1976. Los pacientes que la padecen presentan un cuadro clínico complejo, caracterizado por tos crónica, expectoración mucopurulenta, rinitis crónica, poliposis nasal, sinusitis maxilar recurrente y en ocasiones agenesia del seno frontal, bronquiectasias y otitis. En los varones se asocia a inmovilidad de los espermatozoides. La forma de presentación puede variar desde casos con distrés respiratorio del recién nacido a historia de otitis de repetición o infertilidad en varones. En mujeres también puede producir infertilidad por alteración de la movilidad de los cilios del oviduc-

to. Tiene una prevalencia de 1/30.000, y en la mitad de los casos se asocia a *situs inversus*, constituyendo la entidad clínica conocida como *síndrome de Kartagener*.

La transmisión de la enfermedad se produce mediante herencia poligénica, y se conocen al menos diez genes que codifican las cadenas de dineína y las proteínas de los radios ciliares y puentes de nexina. En esta enfermedad la estructura ciliar se ve alterada, de manera que la función ciliar queda afectada, siendo ineficaz el movimiento de los cilios. El modo de transmisión, por el momento, no está del todo establecido^(15,16).

Asma

El asma es uno de los ejemplos más representativos de enfermedad compleja común, cuya patogenia está marcada por la exposición a diversos agentes exógenos y modificada por una serie de determinantes genéticos reguladores de diversos elementos clave para la función broncopulmonar. Varios estudios en grupos familiares y en gemelos han estimado el peso relativo de la dotación genética en el desarrollo de la enfermedad entre un 36 y un 79%.

En líneas generales, la aproximación al estudio genético del asma puede resultar una labor compleja, con múltiples aspectos a considerar. Se pueden encontrar individuos diagnosticados de asma, en los que no se encuentran alteraciones genéticas subyacentes (*mimetismo fenotípico*), al igual que sujetos con determinadas alteraciones genéticas y sin manifestaciones clínicas (*penetrancia incompleta*). El problema se complica cuando se considera que variaciones en múltiples genes (y dentro de cada gen diversas alteraciones distintas) pueden dar lugar al mismo fenotipo (*heterogeneidad genética*), o que deben aparecer alteraciones en múltiples genes de forma simultánea para que se exprese el fenotipo de la enfermedad (*herencia poligénica*).

Se han realizado estudios genéticos en diversos grupos étnicos bien definidos en varios países. De sus resultados destacan tanto la coincidencia al señalar ciertas regiones cromosómicas asociadas con asma, como la extraordinaria variabilidad en

cuanto a la influencia de aspectos étnicos en genes de susceptibilidad, relación genes-factores ambientales y definiciones del fenotipo. Los segmentos cromosómicos descritos con más frecuencia son 5q23-31, 6p21.3-23, 11q, 12q12-24.2, 13q21.3-pter y 14q11.2-13.

Concretamente, en el cromosoma 5 (q31) se encuentran los genes que codifican la síntesis de IgE e IgG4 de las células B, así como los genes de las interleucinas IL-4 e IL-9 y los receptores β 2-adrenérgicos. Hay regiones cromosómicas determinadas, que concentran alteraciones genéticas relacionadas con el asma, que varían entre poblaciones distintas. Así, en el cromosoma 11 (q3) se sitúa el gen FeRI, relacionado con el asma en la población blanca de África del Sur. En los pacientes asmáticos americanos de raza blanca hay preferencia por alteraciones que se sitúan en el cromosoma 6q, en los de raza negra en el cromosoma 11q y los de procedencia hispana en el cromosoma 1q. Hay otros múltiples genes descritos en diversas poblaciones de Europa, Japón, China y Australia.

Recientemente se han publicado evidencias de que determinados polimorfismos nucleotídicos simples (SNPs) en el gen CHI3LI, que codifica la síntesis de la proteína YKL-40, están relacionados con un aumento de esta proteína en plasma. Los niveles altos en plasma de dicha proteína tienen relación con un aumento del riesgo de padecer asma e hiperreactividad bronquial, así como con el deterioro precoz de la función pulmonar⁽¹⁷⁾.

Por otra parte, el desarrollo de áreas como la proteómica y la metagenómica, así como el estudio de los sistemas biológicos complejos, que confluyen en el concepto de "interactoma", colocan a los investigadores ante nuevos datos y formas de abordaje de los problemas biológicos que pueden aportar grandes resultados en un futuro cercano⁽¹⁸⁻²⁰⁾. Este nuevo enfoque del problema nos va a permitir entender mejor la necesaria interacción asma-medio ambiente, y el comportamiento de la interacción gen-gen que se demuestra que existe en muchos casos de la enfermedad.

A modo de resumen, se puede concluir que el asma es una enfermedad de base genética, cuyos

determinantes se encuentran en diversos genes, y cuya localización puede variar en grupos de población distintos. La herencia genética influye no sólo en la presentación, sino también en el desarrollo de la enfermedad. Es probable que, a la luz de las investigaciones que actualmente se están llevando a cabo, en un futuro no lejano podamos reconocer y clasificar distintos tipos de enfermedad asmática en función de la carga genética de los pacientes, y que ello se traduzca por un abordaje clínico y terapéutico diferenciado. En este sentido, en el asma y otras muchas enfermedades, habrá que tener en cuenta la respuesta diferenciada de cada individuo a determinados fármacos en función de su carga genética (*farmacogenómica*)⁽²¹⁾.

Cáncer de pulmón (CP)

El cáncer de pulmón es el más diagnosticado en los países industrializados, y el que ocasiona mayor número de muertes. Las tasas de curación de cáncer de pulmón se mantienen en torno al 6-16% desde hace más de 15 años^(22,23). En Europa se diagnosticaron en 2004, 381.000 nuevos casos, de los cuales murieron 341.000.

En las células somáticas se producen mutaciones con una frecuencia relativamente baja (10^{-5} a 10^{-7} , por gen y generación), que no suelen tener traducción patológica. Las mutaciones que potencialmente pueden provocar tumores son las que afectan a la capacidad de control de la división celular y a los mecanismos de control de la misma.

En el cáncer de pulmón se reconocen tres grupos de genes:

- **Protooncogenes.** Los protooncogenes son genes que codifican factores de transcripción y expresión de otros genes, y regulan la división celular. En las células cancerosas, uno o más protooncogenes pueden estar alterados, de manera que generan proteínas anormales en su función o estructura. En otras ocasiones, los protooncogenes pueden codificar productos proteicos normales, pero los genes se sobreexpresan y no pueden ser reprimidos en el momento adecuado. Finalmente, en otros casos, el producto del protooncogén está continuamente activo, lo que estimula constante-

Tabla IV. Genes que intervienen en el cáncer de pulmón

Cromosoma	Gen	Frecuencia	Función
Cr.3 (p14.2, p12, p25)	FHIT	SCLC 100% Adenocarcinoma 60% Células escamosas 100%	Supresor
Cr.8	MYC	SCLC 30-40%	Oncogén
Cr.9 (p21)	P16	SCLC 80% NSCLC 50%	Supresor
Cr.10 (q23)	PTen	SCLC 17% NSCLC 12%	Supresor
Cr.12p	K Ras	Adenocarcinoma 30-40%	Oncogén
Cr.13q	Retinoblastoma	SCLC 90% NSCLC infrecuente	Supresor
T 14/18	Bcl-2	SCLC 25% Adenocarcinoma 100%	Oncogén
Cr.17 (p13)	P53	SCLC 75-100% CEA Células escamosas 75% Adenocarcinoma 50% Adenocarcinoma broncoalveolar > 20%	Supresor
Cr.17p	LKB I/STK II	Adenocarcinoma	Supresor
Cr.17q	c-erb.2/neu	NSCLC 30-40%	Oncogén

Modificado de Barreiro E (2006)⁽²⁷⁾.

mente la división celular. Cuando un protooncogén contiene una mutación o se expresa incorrectamente, y contribuye al desarrollo de un cáncer, pasa a denominarse oncogén (gen que causa cáncer).

- **Genes supresores.** Los genes supresores forman parte de la dotación celular normal, y se encargan de controlar la proliferación celular excesiva. Las alteraciones en estos genes aumentan las probabilidades de que se produzcan tumores, comportándose de manera similar a un oncogén.
- **Genes mutadores.** Hay una serie de genes que intervienen en la reparación del DNA, y que se denominan genes mutadores. Las alteraciones o mutaciones en estos genes aumentan la posibilidad de que se produzcan mutaciones en todo el genoma, activándose oncogenes y alterando genes supresores tumorales.

Además de los factores genéticos, existen factores extrínsecos que aceleran o inducen las mutaciones (tabaquismo, agentes químicos, radiaciones, infecciones víricas, etc.), además de un factor relacionado con la susceptibilidad individual⁽²⁴⁾.

Amplios estudios de grandes series de pacientes con cáncer de pulmón han demostrado la existencia de anomalías cromosómicas y mutaciones que se relacionan con la presencia de cáncer de pulmón y con el pronóstico del mismo^(25,26).

Las mutaciones más importantes se resumen en la Tabla IV.

La presencia del P53 se considera como un factor de mal pronóstico, especialmente en el adenocarcinoma. Suele aparecer en lesiones precancerosas, mientras que el FHIT es habitual en lesiones invasivas. La presencia del gen del retinoblastoma se relaciona con buen pronóstico en el carcinoma de células grandes.

Una de las líneas más prometedoras, en cuanto a las repercusiones de los estudios genéticos de los tumores en lo referente al tratamiento, es la determinación de dianas moleculares a las que dirigir la quimioterapia. En este sentido, hay ya algunos resultados prometedores en series de pacientes con tumores no células pequeñas (NSCLC), en los que la elección de la quimioterapia basada en el estudio de mutaciones en el gen EGFR y BCRA1 mejoran de manera significativa la supervivencia⁽²⁸⁾.

BIBLIOGRAFÍA

1. Antonarakis SE et al; Nomenclature Working Group. Recommendations for a nomenclature system for human gene mutations. *Hum Mutat* 1998; 11: 1-3.
2. den Dunnen JT, Antonarakis SE. Mutation nomenclature extensions and suggestions to describe complex mutations: a discussion. *Hum Mutat* 2000; 15: 7-12.
3. Ogino S, Gulley ML, den Dunnen JT, Wilson RB; The Association for Molecular Pathology Training and Education Committee. Standard mutation nomenclature in molecular diagnostics: practical and educational challenges. *J Mol Diagn* 2007; 9: 1-6.
4. GenBank Database: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez>.
5. Nomenclature for the description of sequence variations (<http://www.hgvs.org/mutnomen/>).
6. HUGO Gene Nomenclature Committee (<http://www.genenames.org/>).
7. Human Gene Mutation Database (<http://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/index.php>).
8. Ensembl (<http://www.ensembl.org/index.html>).
9. Sadeghnejad A, Karmaus W, Arshad SH, Kurukulaaratchy R, Huebner M, Ewart S. IL 13 gene polymorphisms modify the effect of exposure to tobacco smoke on persistent wheeze and asthma in childhood, a longitudinal study. *Respir Res* 2008; 9: 2.
10. Cáceres DD, Quiñones LA, Schroeder JC, Gil LD, Irurozabal CE. Association between p53 codon 72 genetic polymorphism and tobacco use and lung cancer risk. *Lung* 2009; 187 (2): 110-5. Epub 2009 Jan 7.
11. <http://www.genet.sickkids.on.ca>.
12. Alonso MJ, Heine-Suñer D, Calvo M, Rosell J, Giménez J, Ramos MD et al. Spectrum of mutations in the CFTR gene in cystic fibrosis patients of Spanish ancestry. *Ann Hum Genet* 2007; 71 (Pt 2): 194-201.
13. Sandhaus R. Alpha-1-antitrypsin deficiency 6: new and emerging treatments for alpha-1-antitrypsin deficiency. *Thorax* 2004; 59: 904-9.
14. Anonymous. American Thoracic Society/European Respiratory Society Statement: standards for the diagnosis and management of individuals with alpha-1-antitrypsin deficiency. *Am J Respir Crit Care Med* 2003; 168: 818-900.
15. Wessels MW, Avital A, Faily M, Muñoz A, Omran H, Blouin JL et al. Candidate gene analysis in three families with acilia syndrome. *Am J Med Genet A* 2008; 146^a (13): 1765-7.
16. Faily M, Saitta A, Muñoz A, Falconnet E, Rossier C, Santamaría F et al. DNAI1 mutations explain only 2% of primary ciliary dyskinesia. *Respiration* 2008; 76 (2): 198-204. Epub 2008 Apr 23.
17. Ober C et al. Effect of variation in CHI3LI on serum YKL-40 level, risk of asthma, and lung function. *N Eng J Med* 2008; 358: 1682-91.
18. Moffat FM. Genes in asthma: new genes and new ways. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2008; 8: 411-7.
19. Rho S, You S, Kim Y, Hwan G. From proteomics toward systems biology-integration of different types of proteomics data into network models. *BMB Rep* 2008; 4: 148-93.
20. Sieberts SK, Schadt EE. Moving towards a systems genetics view of disease. *Mamm Genome* 2007; 18: 389-401.
21. Weinshilboum RM, Wang L. Pharmacogenetics and pharmacogenomics: development, science, and translation. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 2006; 7: 223-45.
22. Janssen-Heijnen MLG, Coebergh JWW. The overall evaluation of Lung Cancer in Europe. *Lung Cancer* 2003; 41: 245-58.
23. Boyle P. Cancer, cigarette smoking and premature death in Europe: a review including the Recommendations of European Cancer Experts consensus Meeting, Helsinki, October. *Lung Cancer* 1997; 17 (1): 1-60.
24. Peto R, Darby S, Deo H, Silcocks P, Whitley E, Doll R. Smoking, smoking cessation and lung cancer in the UK since 1950: combination of national statistics with two case-control studies. *BMJ* 2000; 321: 232-9.
25. Roland M, Rudd RM. Somatic mutations in the development of lung cancer. *Thorax* 1998; 53: 979-83.
26. Sánchez-Céspedes M. Dissecting the genetic alterations involved in lung carcinogenesis. *Lung Cancer* 2003; 40: 111-21.
27. Barreiro E. Genética de las enfermedades respiratorias. En: Martín P, Ramos G, Sanchís J, eds. *Medicina respiratoria*. 2ª ed. Madrid: Aula Médica; 2006.
28. Bermejo E, Cobo M, Arrabal R. Quimioterapia basada en el perfil genético en carcinoma broncogénico estadio IV. *Neumosur* 2008; 20 (4): 191-4.