

## Interacción entre genotipo y nutrición: interpretación de estudios epidemiológicos

José Luis Santos M<sup>1a</sup>, José Alfredo Martínez H<sup>2b</sup>, Miguel Ángel Martínez-González<sup>3</sup>.

### *Genotype-by-nutrition interaction: interpretation of epidemiological studies*

*Epidemiological methods are increasingly used to assess the role of genetic factors and their interaction with environmental factors, in the occurrence of diseases in populations. Nutrition is one of the most relevant components of the interaction between the human being and the environment. Therefore, the interaction between susceptibility genotypes and nutritional risk factors has a great importance in the study of several chronic diseases. The aim of this article is to review different epidemiologic study designs and basic methods of analysis commonly used in the evaluation of the interaction between nutritional and genetic factors. These study designs and analytical methods are equally valid for the assessment of genotype-environment or genotype-genotype interactions (Rev Méd Chile 2007; 135: 792-9).*

**(Key words:** Genetics predisposition to disease; Nutritional and metabolic diseases; Nutritional status).

Recibido el 22 de mayo, 2006. Aceptado el 5 de septiembre, 2006.

Trabajo parcialmente financiado por proyecto FONDECYT # 1061096 y la Línea Especial de la Universidad de Navarra «Nutrición, Obesidad y Salud».

<sup>1</sup>Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos (INTA), Universidad de Chile. <sup>2</sup>Departamento de Fisiología y Nutrición, Universidad de Navarra. <sup>3</sup>Departamento de Medicina Preventiva y Salud Pública, Universidad de Navarra.

<sup>a</sup>Ph.D. Biología. MSc Epidemiología Genética

<sup>b</sup>Ph.D Farmacia

Uno de los objetivos de la epidemiología genética es el estudio del papel de los factores genéticos y su interacción con factores ambientales en la ocurrencia de enfermedades en

poblaciones<sup>1</sup>. En este sentido, la nutrición es uno de los componentes más relevantes de la relación del ser humano con el medio ambiente<sup>2</sup>, por lo que la investigación relativa a la interacción entre el perfil genético y el tipo de nutrición es de gran relevancia en el estudio de la ocurrencia de un gran número de enfermedades crónicas<sup>3</sup>.

En epidemiología, interacción significa que el efecto conjunto de dos factores sobre el riesgo de enfermar no puede ser simplemente la suma de

*Correspondencia a:* José Luis Santos. Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos (INTA). Universidad de Chile. El Líbano 5524. Casilla 138 - 11. Comuna de Macul. Santiago, Chile. Teléfono: (56 2) 678 14 60. Fax: (56 2) 221 40 30. E mail: jsantos@inta.cl

los efectos separados (si la interacción se evalúa en escala aditiva) o no pueden ser simplemente su multiplicación (si se evalúa en escala multiplicativa)<sup>3-5</sup>. Se han propuesto diferentes modelos de interacción estadística entre genes y ambiente basados en interacciones de tipo biológico<sup>6</sup>. En ausencia de modelos biológicos de interacción, la evaluación estadística de la interacción entre factores en estudios epidemiológicos puede ser útil en la investigación etiológica de enfermedades, aunque no siempre es posible proponer interacciones de tipo biológico a partir de interacciones estadísticas<sup>7</sup>.

El objetivo de este artículo es revisar diferentes diseños de estudio que evalúan la interacción entre factores nutricionales y factores genéticos en estudios de epidemiología genética con sujetos sin relación familiar<sup>8-12</sup>.

*Modelo multiplicativo de interacción: estudios de cohorte y de casos y controles.* Antes de introducir los estudios de casos y controles, nos referiremos a un estudio de seguimiento en el que definimos riesgo como la probabilidad de desarrollar una enfermedad considerando el seguimiento de una cohorte cerrada de personas sanas durante un tiempo determinado. Consideraremos dos factores de riesgo que podrían interactuar en el desarrollo de la enfermedad: la presencia de un genotipo de susceptibilidad (factor genético llamado G) y una exposición nutricional (E).

En ausencia de interacción en escala multiplicativa para el riesgo relativo RR, definido como cociente de proporciones de incidencia<sup>13</sup>, se cumpliría la siguiente igualdad<sup>14</sup>.

$$RR_{11} = RR_{10} \cdot RR_{01}$$

Donde el primer subíndice (i) se refiere a la presencia (i=0) o ausencia (i=1) del genotipo de susceptibilidad mientras que el segundo subíndice (j) se refiere a la presencia o ausencia del factor nutricional. En el contexto de seguimiento de una cohorte cerrada, el RR podría aproximarse, bajo ciertas circunstancias, mediante la razón de *odds* u *odds ratio* (OR)<sup>15</sup>, quedando la ecuación anterior como:

$$OR_{11} = OR_{10} \cdot OR_{01}$$

La OR se aproximaría de manera adecuada al RR cuando la enfermedad es de muy baja frecuencia para todos los niveles de exposición<sup>16</sup>. Al evaluar la interacción entre factores, sería posible sustituir el RR por la OR, aunque el efecto de este reemplazo en la evaluación de interacciones podría generar problemas en la interpretación<sup>17,18</sup>.

En muchas ocasiones, las interacciones se evalúan en el contexto de estudios de casos y controles, como una forma eficiente de obtener información sobre la asociación/interacción entre variables. En este sentido, se ha estudiado intensamente la relación que existe entre la OR y el RR calculados ambos en un estudio de seguimiento y su relación con la OR calculada en estudios clásicos de casos y controles<sup>15</sup>.

Consideraremos al factor genético como un locus bialélico: un alelo «S» o de «susceptibilidad» y un alelo «N» o alelo «normal». Por tanto, definimos 3 genotipos: N/S, N/N y S/S, así como a los portadores del alelo S como aquellos que cargan con al menos una copia de este alelo (es decir, a la suma de los genotipos N/S + S/S). En un estudio de casos y controles, la interacción entre un factor genético (G) y una exposición nutricional (E), definidas ambas de forma dicotómica, puede visualizarse adecuadamente en una tabla de 2x4<sup>19</sup>.

En la Tabla 1 se presenta un estudio de casos y controles ficticio que corresponde a lo que aproximadamente se esperaría en ausencia de interacción multiplicativa entre un factor de riesgo genético y una exposición nutricional. Bajo la hipótesis nula de ausencia de interacción en escala multiplicativa, el valor esperado de  $OR_{11}$  cuando coinciden ambas exposiciones (G y E) sería  $OR = OR_{10} \cdot OR_{01} = 3,1 \times 6,5 = 20,2$ . Vemos que la OR observada para la concurrencia de ambos factores es  $OR_{11} = 21,5$ , que es muy similar a la esperada, por lo que se podría concluir que los efectos simplemente se multiplican y estamos muy próximos a lo esperado según la hipótesis nula de no interacción multiplicativa. Si por el contrario, encontrásemos una OR muy distinta de 20,2 cuando coincidiesen ambos factores de riesgo, estaríamos en presencia de interacción en escala multiplicativa para la OR y rechazaríamos la hipótesis nula. Si la  $OR_{11}$  observada fuera superior a la  $OR_{11}$  esperada, entonces existirían evidencias para pensar que el efecto simultáneo de ambos

**Tabla 1. Valoración de la interacción genotipo-nutrición en escala multiplicativa en un estudio de casos y controles (tabla de 2x4)**

Genotipo (G)	Exposición nutricional (E)	Casos	Controles	OR
Portador alelo S	+	114	30	OR <sub>11</sub> =21,5
Portador alelo S	-	72	63	OR <sub>10</sub> =6,5
No portador	+	5	9	OR <sub>01</sub> =3,1
No portador	-	3	17	1 (ref)
OR (casos/controles)		Exposición nutricional		
		Ausente	Presente	
Genotipo	No portador	1 (Referencia)	3,1 (5/9)/(3/17)	
	Portador	6,5 (72/63)/(3/17)	21,5 (114/30)/(3/17)	

factores excedería el efecto esperado bajo el supuesto de no interacción en escala multiplicativa y podríamos hablar de sinergia más que multiplicativa entre ambos factores.

En la parte inferior de la Tabla 1 se ha representado una disposición alternativa de la tabla 2x4. Se representan en **negrita** las *odds ratios* (ORs) y lo que aparece entre paréntesis es el modo de calcular las ORs para cada una de las otras tres casillas, siempre en referencia a la casilla superior izquierda (no portadores, sin exposición nutricional). Se aprecia que entre los no portadores del polimorfismo estudiado (primera fila) el paso de no tener la exposición nutricional a tenerla aumenta la odds de desarrollar la enfermedad en un factor de 3,1 (3,1/1 =3,1). Algo muy similar sucede en los portadores, pues entre ellos, al exponerse al factor nutricional, su odds aumenta en un factor de 3,3 (21,5/6,5 =3,3). Dejando aparte el efecto de pequeñas fluctuaciones aleatorias, esto es lo esperable en ausencia de interacción. Al no haber interacción se concluiría que el efecto de la exposición nutricional es el mismo independientemente de cuál sea la dotación genética.

En muchos textos clásicos de epidemiología y bioestadística, la manera habitual de evaluar la interacción en estudios de casos y controles en escala multiplicativa es el uso del análisis estratificado<sup>20</sup>. Resulta fácil reordenar los datos de la Tabla 1 para estimar que la asociación cruda entre genotipo portador (G) y la enfermedad resulta en una OR de 6,5, mientras que al estratificar por la presencia de exposición nutricional (E), obtene-

mos una OR para la asociación genotipo-enfermedad de 6,8 en los niños expuestos al factor de riesgo nutricional y una OR de 6,5 en los niños no expuestos. Se aprecia que la asociación genotipo-enfermedad es esencialmente muy parecida, se esté o no expuesto al factor de riesgo nutricional. Este tipo de análisis sirve para evaluar la homogeneidad de OR's referentes a la asociación entre la enfermedad y el genotipo de susceptibilidad al estratificar por la presencia del factor ambiental E. La homogeneidad de ORs en los diferentes estratos definidos por E sería indicativa de ausencia de interacción en escala multiplicativa<sup>21</sup> (Tabla 2).

La representación de la información en las Tablas 1 y 2 ignora que las variantes genéticas definen tres genotipos en el caso de polimorfismos con dos alelos. Para incluir la información de tres genotipos, podríamos desdoblar la categoría de portadores del alelo S en otras dos categorías (los homocigotos S/S y los heterocigotos N/S), tal y como se muestra en la Tabla 3, que recoge la información de los mismos sujetos que los de la Tabla 1. La desagregación del efecto en heterocigotos y homocigotos para el alelo de susceptibilidad (Tabla 3) presenta una ventaja, ya que se puede aportar mejores argumentos apoyando la causalidad cuando, como aquí sucede, se aprecia una gradación de efecto desde el no-portador de S al homocigoto para el alelo de susceptibilidad S, estando el efecto en niveles intermedios para el heterocigoto. También permite valorar más detalladamente la hipótesis nula de no interacción multiplicativa con el factor nutricional en cada estrato del

**Tabla 2. Interacción genotipo-nutrición en escala multiplicativa mediante análisis estratificado en un estudio de casos y controles**

Asociación cruda		Ausencia del factor de riesgo nutricional	
		Genotipo	
	Portador alelo S	No-portador	
Casos	186	8	72
Controles	93	26	63
		OR =6,5	
		Presencia del factor de riesgo nutricional	
		Genotipo	
	Portador alelo S	No-portador	
Casos	186	8	114
Controles	93	26	30
		OR =6,8	

**Tabla 3. Valoración de la interacción genotipo-nutrición en escala multiplicativa en un estudio de casos y controles (tabla de 2x6)**

Genotipo (G)	Exposición Nutricional (E)	Casos	Controles	OR
Homocigoto S/S	+	88	18	27,7
Homocigoto S/S	-	52	25	11,8
Heterocigoto N/S	+	26	14	10,5
Heterocigoto N/S	-	20	36	3,1
No portador (N/N)	+	5	9	3,1
No portador (N/N)	-	3	17	1 (ref)

genotipo. Así, para los heterocigotos, esta hipótesis nula haría esperar una  $OR = 3,1 \times 3,1 = 9,6$  si están expuestos al factor de riesgo nutricional. Lo observado ( $OR = 10,5$ ) se desvía ligeramente por encima. Para los homocigotos del alelo S, lo esperado sería  $OR = 3,1 \times 11,8 = 36,6$ . Lo observado ( $OR = 27,7$ ) se desvía ligeramente por debajo. Estas pequeñas desviaciones no parecen proporcionar argumentos importantes en contra de la hipótesis nula.

Una alternativa a los resultados de la Tabla 1 sería haber encontrado una interacción en escala multiplicativa para la OR. Un ejemplo de la existencia de interacción es un estudio de casos y controles en el que se evaluó la interacción entre

el polimorfismo Gln27Glu del receptor beta-2 adrenérgico (codificado por el gen ADRB2) y la ingesta de hidratos de carbono sobre el riesgo de obesidad<sup>22</sup>. En este estudio, se observó que existía un mayor riesgo de obesidad en mujeres que simultáneamente eran portadoras del alelo Glu27 del gen ADRB2 y tenían una elevada ingesta de hidratos de carbono (>49% de la energía total). Específicamente, la OR de obesidad fue de 0,53 (I.C. 95%: 0,15-1,86) para una alta ingesta de carbohidratos en mujeres homocigotas para el alelo salvaje (Gln27). Sin embargo, esta OR fue de 2,56 (I.C. 95%: 1,0-1,16) en mujeres portadoras del alelo Gln27. La evaluación del

término de interacción entre el factor genético (portadores del alelo Glu27 en el gen ADRB2) y el factor nutricional (ingesta elevada de hidratos de carbono) generó un valor de p de 0,058, marginalmente significativo y que permitiría sugerir la existencia de interacción en escala multiplicativa.

La Tabla 4 recoge datos ficticios inspirados en el trabajo de Martínez et al<sup>22</sup>. Se aprecia en esta Tabla que existe interacción o modificación del efecto, dado que el efecto de la exposición nutricional es completamente diferente entre quienes son portadores del alelo mutado que entre quienes no lo son. En efecto, en la situación descrita en la Tabla 4, la exposición nutricional resulta protectora frente a la enfermedad para quienes no son portadores, ya que les reduce la *odds* de padecer la enfermedad a 52% de la que tendría si no estuviesen expuestos. En cambio, para quienes son portadores, esta exposición nutricional no es protectora, sino perjudicial, ya que representa un incremento en el riesgo de desarrollar la enfermedad, pues multiplica la *odds* por un factor de 2,5 (1,69/0,67 =2,5). Es decir, en los portadores, la exposición nutricional, en vez de reducirles el riesgo de desarrollar la enfermedad lo multiplica por 2,5 veces.

Las OR's de las Tablas 1 y 4 representan estimaciones basadas en muestras de casos y controles y por tanto están sujetas a fluctuaciones aleatorias. Por ello, es necesario aplicar un test estadístico para comparar la OR<sub>11</sub> observada con respecto a la esperada bajo la hipótesis nula de ausencia de interacción en escala multiplicativa para la OR. Al definir G y E de forma dicotómica

(Tablas 1 y 4), la interacción se podría evaluar mediante procedimientos de regresión logística<sup>23</sup>:

$$\text{Log (odds)} = \beta_0 + \beta_1 (G) + \beta_2 (E) + \beta_3 (G \times E)$$

El término de producto GxE es el llamado término de interacción. El test estadístico para evaluar la hipótesis nula Ho:  $\beta_3 = 0$  es el llamado test de interacción en escala multiplicativa para la OR. Para los datos de la Tabla 1 se encontró un valor p =0,98 al evaluar Ho:  $\beta_3 = 0$ , lo que sería indicativo de la inexistencia de interacción en escala multiplicativa para la OR. En cambio, para los datos de la Tabla 4, se halló un valor p =0,001, que apoya la existencia de una interacción estadísticamente significativa.

Al considerar tres genotipos (Tabla 3), el test estadístico de interacción entre el genotipo y el factor de riesgo ambiental podría llevarse a cabo mediante modelos de regresión logística construidos con dos variables indicadoras binarias para los genotipos heterocigotos (HET) y genotipos homocigotos del alelo de susceptibilidad (HOM), quedando el genotipo homocigoto para el alelo N como categoría de referencia. Estos modelos incluirían también dos términos de producto (HET x E) y (HOM x E), porque ahora se contrastan dos hipótesis nulas referentes a la interacción (en heterocigotos y en homocigotos):

$$\text{Log (odds)} = \beta_0 + \beta_1 (\text{HET}) + \beta_2 (\text{HOM}) + \beta_3 (E) + \beta_4 (\text{HET} \times E) + \beta_5 (\text{HOM} \times E)$$

En esta situación, el test estadístico para evaluar dos hipótesis nulas Ho:  $\beta_4 = 0$  y Ho:  $\beta_5 = 0$

**Tabla 4. Existencia de interacción genotipo-nutrición (en escala multiplicativa) en un estudio de casos y controles (tabla de 2x4)**

Genotipo (G)	Exposición Nutricional (E)	Casos	Controles	OR
Portador alelo S	+	61	30	OR <sub>11</sub> =1,69
Portador alelo S	-	50	62	OR <sub>10</sub> =0,67
No portador	+	20	32	OR <sub>01</sub> =0,52
No portador	-	36	30	1 (ref)
OR (casos/controles)		Exposición Nutricional		
		Ausente	Presente	
Genotipo	No Portador	1 (Referencia)	0,52 (20/32)/(36/30)	
	Portador	0,67 (50/62)/(36/30)	1,69 (61/30)/(36/30)	

sería el test de interacción en escala multiplicativa para la OR. En el ejemplo de la Tabla 3, la aplicación de este modelo logístico entregaría un valor p de 0,94 que indicaría nuevamente la inexistencia de interacción en escala multiplicativa para la OR al considerar la existencia de tres genotipos.

*Modelo aditivo de interacción: estudios de casos y controles.* En un estudio de casos y controles, la ausencia de interacción en escala aditiva implica la siguiente igualdad<sup>24,25</sup>:

$$OR_{11} = OR_{10} + OR_{01} - 1$$

De modo similar al apartado anterior, debemos evaluar si la OR correspondiente a la concurrencia de un genotipo de susceptibilidad y un tipo particular de nutrición se aparta suficientemente de la OR esperada bajo la hipótesis nula de ausencia de interacción en escala aditiva. Dayal<sup>24</sup> y Skrondal<sup>25</sup> presentan diferentes métodos para la evaluación de la interacción en escala aditiva en un estudio de casos y controles, advirtiendo sobre las ventajas y limitaciones de su uso.

La aplicación del método de Dayal<sup>24</sup> en los datos de la Tabla 1 entregó un valor p de 0,01, lo que indicaría la posible existencia de interacción en escala aditiva para la OR, en lugar de interacción en escala multiplicativa. Suele ocurrir así, cuando no hay interacción en escala multiplicativa y la magnitud de la asociación es grande, dado que la ausencia de interacción entonces significaría que no se añade ni se quita nada a la multiplicación de los efectos. En cambio, cuando dos factores se multiplican, su efecto conjunto sí que añade algo a la suma de sus efectos individuales. En el ejemplo de la Tabla 1, el efecto conjunto (OR =21,5) equivalía aproximadamente al producto de los dos efectos individuales (3,1 x 6,5 =20,15). En cambio este efecto conjunto (OR =21,5) es muy superior a la suma de los dos efectos individuales.

Muchas de las asociaciones entre factores de riesgo genético y enfermedades crónicas son de magnitud modesta y, a veces pueden ser inciertas<sup>26</sup>. En este sentido, es importante señalar que, a medida que la magnitud de la asociación sea más pequeña, existirán más dificultades para poder separar los efectos multiplicativos de los efectos

aditivos. Sin embargo, también hay que mencionar situaciones en las que el factor genético contribuye de forma importante a la susceptibilidad de presentar trastornos de etiología compleja<sup>27</sup>.

*Modelo multiplicativo de interacción: estudios de sólo-casos.* El estudio de sólo-casos ha surgido como una alternativa al estudio de casos y controles para la evaluación de la interacción entre factores<sup>11,12</sup>. Este diseño de investigación no permite la estimación de los efectos separados de los factores de riesgo en estudio, sino únicamente valorar la interacción entre ellos. Aunque esta estrategia no usa controles, su validez descansa de forma importante sobre el supuesto de inexistencia de asociación entre los factores considerados (G y E). Si la independencia entre factores se cumple, entonces la OR de asociación entre los dos factores medida sólo en los casos (OR<sub>CA</sub>) sería útil para la detección de interacción entre G y E. Es importante insistir en que esta OR<sub>CA</sub> no estima asociación alguna entre exposición y enfermedad o entre genotipo y enfermedad, sino únicamente el efecto de interacción entre ambos factores.

La interacción en escala multiplicativa para la OR podría evaluarse en una muestra de sólo casos, si existe independencia entre G y E en la muestra de controles. Esta estrategia ha sido usada principalmente en la evaluación de interacción entre genotipos y factores ambientales para enfermedades de baja frecuencia en las que la muestra de controles podría considerarse como una muestra representativa de la población y donde la OR y el RR son muy similares<sup>28</sup>.

$$OR_{CA} = \frac{OR_{11}}{OR_{10} \cdot OR_{01}}$$

Si la condición de independencia entre G y E se aplica a la población al completo y no sólo a los controles, la OR que relaciona ambos factores calculada sólo en los casos (OR<sub>CA</sub>) también podría expresarse en función de riesgos relativos<sup>29</sup>. En este contexto, si OR<sub>CA</sub> =1, entonces RR<sub>11</sub> =RR<sub>10</sub> · RR<sub>01</sub>, lo que indicaría la inexistencia de interacción en escala multiplicativa para el RR. Un aspecto importante que debe considerarse en esta situación es que la interacción en escala multiplicativa para el RR derivada del estudio de sólo-casos no requiere en

ningún momento la necesidad de suponer enfermedad de baja frecuencia<sup>29</sup>. Piegorsch et al<sup>28</sup> demostraron que, bajo el supuesto de enfermedad rara, la OR<sub>i</sub> sería indicativa de interacción en escala multiplicativa para la OR y también para el RR (dada su similitud de OR y RR en enfermedades de muy baja frecuencia). En este sentido, Schmidt y Schaid<sup>30</sup> demostraron que los parámetros de interacción estimados en un estudio de casos y controles y en un estudio de sólo-casos son diferentes, aunque relacionados. Esto se debe a que la OR de un estudio de casos y controles podría estimar diferentes parámetros dependiendo de la estrategia seguida en la selección de controles<sup>31</sup>.

Albert et al<sup>32</sup> advirtieron que las conclusiones de un estudio de sólo-casos estarían comprometidas si el supuesto de independencia de factores en la población no se cumple. Por ello, algunos autores

han utilizado una muestra de controles para chequear la posible independencia entre factores. Sin embargo, Gatto et al<sup>33</sup> demostraron que esta estrategia puede llevar a conclusiones erróneas. Adicionalmente, proponen el ajuste por variables que pudieran afectar al supuesto de independencia de factores bajo estudio en la población<sup>34</sup>.

Se encuentran disponibles bajo petición, las demostraciones y desarrollos matemáticos referidos en este artículo. Para el cálculo de tamaños muestrales, debe considerarse que el número de sujetos de estudio necesarios para evaluar interacción es en general muy superior al necesario para evaluar asociación<sup>35</sup>. Los cálculos de tamaños de muestra y poder estadístico para evaluar interacción en los diseños de estudio comentados anteriormente puede llevarse a cabo mediante el programa QUANTO<sup>36,37</sup>.

#### REFERENCIAS

1. KHOURY MJ, BEATY TH, COHEN BH. *Fundamentals of Genetic Epidemiology*. New York: Oxford University Press, 1993.
2. ORDOVÁS JM, CORELLA D. Nutritional genomics. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 2004; 5: 71-118.
3. CLAYTON D, MCKEIGUE PM. Epidemiological methods for studying genes and environmental factors in complex diseases. *Lancet* 2001; 358: 1356-60.
4. ROTHMAN KJ, GREENLAND S. Concepts of interaction. En: *Modern Epidemiology*. Philadelphia: Lippincott-Raven 1998: 329-42.
5. WILLETT WC. Balancing life-style and genomics research for disease prevention. *Science* 2002; 296: 695-8.
6. OTTMAN R. Gene-environment interaction: definitions and study designs. *Prev Med* 1996; 25: 764-70.
7. THOMPSON WD. Effect modification and the limits of biological inference from epidemiologic data. *J Clin Epidemiol* 1991; 44: 221-32.
8. YANG Q, KHOURY MJ. Evolving methods in genetic epidemiology III: gene-environment interaction in epidemiologic research. *Epidemiol Rev* 1997; 19: 33-43.
9. ANDRIEU N, GOLDSTEIN AM. Epidemiologic and genetic approaches in the study of gene-environment interaction: an overview of available methods. *Epidemiol Rev* 1998; 20: 137-47.
10. WEINBERG CR, UMBACH DM. Choosing a retrospective design to assess joint genetic and environmental contributions to risk. *Am J Epidemiol* 2000; 152: 197-203.
11. LIU X, FALLIN D, KAO WHL. Genetic dissection methods: designs used for tests of gene-environment interaction. *Curr Op Gen Dev* 2004; 14: 241-5.
12. HUNTER DJ. Gene-environment interactions in human diseases. *Nat Rev Genet* 2005; 6: 287-98.
13. ROTHMAN KJ, GREENLAND S. Measures of disease frequency. En: *Modern Epidemiology*. Lippincott-Raven. Philadelphia 1998; 29-46.
14. GOLDSTEIN AM, FALK RT, KORCZAK JF, LUBIN JH. Detecting gene-environment interactions using a case-control design. *Genet Epidemiol* 1997; 14: 1085-9.
15. MARTÍNEZ-GONZÁLEZ MA, DE ÍRALA-ESTÉVEZ J, GUILLÉN-GRIMA F. ¿Qué es una odds ratio? *Med Clin* 1999; 112: 416-22.
16. ZHANG J, YU KF. What's the relative risk? A method of correcting the odds ratio in cohort studies of common outcomes. *JAMA* 1998; 280: 1690-1.

17. MORABIA A, TEN HAVE T, LANDIS JR. Interaction fallacy. *J Clin Epidemiol* 1997; 50: 809-12.
18. CAMPBELL UB, GATTO NM, SCHWARTZ S. Distributional interaction: interpretational problems when using incidence odds ratios to assess interactions. *Epidemiologic Perspectives and Innovations* 2005; 2: 1 (<http://www.epi-perspectives.com/content/2/1/1>) [consultado el 11 de mayo de 2006].
19. BOTTO LD, KHOURY MJ. Commentary: facing the challenge of gene-environment interaction: the two-by-four table and beyond. *Am J Epidemiol* 2001; 153: 1016-20.
20. KAHN HA, SEMPOS CT. Relative risk and *odds ratio*. In: *Statistical methods in epidemiology*. New York: Oxford University Press. 1989; 45-71.
21. KUPPER LL, HOGAN MD. Interaction in epidemiologic studies. *Am J Epidemiol* 1978; 108: 447-53.
22. MARTÍNEZ JA, CORBALÁN MS, SÁNCHEZ-VILLEGAS A, FORGA L, MARTI A, MARTÍNEZ-GONZÁLEZ MA. Obesity risk is associated with carbohydrate intake in women carrying the Gln27Glu beta2-adrenoceptor polymorphism. *J Nutr* 2003; 133: 2549-54.
23. KLEINBAUM DG. Logistic regression: a self-learning text. New York: Springer 1992.
24. DAYAL H. Additive excess risk model for epidemiologic interaction in retrospective studies. *J Chronic Dis* 1980; 33: 653-60.
25. SKRONDAL A. Interaction as departure from additivity in case-control studies: a cautionary note. *Am J Epidemiol* 2003; 158: 251-8.
26. REDDEN DT, ALLISON DB. Nonreplication in genetic association studies of obesity and diabetes research. *J Nutr* 2003; 133: 3323-6.
27. VANDENBROUCKE JP, KOSTER T, BRIET E, REITSMA PH, BERTINA RM, ROSENDAAL FR. Increase risk of venous thrombosis in oral-contraceptive users who are carriers of factor V Leiden mutation. *Lancet* 1994; 344: 1453-7.
28. PIEGORSCH WW, WEINBERG CR, TAYLOR JA. Non-hierarchical logistic models and case-only designs for assessing susceptibility in population-based case-control studies. *Stat Med* 1994; 13: 153-62.
29. YANG Q, KHOURY MJ, SUN F, FLANDERS WD. Case-only design to measure gene-gene interaction. *Epidemiology* 1999; 10: 167-70.
30. SCHMIDT S, SCHAID D. Potential misinterpretation of the case-only study to assess gene-environment interaction. *Am J Epidemiol* 1999; 150: 878-85.
31. PEARCE N. What does the odds ratio estimate in a case-control study? *Int J Epidemiol* 1993; 22: 1189-92.
32. ALBERT PS, RATNASINHE D, TANGREA J, WACHOLDER S. Limitations of the case-only design for identifying gene-environment interactions. *Am J Epidemiol* 2001; 154: 687-93.
33. GATTO NM, CAMPBELL UB, RUNDLE AG, AHSAN H. Further development of the case-only design for assessing gene-environment interaction: evaluation of and adjustment for bias. *Int J Epidemiol* 2004; 33: 1014-24.
34. BOTTO LD, KHOURY MJ. Facing the challenge of complex genotypes and gene-environment interaction: the basic epidemiologic units in case-control and case-only designs. En: *Human genome epidemiology: a scientific foundation for using genetic information to improve health and prevent disease*. New York: Oxford University Press 2004: 111-26.
35. SMITH PG, DAY NE. The design of case-control studies: the influence of confounding and interaction effects. *Int J Epidemiol* 1984; 13: 356-65.
36. GAUDERMAN WJ. Sample size requirements for association studies of gene-gene interaction. *Am J Epidemiol* 2002; 155: 478-84.
37. GAUDERMAN WJ. Candidate gene association analysis for a quantitative trait, using parent-offspring trios. *Genet Epidemiol* 2003; 25: 327-38.