

El papel del factor inducible por hipoxia 1 (HIF-1) en la fibrosis pulmonar idiopática

Arnoldo Aquino-Gálvez, Georgina González-Ávila**

Unidad de Investigación, Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias Ismael Cosío Villegas.*

Trabajo recibido: 07-IX-2010; aceptado: 26-I-2011

RESUMEN. En años recientes se ha descrito de manera minuciosa, la relevancia del papel de la proteína HIF-1 alfa en diversos procesos patológicos y biológicos como son la carcinogénesis y la embriogénesis. Nuestro grupo de trabajo está interesado en esta proteína y su relación con el desarrollo de la fibrosis pulmonar idiopática (FPI), debido a que se ha observado que juega un importante papel en la génesis de la fibrosis renal, en donde se ha reportado que regula la transición epitelio-mesénquima, evento que se ha asociado con el desarrollo de la FPI. Por otro lado, los análisis de expresión génica en la FPI indican que los genes regulados por la hipoxia se encuentran alterados, lo cual sugiere un papel primario de HIF-1 alfa en el desarrollo de la FPI, así como la posibilidad de que la inducción de la síntesis de esta proteína sea un evento temprano en su patogénesis. Debido a su función y a los estudios actuales de HIF-1 alfa en relación con su participación en la fibrosis renal, así como en distintos tipos de cáncer, se realiza esta revisión de HIF-1 alfa y su participación en la FPI.

Palabras clave: FPI, HIF-1 α , cáncer.

ABSTRACT. In recent years, several descriptions of the importance of the HIF-1 alpha (HIF-1 α) protein role in several biological and pathological events such as carcinogenesis and embryogenesis processes have emerged. Our group is interested in this protein and in its relationship with idiopathic pulmonary fibrosis (IPF) development, because HIF-1 α has been implicated in renal fibrosis genesis, where it has been reported that this protein regulates the epithelial-mesenchymal transition process, an event that is associated with IPF development. On the other hand, the IPF gene expression analysis, indicate that the genes regulated by hypoxia are altered, suggesting a primary role of HIF-1 α in IPF onset, as well as the possibility of the induction of HIF-1 α synthesis as an early event in its pathogenesis. The present review about HIF-1 α and its relationship with IPF has been done because of its role and participation in renal fibrosis, as well as in different types of cancer.

Key words: IPF, HIF-1 α , cancer.

INTRODUCCIÓN

La fibrosis pulmonar idiopática (FPI) es una enfermedad pulmonar progresiva, irreversible y letal.¹ La incidencia y prevalencia ha sido difícil de determinar debido a que los criterios diagnósticos no fueron uniformes hasta hace algunos años.² Sin embargo, se estima que la enfermedad afecta cuando menos a 5 millones de personas en todo el mundo. Una de las primeras evaluaciones, en 1972, sugirió que la FPI tenía una prevalencia de 3 a 5/100,000 habitantes, afectando en mayor grado a los hombres en una relación 2:1, con una edad promedio al momento del diagnóstico de 66 años.^{3,4} En 2006, Raghu *et al* reportaron para Estados Unidos una prevalencia de 14/100,000 habitantes, con una incidencia de 6.8/100,000,⁵ observando que la prevalencia de esta enfermedad aumenta significativamente con la edad, pasando de 0.8/100,000 en sujetos entre 18 y 34 años a 64.7/100,000 en aquéllos mayores de 75 años. La

mortalidad por FPI también se ha incrementado. En un estudio reciente que abarcó causas de muerte entre los años 1992-2003 en Estados Unidos, la mortalidad por FPI ajustada por edad se incrementó 28.4% en hombres y 41.3% en mujeres.⁶

La FPI se presenta de manera esporádica en un 97% de los casos, aunque se ha observado su incidencia en miembros de una misma familia afectando fundamentalmente a hermanos.²

Los mecanismos patogénicos que participan en el desarrollo de la FPI no se conocen con precisión. En los últimos años se ha sugerido que la enfermedad se origina a partir de múltiples focos microscópicos de daño y de activación epitelial. Las células epiteliales alveolares activadas son responsables del incremento de fibroblastos en el pulmón a través de por lo menos tres mecanismos: a) liberación de factores que inducen migración y proliferación de fibroblastos residentes; b) liberación de agentes quimiotácticos de fibroblastos

(células circulantes precursoras de fibroblastos); y c) a través de un proceso conocido como transición epitelio-mesénquima (TEM).⁷ Adicionalmente, se ha reportado la participación del factor de crecimiento transformante beta (TGF- β) en la diferenciación de fibroblastos a miofibroblastos. En este microambiente, los focos de fibroblastos/miofibroblastos secretan cantidades excesivas de componentes de la matriz extracelular, inducen apoptosis de las células epiteliales y ruptura de las membranas basales, lo que en conjunto conduce a la destrucción de la arquitectura del parénquima pulmonar.⁸

Se ha sugerido que existe cierto grado de susceptibilidad a desarrollar FPI, la cual está determinada por múltiples factores genéticos y ambientales, aunque hasta ahora, el gen o genes implicados permanecen sin ser definidos.⁹ Los casos familiares de fibrosis pulmonar proporcionan una de las pruebas más convincentes de la participación de los factores genéticos en el desarrollo de la enfermedad.¹ Dentro de los posibles marcadores genéticos implicados en esta patología se encuentra el polimorfismo del gen del factor inducible por hipoxia 1 alfa (HIF-1 α); éste es un factor de transcripción primordial en la regulación de la respuesta celular a la hipoxia en los tejidos.¹⁰

Por otro lado, la presión alveolar parcial de oxígeno es de alrededor de 100 mmHg a nivel del mar; sin embargo, existen algunas condiciones clínicas bajo las cuales el epitelio alveolar está expuesto a concentraciones bajas de oxígeno o hipoxia, rasgo común de muchas enfermedades respiratorias que resultan de la ventilación alveolar inadecuada, como es el caso de las enfermedades intersticiales del pulmón, síndrome respiratorio agudo, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, asma, así como también en la reparación de heridas, arteriosclerosis, insuficiencia cardiaca, isquemia tisular, fibrosis renal, anemia, tumores y embriogénesis.¹¹⁻¹⁴

Asimismo, en algunos pacientes donde hay declinamiento de la función pulmonar debido a la edad o por alguna otra causa, puede existir cierto grado de hipoxia.¹⁵ En estos casos, la hipoxia puede ser uno de los principales activadores requeridos para el desarrollo de la FPI o un componente importante en su desarrollo. Prueba de ello son los estudios que reportan que algunas líneas celulares expuestas a condiciones de hipoxia, experimentan el proceso de TEM, el cual como ya se mencionó es característico de la FPI.^{13,16}

Factor inducible por hipoxia 1 alfa (HIF-1 α)

La respuesta a la hipoxia, a nivel celular, se regula por el factor de transcripción HIF-1, que es esencial

en el mantenimiento de la homeostasis del oxígeno. Se ha descrito ampliamente que HIF-1 controla la expresión de cientos de genes dependiendo del tipo celular.

En un inicio se identificó como el factor de transcripción responsable de la sobreregulación en la expresión del ARN mensajero de la eritropoyetina (EPO) en condiciones de hipoxia siendo, además, un regulador maestro de una amplia variedad de funciones celulares. Se cree que este factor de transcripción activa entre 60 y 100 genes blanco, aunque algunos autores estiman que quizás aproximadamente del 1 al 5% del genoma es regulado por la hipoxia.¹⁷⁻¹⁹ Sus genes blanco incluyen al factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), óxido nítrico sintetasa 2 y varias enzimas glicolíticas, además de la EPO. De esta manera, HIF1 α aumenta la entrega o liberación de oxígeno y proporciona la adaptación metabólica en condiciones de disponibilidad reducida de oxígeno.²⁰ Además, HIF-1 α es fundamental en la angiogénesis embrionaria y para la formación de placenta.^{21,22}

HIF1 en su forma funcional es un heterodímero compuesto por dos proteínas o subunidades, HIF- α (HIF-1 α , HIF-2 α , o HIF-3 α) y HIF- β , también conocido como ARNT (translocador del receptor para arilo hidrocarburos). El HIF- α es una proteína de vida corta, mientras que HIF- β se expresa constitutivamente. Ambas subunidades pertenecen a la familia de los factores de transcripción con dominios bHLH/PAS (basic helix-loop-helix/Per-Arnt-Sim homology) que son determinantes para la unión al ADN. Además, contienen en el extremo N-terminal un dominio para la especificidad y dimerización de los genes blanco denominado dominio PAS (PER-ARNT-SIM) (figura 1).^{23,24}

La actividad de complejo HIF es principalmente mediada por la estabilidad de la proteína de la subunidad alfa. En condiciones de normoxia, la subunidad alfa es constitutivamente expresada, pero rápidamente degradada (figura 2). Ante el cambio a un ambiente bajo en oxígeno, la subunidad alfa se estabiliza y se trasloca al núcleo (figura 3).²⁵ A concentraciones normales de oxígeno, ambas subunidades de HIF son constitutivamente expresadas y las subunidades a ($\alpha 1$, $\alpha 2$ o $\alpha 3$) del complejo HIF son hidroxiladas en dos residuos de prolina altamente conservados (pro402 y pro564 en el caso de HIF-1 α humana).^{23,26}

En respuesta a las condiciones de hipoxia HIF-1 α se une a secuencias consenso del ADN 5'-(A/G) CGTG-3', que se encuentran presentes en las regiones promotoras de todos los genes que responden a HIF-1 α , y que se denominan de manera general elementos de respuesta a hipoxia.²⁷

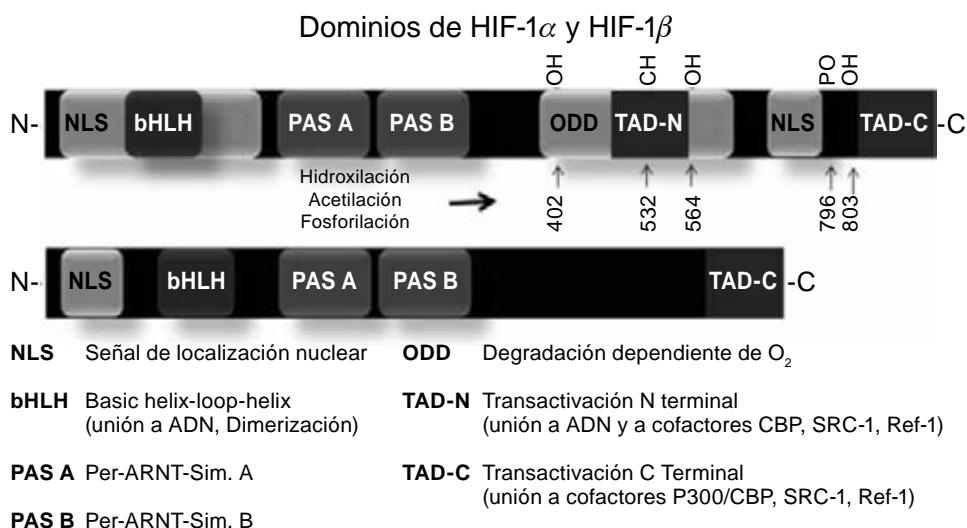


Figura 1. Estructura de HIF-1 α y HIF-1 β . Obsérvanse los dominios de las proteínas HIF-1 α y HIF-1 β , las diferencias son evidentes p. ej., HIF-1 α está compuesto por 826 residuos de aminoácidos (aa), mientras que HIF-1 β contiene sólo 789 aa; por otro lado, HIF-1 β no tiene dominio ODD ni TAD-N. Además, podemos observar que HIF-1 α contiene algunos sitios de hidroxilación, acetilación y fosforilación que HIF-1 β no tiene.

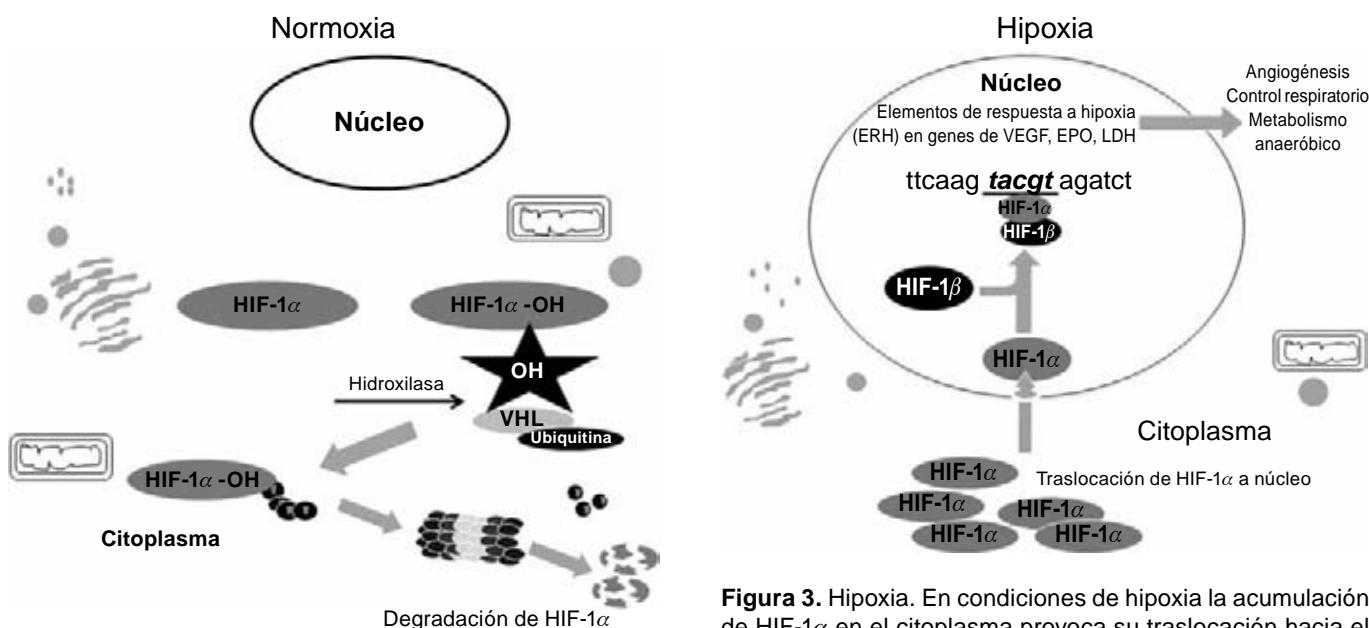


Figura 2. Normoxia. Cuando los niveles de oxígeno son adecuados para llevar a cabo los procesos celulares normales se dice que están en un estado de normoxia; en este estado, la proteína HIF-1 α se hidroxila y se une a una proteína denominada VHL, esta proteína es necesaria para unir la ubiquitina y así, el complejo ubiquitina-HIF1 α es reconocido por el proteosoma y degradado. Con este mecanismo se impide la acumulación citoplasmática de la proteína HIF-1 α y su traslocación al núcleo; por lo tanto, impide la activación de genes que contienen la secuencia de respuesta a hipoxia.

Estructura de HIF1 α

El gen de HIF-1 α está localizado en el cromosoma 14q21-24, compuesto por 15 exones en una región de 53 kb de ADN genómico. Este gen codifica para una proteína de

Figura 3. Hipoxia. En condiciones de hipoxia la acumulación de HIF-1 α en el citoplasma provoca su traslocación hacia el núcleo donde se une a HIF-1 β y a otros cofactores, este complejo reconoce las secuencias TACGT, que son elementos de respuesta a hipoxia presentes en las regiones promotoras de una gran cantidad de genes que regulan diversos procesos como p. ej., el metabolismo energético, angiogénesis, tono vascular, migración celular, metástasis, entre otros.

826 aminoácidos con peso molecular de 120-130 kDa. En la mitad del dominio N-terminal contiene dominios bHLH y PAS, los cuales son esenciales para la dimerización y la unión al ADN.²⁸⁻³⁰ La mitad del dominio C-terminal contiene dos dominios de transactivación (TADs), los cuales están localizados en los residuos de aminoácido 531 ± 575 de la región N-terminal TAD y 786 ± 826 en la región C-terminal de TAD.³¹ Dos señales de localización nucleares (NLSs) se encuentran

en las regiones N-terminal (aminoácidos 17 ± 74) y C-terminal (aminoácidos 718 ± 721) (figura 1). Aunque se piense que ambos NLSs han sido identificados como determinantes de la localización nuclear de HIF-1 α , los dominios de localización nuclear en la región C-terminal son más importantes en la traslocación nuclear inducida por hipoxia; HIF-1 α contiene un único dominio de degradación dependiente de oxígeno (ODD), que se localiza en los residuos de aminoácido 401 ± 603.^{32,33} El dominio completo ODD podría ser requerido para la degradación de HIF-1 α . Recientemente, los subdominios del dominio ODD han sido analizados en un intento por entender el mecanismo de regulación de la estabilidad de HIF-1 α dependiente del oxígeno. Los sitios N-terminal (380 ± 417) y C-terminal (556 ± 572) del dominio ODD son subdominios mínimos que se relacionan con pVHL, y la hidroxilación de dos residuos de prolina (pro402 y pro564). Estos subdominios determinan la unión de pVHL a HIF-1 α (12 ± 14). Sin embargo, en condiciones hipóxicas, la hidroxilación de prolina es inhibida y HIF-1 α es estabilizado.³⁴

Polimorfismos de HIF-1 α

Los polimorfismos genéticos son responsables de la variación interindividual y diversidad, y son considerados como los elementos genéticos principales implicados en el desarrollo de enfermedades comunes y complejas.³⁵

Los polimorfismos de un solo nucleótido (SNP por sus siglas en inglés) son una de las modificaciones genéticas más frecuentes.³⁶

Considerando la importancia de HIF-1 α en mediar la respuesta celular a la hipoxia, se esperaría que los polimorfismos que interrumpen su función pudieran alterar la respuesta a la hipoxia en los tejidos.

Se ha reportado que tanto el polimorfismo de este gen como la expresión de la proteína están relacionados con la susceptibilidad o desarrollo de algunas enfermedades.^{36,37}

Por ejemplo, se ha visto que el HIF-1 desempeña un papel importante en la progresión del cáncer y desarrollo de metástasis debido a que activa varios genes que están relacionados a la regulación de la angiogénesis, supervivencia celular, metabolismo de la energía, respuesta proliferativa y apoptótica.¹⁹ Asimismo, estudios recientes han reportado asociaciones entre los polimorfismos del gen HIF-1 α y varios tipos de cáncer, como cáncer de células no pequeñas en pulmón, cabeza y cuello, carcinoma de células renales, de próstata, colorrectal, cervical, endometrial y cáncer de mama.³⁸⁻⁴⁰

El gen de HIF-1 α es más polimórfico de lo que se pensaba. A la fecha, en las bases de datos públicas se

encuentran alrededor de 14 SNPs validados, presentes en regiones codificantes; sin embargo, Yamada et ál exploraron 38 kb que cubren la región completa de codificación de HIF-1 α , reportando un total de 35 SNPs en el gen, encontrando 32 en regiones no codificantes y 3 en regiones codificantes.³⁶

Por otro lado, Hong et ál, secuenciaron el gen y 1500 pb de la región promotora, con lo que describieron 4 SNPs uno a -2755 C > A en el promotor, þ 41224 T > C en intrón, þ 45319 C > T en exón, y þ 51610 C > T en la región 3' no traducida.⁴¹

Uno de los dominios que más interés ha despertado para su estudio en relación a los polimorfismos es el dominio de ODD debido a su interacción con las proteínas supresoras de tumores pVHL y p53; la primera es importante para su regulación, debido a que su acumulación en estados de hipoxia es el preámbulo para la activación de diversos genes que participan en una gran cantidad de vías celulares. El segundo, es un gen supresor de tumores que interactúa con el ODD de manera independiente al estado de hidroxilación de HIF; por lo tanto, el ODD es un blanco potencial para el estudio de polimorfismos funcionales. Se ha reportado en líneas celulares 2 SNP dentro del ODD y del dominio de unión a pVHL (exón 12) del gen HIF-1 α .⁴² Uno de ellos, el P582S causa un cambio de la prolina a serina en el codón 582, y el otro el A588T causa un cambio de alanina a treonina en el codón 588. Este cambio en P582 de HIF-1 α es menos sensible a la degradación dependiente de hidroxilación, con lo que aumenta el potencial de transactivación de HIF1 α .⁴³ Tal estabilización conduce a una cantidad abundante más alta de HIF-1 α ⁴⁴ y a la sobreregulación subsecuente de genes dependientes de HIF-1 α .

Aunque la funcionalidad de estos polimorfismos no esté completamente clara, tanto las variantes P582S como A588T, contra el tipo más común (wild type) tienen una actividad transcripcional considerablemente más alta.⁴⁰⁻⁴³ Este mismo polimorfismo se identificó en pacientes con cáncer de próstata, observando que mejora la actividad transcripcional de diversos genes blanco a consecuencia de una estabilidad incrementada en condiciones normoxicas, causando un incremento de la densidad de microvasos en el tumor.⁴⁵ Este fenómeno también está reportado en carcinoma de células renales, cáncer de mama, cáncer de próstata y cáncer de pulmón de células no pequeñas, sin embargo, el polimorfismo con el alelo 588T de HIF-1 α se ha asociado con un predominio más alto en la diabetes mellitus de tipo II, y con menos formación colateral de vasos entre pacientes con enfermedad arterial coronaria.^{36,40,45-48} El portador del alelo 582T está asociado con formas más agresivas de cáncer.

HIF Y FPI

Tzouvelekis *et ál.*, en un trabajo reciente analizaron los perfiles de expresión génica por microarreglos de un modelo murino de fibrosis pulmonar inducida por bleomicina y compararon sus resultados con los microarreglos de las bases de datos públicas.⁴⁹ Encontraron que tanto en el modelo murino como en humanos con FPI, la señalización por hipoxia se encontraba alterada. Con esta observación se enfocaron en el estudio del papel de HIF-1 α en la patogénesis de la enfermedad en un modelo animal y en pacientes con FPI; de acuerdo con sus observaciones se propone que la inducción de HIF-1 α es un evento temprano en la patogénesis de la enfermedad. Aunado a esto, Selman *et ál.*, observaron que uno de los genes que se encuentran sobreexpresados en la FPI es el factor de transcripción HIF-1 α (comunicación personal).

De acuerdo con lo anterior los HIF pudieran estar implicados en la patogénesis de la fibrosis pulmonar. Por otro lado, la hipoxia induce apoptosis en células epiteliales alveolares primarias de tipo II, probablemente por una sobreexpresión de HIF-1 α en el epitelio hiperplásico de pulmones fibróticos.^{49,50}

Adicionalmente, se ha descrito que la hipoxia mejora la proliferación de fibroblastos en el pulmón contribuyendo a la deposición de colágenas fibrilares y a la progresión de enfermedades pulmonares asociadas con la hipoxia.^{11,12,51}

La hipoxia que se presenta en condiciones patológicas como p. ej., en la enfermedad pulmonar intersticial, síndrome de distrés respiratorio agudo, enfermedad pulmonar obstructiva crónica y algunas otras enfermedades pulmonares, puede causar remodelación pulmonar y es un potente estímulo para la activación de la expresión de factores angiogénicos y citocinas.⁵² De esta manera, podríamos considerar que la activación de HIF-1 α estaría estimulando la TEM.

A parte de la promoción de la TEM, la hipoxia puede contribuir a la formación de fibrosis por un aumento transcripcional directo en la expresión de genes de colágena o productos de genes que están directamente implicados en la regulación del recambio de la matriz extracelular. La hipoxia induce colágena de tipo I, y disminuye la metaloproteinasa de matriz 2 en células epiteliales renales, y aumenta el inhibidor del activador de plasminógeno 1 (PAI-1), al inhibidor tisular de MMP-1 (TIMP-1), factor de crecimiento de tejido conjuntivo a través de la respuesta transcripcional mediada por HIF.^{53,54} La activación transcripcional de la expresión de genes sensibles al oxígeno también puede resultar de una cooperación sinérgica entre HIF y vías no HIF, como p.ej., la vía de señalización de TGFb1/SMAD3. Esto ha sido demostrado para la regulación de VEGF, endoglina y EPO.⁵⁵⁻⁵⁷

DISCUSIÓN

En las personas mayores la función pulmonar decrece, lo que podría conllevar a cierto grado de hipoxia, adicional a la hipoxia que se genera por otras causas, como el hábito de fumar, la altitud, contaminación o algunas otras comorbilidades, lo que pudiera generar la disminución de oxígeno a nivel tisular y celular. Estos factores pueden estar regulando al factor de transcripción HIF, el cual a su vez activa algunos de los disparadores de la enfermedad. Además, pudiera ser que HIF aparte de ser un disparador sea también un importante elemento durante el desarrollo de la FPI, generándose así un círculo vicioso en el que la hipoxia genera fibrosis y la fibrosis genera hipoxia. Lo anterior nos demuestra la naturaleza multifactorial de la enfermedad en donde el factor ambiental y los factores propios del sujeto, como la edad y la genética del mismo se encuentran involucrados en el desarrollo de la FPI (figura 4).

Una de las observaciones que indica una base genética para el desarrollo de fibrosis pulmonar es que no todos los humanos sometidos a distintos agentes agresores desarrollan el proceso patológico. En el caso de modelos experimentales, los ratones de la cepa C57BL desarrollan fibrosis pulmonar en respuesta a la instila-

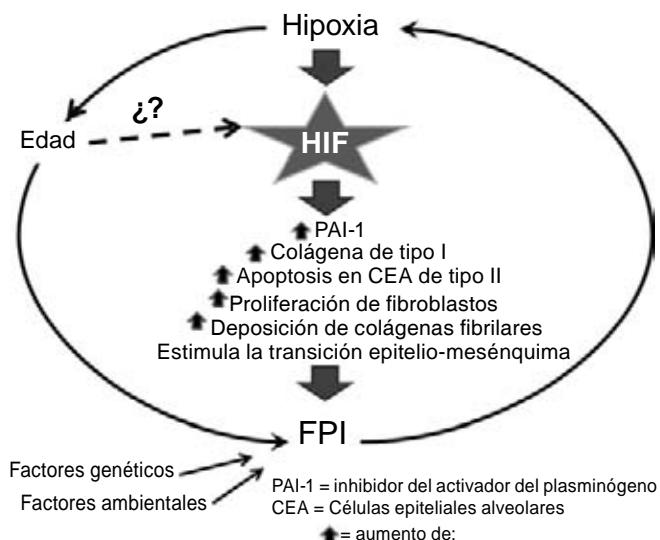


Figura 4. Probable papel de la hipoxia y HIF en la FPI. Obsérvese la participación de factores genéticos y ambientales en el desarrollo de la FPI, la edad es sugerida como un factor determinante debido a que esta enfermedad se presenta con mayor frecuencia en individuos con edad promedio de 66 años, sugerimos la existencia de lo que parece ser un círculo vicioso en el cual la hipoxia activa a HIF y ésta regula la expresión de diversos genes que tienen que ver con el desarrollo de la FPI; a su vez, la FPI genera hipoxia que conlleva a que se genere un tipo de retroalimentación entre hipoxia-FPI-hipoxia.

ción con bleomicina, mientras que los ratones BALBc son resistentes al daño, con esto se puede considerar que no todos los sujetos con edad promedio de 66 años y con cierto grado de hipoxia desarrollarán FPI, pero el riesgo podría ser mayor, lo que dependerá de múltiples factores.

Los polimorfismos de genes relacionados con el envejecimiento y que pudieran explicar parcialmente la relación edad-hipoxia-FPI, son los reportados en los genes TERC y TERT, los cuales codifican para unidades funcionales de un complejo enzimático denominado telomerasa. Alder et ál observaron que en los pacientes con FPI hay mayor frecuencia de algunos polimorfismos en TERC y TERT; además, establecieron una correlación entre éstos y un acortamiento en los telómeros de linfocitos de sangre periférica y de células epiteliales alveolares.⁵⁸

Se ha reportado que con el envejecimiento de manera común, los telómeros se acortan, por lo cual, sería interesante saber si existe una relación o no entre este evento y la hipoxia en la FPI. Recientemente algunos trabajos han sugerido que los niveles y la actividad de HIF1 disminuye con la edad.^{59,60} Posiblemente ésta sea una de las causas del por qué la función pulmonar disminuye con la edad y como consecuencia el desarrollo de enfermedades pulmonares propias del envejecimiento.

Por último, existe una gran cantidad de polimorfismos en el gen HIF-1 α , los cuales han sido asociados con algunas enfermedades y son determinantes en el desarrollo de las mismas, como es el caso del cáncer. Tomando en consideración estos reportes, planteamos la posibilidad de que en los pacientes con FPI, algunos polimorfismos en HIF-1 α o en genes asociados a éste como p.ej., el gen de la proteína VHL, podrían determinar el desarrollo de la FPI, el análisis de estos polimorfismos en pacientes con FPI nos permitiría saber si alguna variante genética de HIF-1 α o genes relacionados a HIF-1 α pudieran funcionar como marcador genético de susceptibilidad y así calcular el riesgo que tiene cada individuo a desarrollar esta enfermedad. Por otra parte, sería interesante saber si alguno de estos polimorfismos condiciona a que se aumente la expresión de HIF-1 α y si esto repercute en las características clínicas de la enfermedad, como lo puede ser el tiempo de sobrevida e incluso en algunos casos la respuesta al tratamiento.

CONCLUSIÓN

Al parecer la hipoxia es un posible factor etiológico determinante en el inicio y desarrollo de la enfermedad. Esta revisión nos propone una visión diferente del desarrollo de la FPI, debido a que a la fecha no se ha considerado la importancia de la hipoxia, y de los mecanismos invo-

lucrados en la homeostasis del oxígeno en el desarrollo de esta patología. De la misma manera, este trabajo nos introduce a una nueva forma de estudiar la patogénesis de la FPI e intentar resolver este problema desde una perspectiva diferente.

REFERENCIAS

1. Selman M, King TE, Pardo A, and; American Thoracic Society; European Respiratory Society; American College of Chest Physicians. *Idiopathic pulmonary Fibrosis: prevailing and evolving hypotheses about its pathogenesis and implications for therapy*. Ann Intern Med 2001;134:136-151.
2. Meltzer EB, Noble PW. *Idiopathic pulmonary fibrosis*. Orphanet J Rare Dis 2008;3:8.
3. DHEW publication [NIH]. *Respiratory Diseases Task Force: report on problems, research, approaches, and needs*. October, 1972:73-432.
4. Nadrous HF, Myers JL, Decker PA, Ryu JH. *Idiopathic pulmonary fibrosis in patients younger than 50 years*. Mayo Clin Proc 2005;80:37-40.
5. Raghu G, Weycker D, Edelsberg J, Bradford WZ, Oster G. *Incidence and prevalence of idiopathic pulmonary fibrosis*. Am J Respir Crit Care Med 2006; 174:810-816.
6. Olson AL, Swigris JJ, Lezotte DC, Norris JM, Wilson CG, Brown KK. *Mortality from pulmonary fibrosis increased in the United States from 1992 to 2003*. Am J Respir Crit Care Med 2007;176:277-284.
7. Andersson-Sjöland A, de Alba CG, Nihlberg K, et ál. *Fibrocytes are a potential source of lung fibroblasts in idiopathic pulmonary fibrosis*. Int J Biochem Cell Biol 2008;40:2129-2140.
8. Selman M, Pardo A. *Idiopathic pulmonary fibrosis: an epithelial/fibroblastic cross-talk disorder*. Respir Res 2002;3:3.
9. Pardo A, Selman M. *Molecular mechanisms of pulmonary fibrosis*. Front Biosci 2002;7:d1743-d1761.
10. Kolyada AY, Tighiouart H, Perianayam MC, Liangos O, Madias NE, Jaber BL. *A genetic variant of hypoxia-inducible factor-1alpha is associated with adverse outcomes in acute kidney injury*. Kidney Int 2009;75:1322-1329.
11. Olman MA, White KE, Ware LB, et ál. *Pulmonary edema fluid from patients with early lung injury stimulates fibroblast proliferation through IL-1 beta-induced IL-6 expression*. J Immunol 2004;172:2668-2677.
12. Björnheden T, Levin M, Evaldsson M, Wiklund O. *Evidence of hypoxic areas within the arterial wall in vivo*. Arterioscler Thromb Vasc Biol 1999;19:870-876.
13. Kimura K, Iwano M. *Molecular mechanisms of tissue fibrosis*. Nihon Rinsho Meneki Gakkai Kaishi 2009;32:160-167.
14. Jain M, Sznajder JI. *Effects of hypoxia on the alveolar epithelium*. Proc Am Thorac Soc 2005;2:202-205.
15. Ruivo S, Viana P, Martins C, Baeta C. *Effects of aging on lung function. A comparison of lung function in healthy adults and the elderly*. Rev Port Pneumol 2009;15:629-653.

16. Kalluri R, Neilson EG. *Epithelial-mesenchymal transition and its implications for fibrosis*. J Clin Invest 2003;112:1776-1784.
17. Görlach A. *Regulation of HIF-1 alpha at the transcriptional level*. Curr Pharm Des 2009;15:3844-3852.
18. Kolyada AY, Tighiouart H, Perianayagam MC, Liangos O, Medias NE, Jaber BL. *A genetic variant of hypoxia-inducible factor-1alpha is associated with adverse outcomes in acute kidney injury*. Kidney Int 2009;75:1322-1329.
19. Semenza GL. *Targeting HIF-1 for cancer therapy*. Nat Rev Cancer 2003;3:721-732.
20. Semenza GL. *HIF-1: mediator of physiological and pathophysiological responses to hypoxia*. J Appl Physiol 2000;88:1474-1480.
21. Maltepe E, Schmidt JV, Baunoch D, Bradfield CA, Simon MC. *Abnormal angiogenesis and responses to glucose and oxygen deprivation in mice lacking the protein ARNT*. Nature 1997;386:403-407.
22. Kozak KR, Abbott B, Hankinson O. *ARNT-deficient mice and placental differentiation*. Dev Biol 1997;191:297-305.
23. Percy MJ, Mooney SM, McMullin MF, Flores A, Lappin TR, Lee FS. *A common polymorphism in the oxygen-dependent degradation (ODD) domain of hypoxia inducible factor-1α (HIF-1α) does not impair Pro-564 hydroxylation*. Mol Cancer 2003;2:31.
24. Deshmane SL, Mukerjee R, Fan S, et ál. *Activation of the oxidative stress pathway by HIV-1 Vpr leads to induction of hypoxia-inducible factor 1alpha expression*. J Biol Chem 2009;284:11364-11373.
25. Clerici C, Planès C. *Gene regulation in the adaptive process to hypoxia in lung epithelial cells*. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol 2009;296:L267-L274.
26. Masson N, Willam C, Maxwell PH, Pugh CW, Ratcliffe PJ. *Independent function of two destruction domains in hypoxia-inducible factor-alpha chains activated by prolyl hydroxylation*. EMBO J 2001;20:5197-5206.
27. Semenza GL, Nejfelt MK, Chi SM, Antonarakis SE. *Hypoxia-inducible nuclear factors bind to an enhancer element located 3' to the human erythropoietin gene*. Proc Natl Acad Sci USA 1991;88:5680-5684.
28. Semenza GL, Rue EA, Iyer NV, Pang MG, Kearns WG. *Assignment of the hypoxia-inducible factor 1alpha gene to a region of conserved synteny on mouse chromosome 12 and human chromosome 14q*. Genomics 1996;34:437-439.
29. Iyer NV, Leung SW, Semenza GL. *The human hypoxia-inducible factor 1alpha gene: HIF1A structure and evolutionary conservation*. Genomics 1998;52:159-165.
30. Wang GL, Jiang BH, Rue EA, Semenza GL. *Hypoxia-inducible factor 1 is a basic-helix-loop-helix-PAS heterodimer regulated by cellular O2 tension*. Proc Natl Acad Sci USA 1995;92:5510-5514.
31. Jiang BH, Zheng JZ, Leung SW, Roe R, Semenza GL. *Transactivation and inhibitory domains of hypoxia-inducible factor 1alpha. Modulation of transcriptional activity by oxygen tension*. J Biol Chem 1997;272:19253-19260.
32. Kallio PJ, Okamoto K, O'Brien S, et ál. *Signal transduction in hypoxic cells: inducible nuclear translocation and recruitment of the CBP/p300 coactivator by the hypoxia-inducible factor-1alpha*. EMBO J 1998;17:6573-6586.
33. Huang LE, Gu J, Schau M, Bunn HF. *Regulation of hypoxia-inducible factor 1alpha is mediated by an O2-dependent degradation domain via the ubiquitin-proteasome pathway*. Proc Natl Acad Sci USA 1998;95:7987-7992.
34. Masson N, Willam C, Maxwell PH, Pugh CW, Ratcliffe PJ. *Independent function of two destruction domains in hypoxia-inducible factor-alpha chains activated by prolyl hydroxylation*. EMBO J 2001;20:5197-5206.
35. Rannala B. *Finding genes influencing susceptibility to complex diseases in the post-genome era*. Am J Pharmacogenomics 2001;1:203-221.
36. Yamada N, Horikawa Y, Oda N, et ál. *Genetic variation in the hypoxia-inducible factor-1alpha gene is associated with type 2 diabetes in Japanese*. J Clin Endocrinol Metab 2005;90:5841-5847.
37. Percy MJ, McMullin MF, Lappin TR. *Sequence analysis of the 3' hypoxia-responsive element of the human erythropoietin gene in patients with erythrocytosis*. Biochem Mol Med 1997;62:132-134.
38. Hebert C, Norris K, Parashar P, Ord RA, Nikitakis NG, Sauk JJ. *Hypoxia-inducible factor-1alpha polymorphisms and TSC1/2 mutations are complementary in head and neck cancers*. Mol Cancer 2006;5:3.
39. Konac E, Onen HI, Metindir J, Alp E, Biri AA, Ekmekci A. *An investigation of relationships between hypoxia-inducible factor-1alpha gene polymorphisms and ovarian, cervical and endometrial cancers*. Cancer Detect Prev 2007; 31:102-109.
40. Koukourakis MI, Papazoglou D, Giatromanolaki A, et ál. *C2028T polymorphism in exon 12 and dinucleotide repeat polymorphism in intron 13 of the HIF-1alpha gene define HIF-1alpha protein expression in non-small cell lung cancer*. Lung Cancer 2006;53:257-262.
41. Hong JM, Kim TH, Chae SC, et ál. *Association study of hypoxia inducible factor 1alpha (HIF1alpha) with osteonecrosis of femoral head in a Korean population*. Osteoarthritis Cartilage 2007;15:688-694.
42. Clifford SC, Astuti D, Hooper L, Maxwell PH, Ratcliffe PJ, Maher ER. *The pVHL-associated SCF ubiquitin ligase complex: molecular genetic analysis of elongin B and C, Rbx1 and HIF-1alpha in renal cell carcinoma*. Oncogene 2001;20:5067-5074.
43. Bos R, Zhong H, Hanrahan CF, et ál. *Levels of hypoxia-inducible factor-1 alpha during breast carcinogenesis*. J Natl Cancer Inst 2001;93:309-314.
44. Koukourakis MI, Giatromanolaki A, Skarlatos J, et ál. *Hypoxia inducible factor (HIF-1a and HIF-2a) expression in early esophageal cancer and response to photodynamic therapy and radiotherapy*. Cancer Res 2001;61:1830-1832.
45. Fu XS, Choi E, Bubley GJ, Balk SP. *Identification of hypoxia-inducible factor-1alpha (HIF-1alpha) polymorphism as a mutation in prostate cancer that prevents normoxia-induced degradation*. Prostate 2005;63:215-221.
46. Ollerenshaw M, Page T, Hammonds J, Demaine A. *Polymorphisms in the hypoxia inducible factor-1 alpha gene (HIF1A) are associated with the renal cell carcinoma phenotype*. Cancer Genet Cytogenet 2004;153:122-126.

47. Lee JY, Choi JY, Lee KM, et ál. *Rare variant of hypoxia-inducible factor-1alpha (HIF-1A) and breast cancer risk in Korean women.* Clin Chim Acta 2008;389: 167-170.
48. Resar JR, Roguin A, Voner J, et ál. *Hypoxia-inducible factor 1alpha polymorphism and coronary collaterals in patients with ischemic heart disease.* Chest 2005;128: 787-791.
49. Tzouvelekis A, Harokopos V, Paparountas T, et ál. *Comparative expression profiling in pulmonary fibrosis suggests a role of hypoxia-inducible factor-1alpha in disease pathogenesis.* Am J Respir Crit Care Med 2007;176: 1108-1119.
50. Krick S, Eul BG, Hänze J, et ál. *Role of hypoxia-inducible factor-1alpha in hypoxia-induced apoptosis of primary alveolar epithelial type II cells.* Am J Respir Cell Mol Biol 2005;32:395-403.
51. Shahar I, Fireman E, Topilsky M, et ál. *Effect of endothelin-1 on alpha-smooth muscle actin expression and on alveolar fibroblasts proliferation in interstitial lung diseases.* Int J Immunopharmacol 1999;21:759-775.
52. Madjdpour C, Jewell UR, Kneller S, et ál. *Decreased alveolar oxygen induces lung inflammation.* Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol 2003;284:L360-L367.
53. Orphanides C, Fine LG, Norman JT. *Hypoxia stimulates proximal tubular cell matrix production via a TGF-beta1-independent mechanism.* Kidney Int 1997; 52:637-647.
54. Kietzmann T, Roth U, Jungermann K. *Induction of the plasminogen activator inhibitor-1 gene expression by mild hypoxia via a hypoxia response element binding the hypoxia-inducible factor-1 in rat hepatocytes.* Blood 1999;94:4177-4185.
55. Sánchez-Elsner T, Botella LM, Velasco B, Corbí A, Attisano L, Bernabéu C. *Synergistic cooperation between hypoxia and transforming growth factor-beta pathways on human vascular endothelial growth factor gene expression.* J Biol Chem 2001;276:38527-38535.
56. Sánchez-Elsner T, Botella LM, Velasco B, Langa C, Bernabéu C. *Endoglin expression is regulated by transcriptional cooperation between the hypoxia and transforming growth factor-beta pathways.* J Biol Chem 2002;277:43799-43808.
57. Sánchez-Elsner T, Ramírez JR, Sanz-Rodríguez F, Varela E, Bernabéu C, Botella LM. *A cross-talk between hypoxia and TGF-beta orchestrates erythropoietin gene regulation through SP1 and Smads.* J Mol Biol 2004; 336:9-24.
58. Alder JK, Chen JJ, Lancaster L, et ál. *Short telomeres are a risk factor for idiopathic pulmonary fibrosis.* Proc Natl Acad Sci USA 2008;105:13051-13056.
59. Loh SA, Chang EI, Galvez MG, et ál. *SDF-1alpha expression during wound healing in the aged is HIF dependent.* Plast Reconstr Surg 2009;123(2 Suppl):65S-75S.
60. Hoenig MR, Bianchi C, Rosenzweig A, Sellke FW. *Decreased vascular repair and neovascularization with ageing: mechanisms and clinical relevance with an emphasis on hypoxia-inducible factor-1.* Curr Mol Med 2008;8:754-767.

✉ Correspondencia:

Dr. Arnoldo Aquino Gálvez,
Laboratorio de HLA, Laboratorio de Oncología
Biomédica. Instituto Nacional de Enfermedades
Respiratorias Ismael Cosío Villegas. Calzada de
Tlalpan 4502, colonia Sección XVI. México, D.F.,
14080. Teléfono: (55) 54871700, extensión 5152
Correo electrónico: araquiga@yahoo.com.mx

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.