

Avances recientes en el conocimiento fisiopatológico de la fibrosis pulmonar idiopática

ANITA VEGA MIRANDA ✉

VÍCTOR MANUEL RUIZ LÓPEZ

Departamento de Investigación en Fibrosis Pulmonar,
Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias Ismael Cosío
Villegas.

Trabajo recibido: 24-VI-2009; aceptado: 02-II-2010

Conflicto de intereses: ninguno

RESUMEN

La comprensión de los mecanismos moleculares relacionados con la fibrosis pulmonar idiopática (FPI) se ha acelerado considerablemente en la última década. La aplicación de diversas metodologías clásicas de bioquímica, biología molecular y genética ha sido clave para la comprensión de la fisiopatología de la FPI, una muestra de esto es el descubrimiento del papel de la telomerasa en la enfermedad y del reclutamiento de fibroblastos en el desarrollo de la misma. Por el contrario, las tecnologías de microarreglos y proteómica todavía tienen un poder de interpretación muy limitado. En el futuro, seremos testigos de avances considerables en la forma de interpretar los datos obtenidos por estas dos metodologías, permitiendo entender los mecanismos, los tratamientos y los eventuales procesos de esta enfermedad.

Palabras clave:

Fibrosis pulmonar idiopática, microarreglos, proteómica, telomerasa.

Key words:

Idiopathic pulmonary fibrosis, microarrays, proteomics, telomerase.

ABSTRACT

The understanding of molecular mechanisms involved in idiopathic pulmonary fibrosis (IPF) has undergone a great expansion during the last decade. The application of diverse classic methodologies of biochemistry, molecular biology and genetics has been crucial to understand IPF pathophysiology, and an example of this is the discovery of the roles of telomerase and fibroblasts recruitment in the development of the disease. In contrast, microarray and proteomic technologies have yet a very limited elucidation power. In the future, we could be witnesses of significant advances in the way data is analyzed through these technologies, in order to understand the mechanisms, treatments and eventual processes of this disease.

INTRODUCCIÓN

La fibrosis pulmonar idiopática (FPI) pertenece al grupo de enfermedades fibrosantes del pulmón, denominadas colectivamente enfermedades pulmonares intersticiales difusas. Se cree, que estímulos exógenos en sujetos genéticamente predispuestos inducen un daño en el epitelio alveolar y se continúa con un proceso de reparación anormal. La enfermedad se caracteriza por un exceso en la producción de colágena y la formación

de tejido cicatrizante que interfiere con la habilidad de los pulmones de transferir oxígeno al torrente sanguíneo, lo que produce finalmente insuficiencia respiratoria en el paciente. La enfermedad, comúnmente mortal, afecta a 5 millones de pacientes en el mundo y la supervivencia media es de tres a cinco años después del diagnóstico.¹

El proceso fibrótico involucra una complicada red de citocinas que activan y sirven de mediadores en las interacciones de múltiples tipos de cé-

lulas, lo que resulta en la inducción de la producción de colágena y su depósito incontrolado en el pulmón.²⁻⁷ Las citocinas implicadas en la respuesta inicial incluyen, entre otras, al factor de crecimiento transformante beta (TGF β), factor de necrosis tumoral (TNF), factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), factor de crecimiento básico de fibroblastos (bFGF) y la interleucina-1 (IL-1). Las quimiocinas CC, como la proteína-1 quimioatrayente de monocitos y la proteína-1 α inflamatoria de macrófagos (MIP-1 α) son importantes en el reclutamiento de células mononucleares y fibroblastos pulmonares, lo que está asociado con la respuesta inflamatoria y fibrótica a través del receptor de quimiocinas 2 (CCR2). Las células T-cooperadoras 2 (Th2), a través de sus citocinas IL-4, IL-5, IL-10 e IL-13 están asociadas con los desórdenes fibroproliferativos. TGF β es una de las moléculas claves en el desarrollo de la FPI. Entre otras funciones, esta molécula es un regulador clave de la remodelación de tejido a través de factores de transcripción de la familia Smad y de apoptosis a través del ligando de Fas.

En la producción de matriz extracelular (MEC) y el remodelado de la arquitectura pulmonar intervienen proteínas como las metaloproteinasas de matriz (MMPs) y los inhibidores tisulares de las metaloproteinasas (TIMPs).

El propósito del presente manuscrito es describir los avances más recientes en la comprensión de la FPI a nivel molecular y señalar algunas vertientes experimentales actuales.

ESTUDIOS GENÓMICOS Y PROTEÓMICOS SOBRE LA FPI

Recientemente, el desarrollo de nuevas técnicas innovadoras ha recibido la atención de buena parte de la comunidad científica mundial. El propósito principal de estas técnicas es descubrir el conjunto de genes y proteínas que se sobreexpresan, o se inhiben en un momento dado de una enfermedad. La comparación de los patrones de expresión génica y/o de proteína en individuos sanos con respecto a los que presentan una enfermedad determinada, debería de proporcionar la huella genética o proteómica de la patología. En los siguientes apartados se describen los resultados que se han obtenido utilizando estas técnicas y sus modificaciones en los últimos años.

Microarreglos

Los resultados previamente obtenidos utilizando microarreglos ya habían sido revisados por otros autores;⁸⁻¹⁰ por lo que en este apartado se comentan sólo los artículos más relevantes publicados desde agosto de 2007.

1. *Análisis comparativo de múltiples experimentos de microarreglos independientes.* En un esfuerzo por homologar los estudios disponibles empleando microarreglos, los genes expresados diferencialmente en el modelo de fibrosis pulmonar inducida por bleomicina en ratón fueron comparados con los seis juegos de datos de microarreglos específicos para FPI publicados hasta ese momento (agosto de 2007), tanto de ratón como de humano, provenientes de distintas plataformas de microarreglos y en donde se utilizaron diversos métodos estadísticos para su análisis.¹⁰ La comparación mostró a 296 genes comunes no redundantes expresados en dos estudios independientes, 35 genes en común con tres diferentes juegos de datos y seis genes sobreexpresados en cuatro plataformas distintas. La jerarquización de estos genes de acuerdo a su relación con genes asociados previamente con la FPI, arrojó una lista estadísticamente significativa de 33 genes, un tercio de los cuales fueron identificados como blancos de TNF o de TGF β 1, correspondientes a factores proinflamatorios o profibróticos, respectivamente.
2. *Hipoxia. Papel del factor inducido por hipoxia-1 (HIF-1 α) y del factor de inhibición del crecimiento-4 (ING4).* A partir de los datos experimentales obtenidos y mediante un análisis de ontología génica realizado para identificar funciones, procesos y vías desreguladas, se identificó al transporte de oxígeno como el proceso más alterado en la fibrosis pulmonar.¹⁰ El análisis de la expresión de HIF-1 α , mostró un incremento del mRNA de este factor y de seis de sus blancos, así como la presencia de la proteína en la fase inicial de la enfermedad. El factor HIF-1 α , importante para estimular genes del metabolismo anaeróbico, vascularización y producción de citocinas, entre otros, podría representar un estímulo fibrótico que

ayudaría a perpetuar la enfermedad. En un trabajo posterior, al investigar el papel de ING-4 en la patogénesis de la fibrosis pulmonar determinando su expresión en un modelo de bleomicina y en dos tipos de fibrosis humana usando la técnica de microarreglos, PCR en tiempo real (qRT-PCR) e inmunohistoquímica, se determinó que el inhibidor de HIF1- α e ING-4, presentan una disminución en su expresión, tanto de mRNA como de proteína. No obstante, aunque aún no es muy claro el papel de ING-4, los niveles de expresión están correlacionados negativamente con los parámetros de la función pulmonar en pacientes con FPI, apoyando la premisa de que en un futuro podría ser un biomarcador de la enfermedad.¹¹

3. *Uso de múltiples modelos de enfermedad pulmonar.* En muchos casos, los estudios realizados a través de microarreglos generan largas listas de cambios en la expresión génica, dificultando la determinación de las características patológicas que son claves. Empleando una amplia variedad de modelos de enfermedad pulmonar fue posible identificar, por un lado, cambios comunes a muchas formas de enfermedades pulmonares; y por otro, transcritos cuya expresión cambia sólo en modelos específicos.¹² De esta forma, se obtuvieron pequeños grupos de firmas en los perfiles de expresión génica que están asociados con la fibrosis pulmonar inducida por bleomicina en un modelo de ratón. De los 32 transcritos con expresión incrementada en los ratones con fibrosis pulmonar inducida por bleomicina, 7 codificaron para proteínas de MEC; 3 implicadas en la formación y remodelado de la MEC (Loxl2, Mmp2 y estratifina); un miembro de la familia del TGF- β ; 2 proteínas que se unen a TGF- β ; 2 transcritos de la vía Wnt, la cual regula el crecimiento celular, diferenciación, polaridad y adhesión y que también ha sido implicada en la fibrosis pulmonar. El papel que juegan otros transcritos como Klhdc8a, Nnat y Psrc1 aún no ha sido explorado, como tampoco lo han sido los 21 transcritos cuya expresión se vio disminuida.
4. *Estrés oxidativo. Selenoproteína P y estados redox.* El daño por estrés oxidativo que se

presenta en los pacientes con FPI ha sido analizado en algunos casos, observándose que existe una sobreproducción de ciertos marcadores de este tipo de estrés, como peróxido de hidrógeno, 8-isoprostano y óxido nítrico. La administración de antioxidantes parece tener un efecto benéfico en las personas afectadas, por lo que es claro que el estado redox de la célula no está bien regulado y que éste juega un papel en la patogénesis de la FPI.¹³⁻¹⁵ En un estudio que incluyó sólo dos pacientes, se observó una sobreexpresión de 10 veces más con respecto al control de la selenoproteína P, una glicoproteína rica en selenocisteína que regula el estado redox de las células lipídicas y mantiene la viabilidad celular.¹⁶ Queda por determinar si este hecho es realmente representativo de la enfermedad, y si forma parte de un mecanismo de defensa del organismo o es parte de la patología propia de la FPI.

Análisis de transcriptomas

Aunque la supervivencia de los pacientes con FPI es de tres a cinco años, algunos pacientes pueden llegar a vivir hasta una década después de haberse realizado el diagnóstico. Con objeto de ver si existen diferencias a nivel molecular en estos dos tipos de pacientes, se utilizó la técnica de análisis serial de la expresión génica (SAGE), la cual permite la captura e identificación de los mRNAs sin necesidad de contar con un templado de DNA, como para el caso de los microarreglos; se obtuvo el perfil del transcriptoma de pacientes en estados progresivos lentos y acelerados de FPI.¹⁷ Un análisis de vías y redes de señalización mostró que varias de estas redes interactúan y se superponen entre sí, indicando que la FPI es el resultado de múltiples eventos biológicos; se obtuvieron dos posibles biomarcadores del progreso de la enfermedad: CCL2 (ligando 2 de quimiocina del motivo CC) y Plunc (proteína asociada a carcinoma de paladar, pulmón y epitelio nasal). CCL2 juega un papel en la migración de las células del músculo liso y en la proliferación celular, mientras que Plunc juega un papel en la respuesta de inmunidad innata y sólo se expresa en la parte superior del tracto respiratorio.

Proteómica

Vía Th2. Carbonilación. En un estudio comparativo de las proteínas presentes en FPI, esclerosis sistémica y sarcoidosis, se encontró un incremento de la proporción de las citocinas Th2 (tipificadas por la interleucina IL4) con respecto a las Th1 (tipificadas por el IFN gamma), así como de varias proteínas de bajo peso molecular.¹⁸ En otro estudio del mismo grupo se observó el proceso de carbonilación de varias proteínas en pacientes con FPI.¹⁹ La carbonilación es considerada como un biomarcador de estrés oxidativo. No se ha determinado si este tipo de estrés es causa o consecuencia de la FPI.

Biomarcadores para FPI. En un estudio que incluyó 74 pacientes y 54 controles se analizó la concentración de 49 proteínas de plasma distintas, incluyendo citocinas, quimiocinas, factores de crecimiento y angiogénesis, MMPs y marcadores de apoptosis.²⁰ Se identificó una firma de cinco proteínas, aparentemente característica de la FPI: un receptor del factor de necrosis tumoral (TNFRSF1A), una proteína de unión al factor de crecimiento de insulina (IGFBP-1) y tres metaloproteasas de matriz (MMP8, MMP1 y MMP7). Las diferencias estadísticas más significativas se encontraron en estas dos últimas proteínas, a las que se propone utilizar como biomarcadores de fibrosis pulmonar de sangre periférica. Un estudio independiente parece mostrar, sin embargo, que MMP1 y MMP7 no distinguen a la FPI de otras enfermedades pulmonares intersticiales, como la neumonía intersticial inespecífica.²¹

Problemas para el desarrollo de los experimentos de genómica y proteómica

En muchas ocasiones los artículos publicados que emplearon microarreglos o proteómica se caracterizan por ser poco concluyentes en sus interpretaciones, o con un aporte muy limitado de nuevos conocimientos en comparación a la cantidad de información analizada. Tal vez, el principal problema para poder obtener resultados confiables reside en el diseño correcto de los experimentos. Es relativamente común emprender estudios de este tipo para después darse cuenta de que el número de pacientes es insuficiente, que el

manejo y almacenamiento de las muestras no fue el adecuado, y que los diferentes estadios, antecedentes médicos, incluso el género de los pacientes no fue estudiado adecuadamente con anterioridad, dando como resultado perfiles confusos y poco confiables. En particular, es sabido que el modelo de bleomicina, comúnmente aplicado para estudios en modelo de ratón, no se asemeja lo suficiente a la FPI; así, el grado de extrapolación que se puede lograr es limitado.²² Por lo general, los modelos no se estudian utilizando múltiples medidas temporales, por lo que no se detectan cambios transitorios en la expresión génica.

Pese a todos sus efectos indeseables, es indudable que estas tecnologías tienen un enorme potencial y futuro, una vez que se cumplan todos los requerimientos necesarios para optimizar los resultados de estas técnicas innovadoras.^{23,24} Además, bajo ciertas circunstancias se debe buscar hacer coincidir algunos patrones de expresión génica analizados por microarreglos y su correlación con los datos de proteómica, con objeto de validar los dos tipos de estudio.

ESTUDIOS "TRADICIONALES" DE LOS ÚLTIMOS AÑOS

Telomerasa, telómeros cortos y FPI

Los trabajos que involucran a la telomerasa y que se describen a continuación ayudarán a explicar, por un lado, el hecho de que la FPI es una enfermedad que afecta en la edad adulta;^{25,26} y por otro lado, la existencia de algunos de los factores genéticos involucrados, ya que aproximadamente uno de cada 50 pacientes con FPI tiene un familiar relacionado en primer grado afectado. En estos pacientes, la enfermedad tiende a presentarse a edad más temprana (55 vs. 67 años).²⁷

La telomerasa es una enzima que añade repeticiones de nucleótidos (telómeros) en los extremos de los cromosomas. Esta enzima puede recuperar, en parte, el acortamiento que ocurre durante la replicación del DNA. Los telómeros se acortan en cada división celular y, en última instancia, activan una respuesta de daño a DNA que conduce a apoptosis o al arresto celular. La longitud de los telómeros limita entonces

la capacidad replicativa de los tejidos que es fundamental en la reparación tisular y ha sido implicada en enfermedades relacionadas con la edad. Utilizando 46 familias con dos o más casos de FPI para un estudio y 73 individuos para otro estudio similar independiente, se determinó la existencia en las personas afectadas de múltiples mutaciones en el gen que codifica el componente catalítico de la telomerasa y de una mutación en el componente esencial de RNA de la polimerasa mediante estudios de polimorfismo de nucleótido sencillo (SNP).^{28,29} Dos estudios adicionales han puesto de manifiesto la relación entre telómeros cortos y las neumonías intersticiales idiopáticas.^{29,30} En uno de estos estudios se incluyeron 84 pacientes con FPI, 16 con otros tipos de neumonías idiopáticas intersticiales, 45 con mutaciones conocidas en componentes de la telomerasa y más de 400 individuos control del mismo rango de edad que los pacientes. Este hecho resalta la importancia de contar con una muestra lo suficientemente amplia de individuos para obtener conclusiones relevantes.

Reclutamiento de fibroblastos

El ácido lipofosfatídico (LPA), es un fosfolípido que juega un papel relevante en la atracción de fibroblastos a la región afectada a través de uno de sus receptores proteicos G, LPA1.³¹ La comprobación del reclutamiento de fibroblastos "nuevos" al sitio de la enfermedad por medio de análisis bioquímicos tradicionales fue algo inesperado, pues la creencia previa a este estudio era que los efectos de la fibrosis pulmonar eran debidos únicamente a la actividad de fibroblastos residentes. Por lo tanto, una de las posibles vías terapéuticas a tener en cuenta sería la inhibición del reclutamiento de estos fibroblastos.

Transición epitelio-mesenquimal

Uno de los mecanismos del desarrollo de la FPI está representado por la transición epitelio-mesenquimal (EMT). El TGF- β es un mediador de este cambio fenotípico en las células alveolares epiteliales (AEC). Al estimular fibroblastos con esta citocina profibrogénica, los factores de transcripción Smad activan la expresión de genes de

colágena y la célula secreta un exceso de proteínas de matriz. TGF- β también induce la secreción del factor de crecimiento de tejido conectivo, el cual activa una cadena que incrementa aún más la producción de colágena.³²

Entre otros factores, la producción de TGF- β se desencadena por la activación del receptor de endotelina de tipo A (ET-A) debida a la producción de endotelina (ET)-1 en las AEC. La cinasa JNK1 se requiere, también, para la EMT mediada por TGF- β 1. Además, la citocina IL-13, a través de uno de sus receptores (IL-13R α 2), induce la producción de TGF- β .³²

Una de las proteínas que podría controlar los eventos de señalización desencadenados por el TGF- β es la caveolina-1, proteína presente en las caveolas, pequeñas invaginaciones de la membrana plasmática que se encuentran en células endoteliales, fibroblastos, neumocitos tipo I y adipocitos. La pérdida de la caveolina-1 se traduce en la desaparición de las caveolas y en severos defectos morfológicos en los alvéolos pulmonares.³³ Los pacientes con FPI muestran una expresión reducida de la caveolina-1. La sobreexpresión de esta proteína atenúa el desarrollo de la fibrosis pulmonar inducida por bleomicina, y su presencia suprime la producción de MEC inducida por TGF- β a través de la regulación de la vía de la cinasa JNK,³⁴ abriendo una posibilidad a la terapia génica para la reincorporación de esta proteína a través de un vector como los adenovirus, lo cual ya se ha probado en el modelo de bleomicina.³⁵

Nuevos modelos experimentales de estudio

Se ha observado que ratones transgénicos que expresan ectópicamente la proteína Fra-2 desarrollan fibrosis, principalmente en tejidos pulmonares.³⁶ Fra-2 forma parte del factor de transcripción AP-1 involucrado en el control de una variedad de respuestas a estrés como proliferación celular, apoptosis, inflamación, cicatrización y cáncer. Una de las proteínas sobreexpresadas en los transgénicos para Fra-2 es la osteopontina, regulada directamente por AP-1 y que ha sido implicada en la FPI como un factor que ayuda a desencadenar alteraciones vasculares, atraer células inflamatorias y fibrosis.³⁷ Estos animales po-

drían servir como un modelo de estudio para las enfermedades proliferativas como la FPI.

DESARROLLO DE FÁRMACOS CONTRA LA FPI

Aunque no se ha definido hasta el momento un tratamiento apropiado para los pacientes con FPI, los estudios realizados sugieren que la supervivencia media después del diagnóstico con o sin tratamiento es de dos a tres años. Y sin importar el agente usado, se requiere por lo menos un año antes de que su eficacia pueda ser determinada. Durante muchos años, la FPI fue tratada con altas dosis de corticoesteroides y/o drogas inmunosupresoras. En los últimos años se han usado aparentes drogas "antifibróticas" sin un resultado positivo. La combinación de prednisona, azatioprina y N-acetilcisteína (NAC) se han usado como una opción para retrasar el desarrollo de la enfermedad.

Debido a la pobre sensibilidad de FPI a los corticoesteroides, se han probado los agentes inmunomoduladores como azatioprina o ciclofosfamida solos o en combinación con corticoesteroides.³⁸⁻⁴¹ La azatioprina es un análogo de la purina que actúa sustituyendo a las purinas en la síntesis de DNA e inhibiendo la desaminación de la adenina, afectando a funciones de los linfocitos T, la supresión de la actividad de las células citotóxicas, la producción de anticuerpos y la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos. Estudios anteriores sugieren que azatioprina y prednisona a bajas dosis pueden ser útiles en el tratamiento de pacientes con FPI. NAC es un precursor molecular natural del antioxidante glutatión; pese a los estudios realizados a doble ciego y seleccionados al azar, no se ha determinado su eficacia.⁴² La ciclofosfamida fue utilizada como segunda opción en los pacientes que no toleraban o no respondían al tratamiento con corticoesteroides; sin embargo, no ha mostrado ser efectivo en la FPI y, por el contrario, tiene efectos secundarios nocivos.³⁸

Otro grupo de inmunosupresores o aparentes agentes antifibróticos han sido reportados en casos individuales o en grupos pequeños de pacientes con FPI sin éxito aparente, como la colchicina, penicilamina, interferón β -1, por nombrar

algunos, que inhiben la síntesis de colágena de formas diferentes.⁴³⁻⁴⁵

Entre los avances terapéuticos más recientes se encuentra el interferón-gamma, pirfenidona, antagonista del receptor ET-1 y etanercept. La pirfenidona, que a finales de 2008 fue aprobado para su lanzamiento al mercado para el tratamiento de la FPI,⁴⁶ es un nuevo agente antifibrótico y antiinflamatorio que inhibe la síntesis de colágena, disminuye la producción de citocinas profibróticas y bloquea la proliferación de fibroblastos impidiendo, así, la progresión de fibrosis en modelos animales con un mínimo de efectos.^{47,48} ET-1 contribuye al fenotipo fibrótico del fibroblasto y es un mediador de la respuesta profibrótica del TGF- β .⁴⁹ En un modelo de rata se encontró que ET-1 está implicado en la patogénesis de la fibrosis de pulmón y que la obstrucción de sus receptores reduce la fibrosis.⁵⁰ Etanercept es un agente biológico dirigido contra TNF- α que abre nuevos y emotivas vías para el tratamiento de una variedad de enfermedades. Niveles elevados de esta citocina se han detectado tanto en modelos experimentales de pulmón como en pacientes con FPI.⁵¹ Con interferón-gamma no se han visto efectos alentadores, ya que en dos estudios independientes controlados con interferón gamma-1b, no se observó diferencia entre el punto final primario (no se mejoró la supervivencia) con la mayoría de los puntos finales secundarios. La mortalidad total fue de 14.5% con interferón y de 12.7% en el grupo placebo.⁵²⁻⁵⁴

La producción de fármacos y el desarrollo de otros más dirigidos a inhibir la vía de la citocina Th2, es una evidencia de que la comprensión de los mecanismos moleculares de esta enfermedad está logrando avances realmente importantes.

CONCLUSIONES

El conjunto de diversas metodologías ha permitido el esclarecimiento del papel que juegan diversos factores en el desarrollo de la FPI, algo que hasta hace unos pocos años era terreno inexplorado, en gran medida por el peso excesivo que se otorgaba a los procesos inflamatorios para explicar molecularmente esta enfermedad hasta antes de 2001.⁵⁵ Es interesante notar que, tal vez, los hallazgos más importantes se han dado hasta el mo-

mento no con técnicas innovadoras como los microarreglos o la proteómica, sino utilizando metodologías tradicionales. Es posible que el futuro cercano sea testigo del desarrollo de más y mejores terapias que ayuden no sólo a detener, sino a revertir el proceso fibrótico, en donde las tecnologías de punta jugarán un papel muy relevante.

REFERENCIAS

1. American Thoracic Society; European Respiratory Society. *American Thoracic Society/European Respiratory Society International Multidisciplinary Consensus Classification of the Idiopathic Interstitial Pneumonias. This joint statement of the American Thoracic Society (ATS), and the European Respiratory Society (ERS) was adopted by the ATS board of directors, June 2001 and by the ERS Executive Committee, June 2001.* Am J Respir Crit Care Med 2002;165:277-304.
2. Wynn TA. *Fibrotic disease and the T(H)1/T(H)2 paradigm.* Nat Rev Immunol 2004;4:583-594.
3. Thannickal VJ, Toews GB, White ES, Lynch JP 3rd, Martinez FJ. *Mechanisms of pulmonary fibrosis.* Annu Rev Med 2004;55:395-417.
4. Leask A, Abraham DJ. *TGF-beta signaling and the fibrotic response.* FASEB J 2004;18:816-827.
5. Kinnula VL, Fattman CL, Tan RJ, Oury TD. *Oxidative stress in pulmonary fibrosis: a possible role for redox modulatory therapy.* Am J Respir Crit Care Med 2005;172:417-422.
6. Gharaee-Kermani M, Phan SH. *Molecular mechanisms of and possible treatment strategies for idiopathic pulmonary fibrosis.* Curr Pharm Des 2005;11:3943-3971.
7. Wynn TA. *Cellular and molecular mechanisms of fibrosis.* J Pathol 2008;214:199-210.
8. Kaminski N. *Microarray analysis of idiopathic pulmonary fibrosis.* Am J Respir Cell Mol Biol 2003;29:S32-S36.
9. Kaminski N, Rosas IO. *Gene expression profiling as a window into idiopathic pulmonary fibrosis pathogenesis: can we identify the right target genes?* Proc Am Thorac Soc 2006;3:339-344.
10. Tzouvelekis A, Harokopos V, Paparountas T, et al. *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.
11. Tzouvelekis A, Aidinis V, Harokopos V, et al. *Down-regulation of the inhibitor of growth family member 4 (ING4) in different forms of pulmonary fibrosis.* Respir Res 2009;10:14.
12. Lewis CC, Yang JY, Huang X, et al. *Disease-specific gene expression profiling in multiple models of lung disease.* Am J Respir Crit Care Med 2008;177:376-387.
13. Behr J, Maier K, Degenkolb B, Krombach F, Vogelmeier C. *Antioxidative and clinical effects of high-dose N-acetylcysteine in fibrosing alveolitis. Adjunctive therapy to maintenance immunosuppression.* Am J Respir Crit Care Med 1997;156:1897-1901.
14. Montuschi P, Ciabattini G, Paredi P, et al. *8-Isoprostane as a biomarker of oxidative stress in interstitial lung diseases.* Am J Respir Crit Care Med 1998;158(5 Pt 1):1524-1527.
15. Psathakis K, Mermigkis D, Papatheodorou G, et al. *Exhaled markers of oxidative stress in idiopathic pulmonary fibrosis.* Eur J Clin Invest 2006;36: 362-367.
16. Kabuyama Y, Oshima K, Kitamura T, et al. *Involvement of selenoprotein P in the regulation of redox balance and myofibroblast viability in idiopathic pulmonary fibrosis.* Genes Cells 2007;12:1235-1244.
17. Boon K, Bailey NW, Yang J, et al. *Molecular phenotypes distinguish patients with relatively stable from progressive idiopathic pulmonary fibrosis (IPF).* PLoS ONE 2009;4:e5134.
18. Rottoli P, Magi B, Perari MG, et al. *Cytokine profile and proteome analysis in bronchoalveolar lavage of patients with sarcoidosis, pulmonary fibrosis associated with systemic sclerosis and idiopathic pulmonary fibrosis.* Proteomics 2005;5:1423-1430.
19. Rottoli P, Magi B, Cianti R, et al. *Carbonylated proteins in bronchoalveolar lavage of patients with sarcoidosis, pulmonary fibrosis associated with systemic sclerosis and idiopathic pulmonary fibrosis.* Proteomics 2005;5: 2612-2618.
20. Rosas IO, Richards TJ, Konishi K, et al. *MMP1 and MMP7 as potential peripheral blood biomarkers in idiopathic pulmonary fibrosis.* PLoS Med 2008;5:e93.
21. Vuorinen K, Myllarniemi M, Lammi L, et al. *Elevated matrilysin levels in bronchoalveolar lavage fluid do not distinguish idiopathic pulmonary fibrosis from other interstitial lung diseases.* APMIS 2007;115:969-975.
22. Borzone G, Moreno R, Urrea R, Meneses M, Oyarzún M, Lisboa C. *Bleomycin-induced chronic lung damage does not resemble human idiopathic pulmonary fibrosis.* Am J Respir Crit Care Med 2001;163:1648-1653.
23. Allison DB, Cui X, Page GP, Sabripour M. *Microarray data analysis: from disarray to consolidation and consensus.* Nat Rev Genet 2006;7:55-65.
24. Ioannidis JP, Allison DB, Ball CA, et al. *Repeatability of published microarray gene expression analyses.* Nat Genet 2009;41:149-155.
25. Gross TJ, Hunninghake GW. *Idiopathic pulmonary fibrosis.* N Engl J Med 2001;345:517-525.
26. 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.
27. Marshall RP, Puddicombe A, Cookson WO, Laurent CJ. *Adult familial cryptogenic fibrosing alveolitis in the United Kingdom.* Thorax 2000;55:143-146.
28. Tsakiri KD, Cronkhite JT, Kuan PJ, et al. *Adult-onset pulmonary fibrosis caused by mutations in telomerase.* Proc Natl Acad Sci U S A 2007;104:7552-7557.
29. Armanios MY, Chen JJ, Cogan JD, et al. *Telomerase mutations in families with idiopathic pulmonary fibrosis.* N Engl J Med 2007;356:1317-1326.
30. Alder JK, Chen JJ, Lancaster L, et al. *Short telomeres are a risk factor for idiopathic pulmonary fibrosis.* Proc Natl Acad Sci U S A 2008;105:13051-13056.

31. Tager AM, LaCamera P, Shea BS, et ál. *The lysophosphatidic acid receptor LPA1 links pulmonary fibrosis to lung injury by mediating fibroblast recruitment and vascular leak*. Nat Med 2008;14:45-54.
32. Fichtner-Feigl S, Strober W, Kawakami K, Puri RK, Kitani A. *IL-13 signaling through the IL-13alpha2 receptor is involved in induction of TGF-beta1 production and fibrosis*. Nat Med 2006;12:99-106.
33. Drab M, Verkade P, Elger M, et ál. *Loss of caveolae, vascular dysfunction, and pulmonary defects in caveolin-1 gene-disrupted mice*. Science 2001;293:2449-2452.
34. Wang XM, Zhang Y, Kim HP, et ál. *Caveolin-1: a critical regulator of lung fibrosis in idiopathic pulmonary fibrosis*. J Exp Med 2006;203:2895-2906.
35. Tourkina E, Richard M, Gööz P, et ál. *Antifibrotic properties of caveolin-1 scaffolding domain in vitro and in vivo*. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol 2008;294:L843-L861.
36. Eferl R, Hasselblatt P, Rath M, et ál. *Development of pulmonary fibrosis through a pathway involving the transcription factor Fra-2/AP-1*. Proc Natl Acad Sci U S A 2008;105:10525-10530.
37. Pardo A, Gibson K, Cisneros J, et ál. *Up-regulation and profibrotic role of osteopontin in human idiopathic pulmonary fibrosis*. PLoS Med 2005;2:e251.
38. Collard HR, Ryu JH, Douglas WW, et ál. *Combined corticosteroid and cyclophosphamide therapy does not alter survival in idiopathic pulmonary fibrosis*. Chest 2004;125:2169-2174.
39. Raghu G, Depaso WJ, Cain K, et ál. *Azathioprine combined with prednisone in the treatment of idiopathic pulmonary fibrosis: A prospective double-blind, randomized, placebo-controlled clinical trial*. Am Rev Respir Dis 1991;144:291-296.
40. Johnson MA, Kwan S, Snell NJ, Nunn AJ, Darbyshire JH, Turner-Warwick M. *Randomized controlled trial comparing prednisolone alone with cyclophosphamide and low dose prednisolone in combination in cryptogenic fibrosing alveolitis*. Thorax 1989;44:280-288.
41. Zisman DA, Lynch JP 3rd, Toews GB, Kaserooni EA, Flint A, Martinez FJ. *Cyclophosphamide in the treatment of idiopathic pulmonary fibrosis: A prospective study in patients who failed to respond to corticosteroids*. Chest 2000;117:1619-1626.
42. Demedts M, Behr J, Buhl R, et ál. *High-dose acetylcysteine in idiopathic pulmonary fibrosis*. N Engl J Med 2005;353:2229-2242.
43. Douglas WW, Ryu JH, Swensen SJ, et ál. *Colchicine versus prednisone in the treatment of idiopathic pulmonary fibrosis. A randomized prospective study. Members of the Lung Study Group*. Am J Respir Crit Care Med 1998;158:220-225.
44. Douglas WW, Ryu JH, Schroeder DR. *Idiopathic pulmonary fibrosis: Impact of oxygen and colchicine, prednisone, or no therapy on survival*. Am J Respir Crit Care Med 2000;161:1172-1178.
45. Selman M, Carrillo G, Salas J, et ál. *Colchicine, D-penicillamine, and prednisone in the treatment of idiopathic pulmonary fibrosis: A controlled Clinical trial*. Chest 1998;114:507-512.
46. *Regulatory watch: First drug for idiopathic pulmonary fibrosis approved in Japan*. Nat Rev Drug Discov 2008;7:966-967.
47. Mason RJ, Schwarz MI, Hunninghake GW, Musson RA. *NHLBI Workshop Summary. Pharmacological therapy for idiopathic pulmonary fibrosis. Past, present, and future*. Am J Respir Crit Care Med 1999;160:1771-1777.
48. Iyer SN, Gurujeyalakshmi G, Giri SN. *Effects of pirfenidone on procollagen gene expression at the transcriptional level in bleomycin hamster model of lung fibrosis*. J Pharmacol Exp Ther 1999;289:211-218.
49. Shi-wen X, Kennedy L, Renzoni EA, et ál. *Endothelin is a down-stream mediator of profibrotic responses to transforming growth factor beta in human lung fibroblasts*. Arthritis Rheum 2007;56:4189-4194.
50. Park SH, Saleh D, Giaid A, et ál. *Increased endothelin-1 in bleomycin-induced pulmonary fibrosis and the effect of an endothelin receptor antagonist*. Am J Respir Crit Care Med 1997;156:600-608.
51. Raghu G, Brown KK, Costabel U, et ál. *Treatment of idiopathic pulmonary fibrosis with etanercept: An exploratory, placebo-controlled trial*. Am J Respir Crit Care Med 2008;178:948-955.
52. Raghu G, Brown KK, Bradford WZ, et ál. *A placebo-controlled trial of interferon gamma-1b in patients with idiopathic pulmonary fibrosis*. N Engl J Med 2004;350:125-133.
53. King TE Jr, Safran S, Starko KM, et ál. *Analyses of efficacy end points in a controlled trial of interferon-gamma1b for idiopathic pulmonary fibrosis*. Chest 2005;127:171-177.
54. King TE Jr, Albera C, Bradford WZ, et ál. *The effect of interferon gamma1b on survival in patients with idiopathic pulmonary fibrosis (INSPIRE): a multicentre, randomized, placebo-controlled trial*. Lancet 2009;374:222-228.
55. Selman M, King TE, Pardo A. *Idiopathic pulmonary fibrosis: prevailing and evolving hypotheses about its pathogenesis and implications for therapy*. Ann Intern Med 2001;134:136-151.

✉ Correspondencia:

Biól. Anita Vega Miranda,
Departamento de Investigación en
Fibrosis Pulmonar. Instituto Nacional
de Enfermedades Respiratorias
Ismael Cosío Villegas. Calzada de
Tlalpan 4502, colonia Sección XVI.
Delegación Tlalpan. México, DF.,
14080. Teléfono (55) 5487-1704
Correo electrónico:
anitavm@iner.gob.mx