



Universitat
de les Illes Balears

Departamento de Biología y Ciencias de la Salud

TESIS DOCTORAL
2015

**BASES GENÉTICAS DE LA ENFERMEDAD
PULMONAR OBSTRUCTIVA CRÓNICA**

Volumen I

David Blanquer Escribano (*doctorando*)

Licenciado en Medicina.
Médico Especialista en Neumología

Programa de Doctorado: MEDICINA Y CIENCIAS BÁSICAS



Universitat
de les Illes Balears

Departamento de Biología y Ciencias de la Salud

TESIS DOCTORAL

**BASES GENÉTICAS DE LA ENFERMEDAD
PULMONAR OBSTRUCTIVA CRÓNICA.**

Presentada por:

DAVID BLANQUER ESCRIBANO

Licenciado en Medicina

Médico Especialista en Neumología

Dirigida por:

Prof. Dr. D. DANIEL BACHILLER PÉREZ

Ponente:

Prof. Dr. D. JOSEP TUR MARÍ

Para Dr. por la Universitat de les Illes Balears



Universitat de les Illes Balears

Yo,

Dr. Daniel Bachiller Pérez, del Programa de Desarrollo y Regeneración de la Fundación Caubet-CIMERA (Centro Internacional de Medicina Respiratoria Avanzada) de las Islas Baleares, del Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC).

DECLARO:

Que la tesis doctoral que lleva por título “Bases genéticas de la Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica”, presentada por David Blanquer Escribano para la obtención del título de doctor, ha sido dirigida bajo mi supervisión y que cumple con los requisitos necesarios para optar al título de Doctor Internacional.

Y para que quede constancia de ello firmo este documento.

Firma

Palma de Mallorca, 11 de octubre de 2015

A mi amada mujer Zozina.

A mi otro gran amor: nuestro encantador hijo Alexis.

A mis padres José y Amparo, a mi hermano Pau y a mi yaya Berta.

Para que juntos logremos los grandes retos que marca la vida.

Por estar siempre ahí.

Os quiero. Todos sois mi vida.

Cuando te encuentres de camino a Ítaca,
desea que el camino sea largo,
lleno de aventuras,
lleno de conocimientos.

A los Lestrigones y a los Cíclopes,
al enojado Poseidón no temas,
tales en tu camino nunca encontrarás,
si mantienes tu pensamiento elevado (...)

Ten siempre en tu mente a Ítaca.
La llegada allí es tu destino.
Pero no apresures tu viaje en absoluto.
Mejor que dure muchos años,
y ya anciano recales en la isla,
rico con cuanto ganaste en el camino,
sin esperar que te dé más riquezas Ítaca.

Ítaca te dio el bello viaje.
Sin ella no habrías emprendido el camino.
Pero no tiene más que darte.

Y si pobre la encuentras, Ítaca no te engañó.
Así sabio como te hiciste,
con tanta experiencia,
comprenderás ya qué significan las Ítacas.

Konstantinos Kavafis.

AGRADECIMIENTOS:

- A mi director de tesis, el Dr. Daniel Bachiller y a todo su equipo, por la confianza y respeto mostrado, sus altas miras y utopía que hace que se pueda llegar siempre a horizontes y retos donde antes se creía que no se sería posible; por su ardua labor en el seguimiento y corrección de los manuscritos; por el trabajo conjunto en la ingente tarea de crear de cero, adecuar protocolos, almacenar de novo tejidos y poner en marcha el Biobanco de Tejido Pulmonar del Hospital de Son Dureta de Palma de Mallorca; y por la creación conjunta de las bases o cimientos del funcionamiento y páginas web de la futura Red Nacional Española de Biobancos de Tejido Pulmonar, que se convertiría después en la Red de Biobancos de Tejido Pulmonar de la Red Respira-SEPAR (Sociedad Española de Neumología y Cirugía Torácica). Por abrirme mis ojos clínicos al mundo de la investigación básica, del trabajo codo a codo, tratándome de igual a igual (lo que no siempre pasa a la inversa entre los clínicos que trabajan con “sus” básicos); con biólogos y genetistas, una visión mucho más de orfebres del detalle, y del paso a paso constante, sin pausa, como las tortugas, pero bien fundado, para aseverar conclusiones firmes; en un verdadero equipo de “translational research”; y a los entresijos y mecanismos moleculares que explican nuestros procesos de regulación homeostática y de reparación básicos.
- Al Dr. Josep Antoni Tur i Marí como Tutor Ponente de la Universitat de les Illes Balears, por su apoyo y respaldo en todo momento.
- A Meritxell Arqué Clemens y a Noemi Garcies Artigues por su ayuda inestimable, compañerismo, y dedicación, en la adecuación de los protocolos del Biobanco de Tejido Pulmonar bajo la supervisión del Dr. Daniel Bachiller, y en la preparación conjunta previa, optimizando los resultados de extracción del ADN a partir de pulmones de ratón, antes del inicio de los protocolos con tejido pulmonar humano.
- A Vasso Makrantoní por su gran ayuda.
- A la Dra. Ana Dopazo González y al equipo del Centro Nacional de Investigaciones Cardiovasculares (CNIC) del Centro de Salud Carlos III de Madrid por la realización de la hibridación de las muestras de ADN con sondas marcadas con fluoresceína en chips de microarrays de ADN complementario del genoma humano y en escáner Agilent®, y por su fantástico curso en Madrid.
- A Ramón Díaz-Uriarte del Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas (CNIO) del Centro de Salud Carlos III por la realización de la interpretación informática bioestadística ROAST de los genes expresados diferencialmente.
- A los Dres. Bernat Togores y Salvador Pons, que me ayudaron en la recopilación de las pruebas de función pulmonar no disponibles en los Hospitales de Son Dureta y Son Llätzer respectivamente.
- A los Dres. Joan Palmer y Jordi Roldán del Hospital de Son Dureta (ahora en el nuevo Son Espases) de Palma de Mallorca por su revisión de los TACs torácicos como radiólogos especializados en tórax.

- Al Dr. Antonio Oliver por permitirme el acceso a las bases de datos microbiológicas del Hospital de Son Dureta para excluir infecciones o colonizaciones de las muestras de tejido pulmonar.
- A la Dra. Gabriela Corte e Immaculada Matanzas por su asesoramiento sobre los cortes de Anatomía Patológica.
- A los Dres. Ángel Carvajal y Juan Antonio Torrecilla del Servicio de Cirugía Torácica por el aporte in situ de las muestras en quirófano que yo recogía allí.
- A Biel Oliver y a los técnicos del Hospital de Son Dureta que me aportaban el nitrógeno líquido.
- Al Dr. Álar Agustí García-Navarro como Jefe de Servicio de Neumología del Hospital de Son Dureta por ponerme entonces a las órdenes del Dr. Daniel Bachiller para poder trabajar con él en la Fundación Caubet-Cimera, y comenzar con su animalario experimental esta aventura desde cero.
- A la Sociedad Española de Pneumología y Cirugía Torácica (SEPAR) por la concesión de una Beca SEPAR para la realización de este estudio.

A todos **GRACIAS..**

ÍNDICE

VOLUMEN I

1. LISTA DE ABREVIATURAS Y SIGLAS	19
1.1. Abreviaturas y siglas generales	21
1.2. Lista de genes candidatos asociados a EPOC (linkeage).....	29
1.3. Lista de algunos estudios de asociación amplia de genoma.....	34
1.4. Lista de genes asociados a EPOC/obstrucción/fenotipos en estudios de asociación amplia de genoma (GWAS).....	35
1.5. Lista de los grupos de genes de las vías moleculares expresadas diferencialmente en los pacientes EPOC del Biobanco de Tejido Pulmonar del Hospital de Son Dureta de Palma de Mallorca entre 2005 y 2006.....	41
2. LISTA DE FIGURAS	45
3. LISTA DE TABLAS	53
4. RESUMEN/ RESUM / SUMMARY	57
1.1. Resumen.....	59
1.2. Resum.....	63
1.3. Summary.....	67
5. INTRODUCCIÓN: Pasado, Presente y Futuro en el estudio de la patogénesis de la EPOC	71
5.1. Nuevas herramientas genómicas: Presente y futuro inmediato del estudio de la patogénesis de la EPOC	73
5.1.1. La codificación del Genoma Humano y las técnicas de hibridación para el estudio de la expresión génica y vías moleculares de enfermedades complejas	73
5.1.2. Estudios de expresión génica en EPOC	77
5.1.2.1. Estudios de asociación de genes candidatos (linkeage).....	78
5.1.2.2. Estudios de asociación amplia de genoma (genome-wide association studies: GWAS).....	90
5.1.3. Nuevos desarrollos farmacológicos en la EPOC.....	102
5.1.4. La experiencia del Biobanco de Tejido Pulmonar del Hospital de Son Dureta de Palma de Mallorca y de las bases funcionales de la futura Red de Biobancos de Tejido Pulmonar de Ciberes-Respira-SEPAR...	104
5.1.5. Fenotipos clínicos de la EPOC	108
5.1.6. Translational research	111
5.1.7. Endotipos: el futuro de la patogénesis de la EPOC	113
5.2. Presente a partir del pasado de las hipótesis y estudio etiopatogénicos de la EPOC	115
5.2.1. Definición actual de EPOC (GOLD).....	115
5.2.2. Impacto de la EPOC.....	115
5.2.3. Evolución histórica de las definiciones y concepciones patogénicas de la EPOC.....	116
5.2.4. La EPOC como parte de la enfermedad tabáquica	117
5.2.5. El pasado de las concepciones patogénicas de la EPOC	119
5.2.5.1. Concepciones semiológicas	119
5.2.5.2. Fenotipos clásicos de la EPOC.....	120
5.2.5.3. Primeras hipótesis patogénicas de la EPOC.....	122
5.2.5.3.1. La hipótesis holandesa (“the Dutch hypothesis ”).....	122
5.2.5.3.1.1. Desarrollo actual de la hipótesis holandesa: el fenotipo mixto asma-EPOC (ACOS: asthma-COPD overlap syndrom)	123
5.2.5.3.2. La hipótesis británica (“the British hypothesis ”).....	125

5.2.5.3.2.1 Desarrollo actual de la hipótesis británica: el subfenotipo bronquiectasias-bronquitis crónica dentro del “fenotipo clínico EPOC agudizador ”.....	125
5.2.6. Presente de las concepciones patogénicas de la EPOC.....	128
5.2.6.1. Definición funcional espirométrica.....	128
5.2.6.2. Definición espirométrica ampliada actual	130
5.2.6.3. Definiciones fenotípicas (“fenotipos clínicos”).....	130
5.2.7. Lesiones histológicas de la EPOC de muestras de biopsias bronquiales	131
5.2.8. La inflamación en la EPOC.....	135
5.2.8.1. Celularidad en la EPOC.....	136
5.2.8.2. Celularidad en lavado broncoalveolar en la EPOC.....	137
5.2.8.3. Celularidad en biopsias endo y transbronquiales en EPOC.....	137
5.2.8.3.1. Los macrófagos en la EPOC.....	137
5.2.8.3.2. Los neutrófilos en la EPOC.....	140
5.2.8.3.3. Los linfocitos T CD8+ en la EPOC.....	142
5.2.8.3.4. El epitelio bronquial y alveolar en la EPOC.....	144
5.2.8.3.5. CCR3 , y activación de linfocitos T y eosinófilos en EPOC.....	149
5.2.8.4. Citoquinas en la EPOC.....	153
5.2.9. Hipótesis de los desbalances en la EPOC.....	154
5.3. Hipótesis de las disfunciones fisiológicas en la EPOC	155

1. LISTA DE ABREVIATURAS Y SIGLAS

1.1. ABREVIATURAS Y SIGLAS GENERALES:

A2M	Alfa-2 macroglobulina
ABCC1	ATP-binding cassette subfamilia C (CFTR/MRP) miembro 1
ACE	Angiotensin I converting Enzyme (peptidil dipeptidasa A) I
ACOS	Fenotipo mixto asma-EPOC (asthma-COPD overlap syndrome)
ADAM33	Metalopeptidasa ADAM dominio 33
ADK	Adenocarcinoma
ADN	Ácido desoxirribonucleico
ADNc	Ácido desoxirribonucleico complementario
ADRB2	Receptor b-2 adrenérgico de superficie
ALOXAP	Proteína activadora del ácido araquidónico 5 lipoxigenasa
AQP5	Acuaporina 5
BCL2	Oncogen de los linfocitos B de la leucemia linfática crónica y linfoma 2
BDKRB2	Receptor B2 bradiquinina
BMI	Body mass index (índice de masa corporal): peso (kg) / talla ² (cm ²)
BODE	Índice pronóstico de supervivencia en EPOC: B (BMI) > 21 (0 puntos) ó < 21 (1 punto); O (obstruction) FEV1 <35% (3 puntos) , 36-49% (2 puntos), 50-64% (1punto), ≥65% (0 puntos); D (dyspnea) MMRC (modified Medical Respiratory Council scale) MMRC0 con ejercicio extremo (0 puntos), MMRC1 al subir pequeña pendiente (0 puntos), MMRC2 al subir un piso de escaleras (1 punto), MMRC3 de moderados esfuerzos tras 92 metros o varios minutos de paseo (2 puntos); MMRC4 de mínimos esfuerzos caminando por casa o vistiéndose/desvistiéndose (3 puntos); E (exercise 6-minute walking distance) ≥ 350 m (0 puntos), 250-349 (1 punto), 150-249 (2 puntos), ≤149 (3 puntos). Supervivencia a los 4 años según puntuación total: 0-2 (80%), 3-4 (67%), 5-6 (57%), 7-10 (18%).
CASP10	Caspasa 10. Cisteína peptidas relacionada con la apoptosis
CAT	Catalasa
CCL5(RANTES)	Ligando 5 de la quimioquina (C-C motif)
CCR2	Receptor 2 de la quimiocina (C-C motif)
CD14	Molécula CD14
CD40	Molécula CD40 de la superfamilia de receptores TNF

CD63 Molécula CD63

CD86 Molécula CD86

CHARGE Cohorts for Heart and Aging Research in Genetic Epidemiology Consortium.

CHI3LI Chitinasa tipo 3 I (glicoproteína-39 de cartílago)

CHRNA3 Receptor colinérgico nicotínico a-3 neuronal

CHRNA5 Receptor colinérgico nicotínico a-5 neuronal

CI Cardiopatía isquémica

CLCA1 Canal de cloro accesorio I

COL4A3 a-3 colágeno tipo IV(antígeno Goodpasture)

COPD-Gene Estudio a gran escala sobre la genética de la EPOC.

CRP Proteína C reactiva relacionada con pentraxina

CS COPD smokers. Acrónimo para el grupo de EPOC fumadores activos.

CSF2 Factor 2 estimulador de colonias (granulocitomacrofágicas)

CSF3 Factor 3 estimulador de colonias (granulocitomacrofágicas)

CTLA4 Proteína 4 asociada a Linfocito T citotóxico

CTSS Catepsina S

cX COPD exsmokers. Acrónimo del grupo de EPOC exfumadores.

CYBA Citocromo b-245 Polipéptido a

CYP1A1 Citocromo p450 familia 1, subfamilia A, polipéptido 1

CYP1A2 Citocromo p450 familia 1, subfamilia, polipéptido 2

CYP2E1 Citocromo p450 familia 2, subfamilia E, polipéptido 1

CYP2F1 Citocromo p450 familia 2, subfamilia F, polipéptido 1

CYP3A5 Citocromo p450 familia 3, subfamilia A, polipéptido 5

DAT Dosis acumulada total de tabaco fumado en paquetes-año

DEFB1 Defensina b1

DEFB4A Defensina b4A

DLCO Capacidad de difusión del monóxido de carbono. Su alteración suele sugerir compromiso a nivel parenquimatoso distal en la barrera alveolocapilar

DLP Dislipemia

DM2 Diabetes mellitus tipo 2

ECLIPSE Evaluation of COPD Longitudinally to Identify Predictive Surrogate End-points. Estudio prospectivo de factores pronósticos de la EPOC que identificó las agudizaciones como uno de los de mayor relevancia.

EDN1 Endotelina 1

EDNRB Receptor Endotelina tipo B

EGF Epithelial growth factor (factor de crecimiento epitelial).

ELN Elastina (estenosis supra-avalvular aórtica y síndrome de Williams-Beuren)

EPHX1 Epóxido hidrolasa 1 microsomal (xenobiótico)

EOCOPD Early Onset COPD trial. Estudio a gran escala de EPOC de inicio precoz generalmente más

	graves (Boston)
EPOC	Enfermedad pulmonar obstructiva crónica.
ESR1	Receptor 1 estrogénico
FA	Fibrilación auricular
FAM13A	Familia con secuencia de similitud 13 miembro A
FEV1	Forced expiratory volume in one second. Acrónimo para el volumen espiratorio forzado en el primer segundo (marca el grado de obstrucción bronquial)
FEV1/FVC	Forced expiratory volume in one second divided by the forced vital capacity. Cociente entre el volumen espiratorio forzado en el primer segundo y la capacidad vital forzada (diagnostica obstrucción bronquial)
FGF10	Factor 10 de crecimiento de fibroblastos
FHS	Framingham Heart Study
GC	Componente específico de grupo (proteína conectora de vitamina D)
GC	Glucocorticoides
GCLC	Ligasa glutamato-cisteína, subunidad catalítica
GCLM	Ligasa glutamato-cisteína, subunidad modificadora
GM-CSF	Granulo-monocytic colony stimulating factor. Factor estimulador de colonias granulomonocíticas.
GRO- α (CXCL1)	Quimiocina C-x-c motif ligando 1, antes llamada Oncogen GRO-1 mitogénico del melanoma. Quimiotaxis de neutrófilos (segregado por macrófagos, neutrófilos y células epiteliales).
GSTTCD	Glutathion S-transferasa con dominio C-terminal
GSTM 1	Glutathion S-transferasa M1
GSTO1	Glutathion S-transferasa Omega 1 (v1)
GSTO2	Glutathion S-transferasa Omega 2 (v2)
GSTP1	Glutathion S-transferasa Pi 1 (p1)
GSTT1	Glutathion S-transferasa Theta 1 (Q1)
GWAS	Genome-wide association studies. Estudios de expresión génica diferencial por asociación amplia de genoma utilización la hibridación de muestras de ADN con sondas marcadas sobre chips de microarrays del Genoma Humano.
HCK	Kinasa celular hematopoyética
HES	“Healthy exsmokers”. Acrónimo para el grupo de no EPOC exfumadores.
HHIP	Proteína interactiva Hedgehog (erizo)
HLA	Subregión clásica clase 11 del MHC (mecanismo de histocompatibilidad)
HMOX1	Hemoxigenasa (deciador) 1
HS	“Healthy smokers”. Acrónimo para el grupo de no EPOC fumadores activos.
HTA	Hipertensión arterial
HTP	Hipertensión pulmonar
HTR4	Receptor 4 de 5 hidroxiptamina (serotonina)
IFNG	Interferón gamma (g)

IKK2	Inhibitor of nuclear factor kappa B kinase subunit beta (inhibidor de la unidad beta de la kinasa del factor nuclear kappa B proinflamatorio)
IL 1A	Interleuquina 1a
IL 1B	Interleuquina 1b
IL1RN	Antagonista del receptor de la Interleuquina 1
IL2	Interleuquina 2
IL27	Interleuquina 27
IL4	Interleuquina 4
IL4R	Receptor de la Interleuquina 4
IL5	Interleuquina 5 (factor estimulador de colonias de eosinófilos)
IL6	Interleuquina 6
IL8	Interleuquina 8
IL8RA	Receptor a de la Interleuquina 8
IL8RB(CXCR2)	Receptor b de la Interleuquina 8
IL10	Interleuquina 10
IL12B	Interleuquina 12B (factor 2 estimulador de células natural killer, factor 2 p40 de maduración de los linfocitos T citotóxicos)
IL13	Interleuquina 13
IL3RA1	Receptor a1 de la Interleuquina 13
IL17F	Interleuquina 17F
IMC	Índice de masa corporal (body mass index): peso (kg) / talla ² (cm ²)
IREB2	Proteína 2 conectora respondedora al elemento hierro
IUNICS	Institut Universitari d'Investigació en Ciències de la Salut de les Illes Balears
KCO	Cociente entre la DLCO (capacidad de difusión del monóxido de carbono) y el volumen alveolar. Su alteración suele sugerir compromiso a nivel parenquimatoso distal de la barrera alvelocapilar.
KNCMB1	Canales de potasio activados por calcio de gran conductancia subfamilia M miembro b1
KEAP1	Proteína 1 asociada a enfermedad contra huésped (ECH)-rechazo de tipo Kelch
lADK	lung adenocarcinoma (adenocarcinoma pulmonar)
lca	lung carcinoid (tumor carcinoide pulmonar)
lcADK	lung metastases of colon adenocarcinoma
lcca	lung metastasis of colon squamous cell carcinoma
LEP	Leptina
LEPR	Receptor de la leptina
lmADK	lung metastasis of mamary gland adenocarcinoma
lKca	lung metastasis of kidney carcinoma
LSCC	Lung squamous cell carcinoma (carcinoma de células escamosas pulmonar).
LTA	Linfotoxina a Superfamilia TNF miembro 1

LTA4H Hidrolasa del leucotrieno A4

LTB4 Leucotrieno B4

LTBP4 Proteína 4 conectora del factor de crecimiento transformador beta (TGFB)
Latente

Macro Macrófagos

MAPK Mitogen-activated protein kinases (proteínquinas activadas por mitógenos)

MBL2 Lectina (proteína C) 2 soluble conectora de manosa

MIC1- α Macrophage inhibitory protein

MICB Polipéptido asociado al mecanismo de clase de histocompatibilidad tipo I
(MHC I) secuencia B

MIP-1 α Macrophage inflammatory protein. Respuesta inflamatoria a virus y hematopoyesis.

MIR196A2 MicroARN 196a-2

MIR499A MicroARN 499a

MMP1 Metalopeptidasa 1 de matriz (colagenasa intersticial)

MMP2 Metalopeptidasa 2 de matriz (gelatinasa A de 72 kDa, tipo IV colagenasa)

MMP3 Metalopeptidasa 3 de la matriz extracelular (estromelisin 1
progelatinasa).

MMP9 Metalopeptidasa 9 de la matriz extracelular (gelatinasa B, 92 kDa
colagenasa de tipo IV)

MMP12 Metalopeptidasa 12 de la matriz extracelular (elastasa de macrófago)

MMP14 Metalopeptidasa 14 de matriz extracelular (acetiltransferasa de
membrana)

Mono Monocitos

MTL Mesotelioma

NAS Normative Aging Study

NETT National Emphysema Treatment Trial. Estudio de pacientes con enfisema grave que
precisan cirugía con bullectomía y resección de volumen pulmonar.

Neu Neutrófilos.

NFE2L2 Factor nuclear tipo 2 (derivado eritroide 2)

NFKBIB Factor nuclear del estimulador del gen kappa de polipéptidos ligeros en
el inhibidor beta de los linfocitos B)

NOS3 Sintetasa 3 del óxido nítrico (célula endotelial)

NQO1 NAD(P)H Deshidrogenasa quinona 1

NR3C1 Receptor nuclear subfamilia 3, grupo C, miembro 1 (receptor
glucocorticoideo)

OCT Optimal cutting temperature

OGG1 8-oxoguanina ADN glicosilasa

OR4X1 Receptor olfatorio familia 4, subfamilia X, miembro 1

PBD Prueba broncodilatadora. Es positiva si hay un aumento significativo de más del 12% y de
200 ml del FEV1 tras inhalación de beta-2 adrenérgico de corta duración

PDGF Factor de crecimiento de derivados plaquetares

PDE4 Fosfodiesterasa 4

PDE4D Fosfodiesterasa 4D AMPc específica

PET Positron emisión tomography (tomografía de emisión de positrones)

pFEV1 FEV1 postbroncodilatación.

pFVC Capacidad vital forzada postbroncodilatación.

pFEV1/FVC Cociente postbroncodilatación FEV1/FVC. Diagnóstico de EPOC si < 0.7 ante la exposición crónica previa al humo del tabaco, polución o combustión de humo de leña y tras descartar otras causas de la misma.

PLAUR Receptor de la uroquinasa activador del plasminógeno

PPARG Receptor gamma activado por el proliferador del peroxisoma

PTEN Homólogo de la fosfatasa y de la tensina

PTGDR Receptor de la prostaglandina D2 (DP)

PTGS2 (COX2) Sintetasa 2 de la prostaglandina endoperoxidasa (sintetasa de la prostaglandina G/H y ciclooxigenasa)

SAHS Síndrome de las apneas-hipopneas del sueño

SAPALDIA Swiss Cohort Study on Air Pollution and Lung Diseases in Adults.

SERPINA 1 Inhibidor de la peptidasa serpina, clase A (a1-antiproteasa, antitripsina) miembro 1

SERPINA 3 Inhibidor de la peptidasa serpina, clase A (a1 antiproteasa, antitripsina) miembro 3

SERPINA 2 Inhibidor de la peptidasa serpina, clase E (nexina, inhibidor del activador del plasminógeno tipo 1)

SFTPA1 Proteína del surfactante A1

SFTPA2 Proteína del surfactante A2

SFTPB Proteína del surfactante B

SFTPC Proteína del surfactante C

SFTPD Proteína del surfactante D

SIRT2 Sirtuina 2

SLC6A4 Portador de Soluto, Familia 6 (neurotransmisor, transportador, serotonina) miembro 4

SLC11A1 Portador de soluto, familia 11 (transportador acoplado a protón de Iones metálicos divalentes) miembro 1

SMAD3 Familia SMAD Miembro 3

SMOC2 Conector 2 de Calcio modular relacionado con SPARC

SOD2 Superóxido Dismutasa mitocondrial

SOD3 Superóxido dismutasa 3 extracelular

SOH Síndrome de obesidad-hipoventilación

SOX5 SRY (región Y determinada por el sexo) caja 5

Spiro-Meta Estudio poblacional de función pulmonar

spp.	species (especie)
STAT1	Trasductor de señal y activador de la transcripción 1 de 91 kDa
STAT3	Trasductor de señal activador de transcripción 3 (factor de respuesta en fase aguda)
STAT6	Trasductor de señal y activador de la transcripción 6 (inducido por interleuquina 4)
STIP1	Fosfoproteína 1 inducida por estrés
TAC	Tomografía axial computerizada.
TACAR	Tomografía axial computerizada de alta resolución.
TBXA2R	Receptor A2 del tromboxano
T CD4+	Linfocitos T CD4+
T CD8+	Linfocitos T CD8+
TEP	Tromboembolismo pulmonar
TGFβ	Transforming growth factor beta
TGFBR3 Beta-receptor III del factor transformador del crecimiento	
Tc1	Linfocitos T citotóxicos tipo 1. Su acúmulo en parénquima pulmonar se ha relacionado con enfisema.
Th1	Linfocitos T helper 1. Suelen inducir inflamaciones crónicas en enfermedades Autoinmunes, en la EPOC y en presencia de virus.
Th2	Linfocitos T helper 2. Suelen inducir inflamaciones alérgicas con o sin asma bronquial.
TIA	Transient ischemic accident. Accidente isquémico cerebral transitorio.
TIMP 1	Inhibidor 1 de la metalopeptidasa TIMP
TIMP 2	Inhibidor 2 de la metalopeptidasa TIMP
TLR4	Receptor 4 Toll-like
TNF Factor de necrosis tumoral (superfamilia TNF, miembro 2)	
TNF-α	Factor de necrosis tumoral alfa que induce la producción de IL-8, GRO-alfa, MCP-1 y MIP-1, IL-8 y GRO-alfa para el reclutamiento macrófago-neutrófilico en la EPOC.
TNS1	Tensina 1
TP53	Proteína tumoral p53 (p53)
TRPV4	Receptor transitorio potencial canal catiónico, subfamilia V, miembro 4
TSLP	Linfoproteína del estroma tímico
VDR Receptor de la vitamina D (1,25-dihidroxitamina D)	
VEGF	Vascular endothelial growth factor (factor de crecimiento vasculoendotelial).
VEGFA	Factor A de Crecimiento vasculoendotelial
XRCC1 Reparación Rayos X complementaria de reparación defectuosa de células de hámster chino 1	
XRCC5	Reparación rayos X complementaria de reparación defectuosa en células de hámster chino 5 (unión de dobles cadenas rotas)

1.2. LISTA DE GENES CANDIDATOS ASOCIADOS A EPOC (linkeage):

Genes candidatos en EPOC de estudios de asociación (linkeage) (4-412, 420,421):

- **Mayor fuerza de asociación: SERPINA 1**

- **Más replicados: SERPINA 1 y SOD3**

- **Más estudios: SERPINA1, ADRB2, TGFB1, TNF, GSTM1, GSTP1, EPHX1**

A2M Alfa-2 macroglobulina

ABCC1 ATP-binding cassette subfamilia C (CFTR/MRP) miembro 1

ACE Angiotensin I converting Enzyme (peptidil dipeptidasa A) I

ADAM33 Metalopeptidasa ADAM dominio 33

ADRB2 Receptor b-2 adrenérgico de superficie

ALOXAP Proteína activadora del ácido araquidónico 5 lipoxigenasa

AQP5 Acuaporina 5

BCL2 Oncogen de los linfocitos B de la leucemia linfática crónica y linfoma 2

BDKRB2 Receptor B2 bradiquinina

CASP10 Caspasa 10. Cisteína peptidas relacionada con la apoptosis

CAT Catalasa

CCL5(RANTES) Ligando 5 de la quimioquina (C-C motif)

CCR2 Receptor 2 de la quimiocina (C-C motif)

CD14 Molécula CD14

CD40 Molécula CD40 de la superfamilia de receptores TNF

CD63 Molécula CD63

CD86 Molécula CD86

CHI3L I Chitinasa tipo 3 I (glicoproteína-39 de cartílago)

CHRNA3 Receptor colinérgico nicotínico a-3 neuronal

CHRNA5 Receptor colinérgico nicotínico a-5 neuronal

CLCA I Canal de cloro accesorio I

COL4A3 a-3 colágeno tipo IV(antígeno Goodpasture)

CRP Proteína C reactiva relacionada con pentraxina

CSF2 Factor 2 estimulador de colonias (granulocitomacrofágicas)

CSF3 Factor 3 estimulador de colonias (granulocitomacrofágicas)

CTLA4 Proteína 4 asociada a Linfocito T citotóxico

CTSS Catepsina S

CYBA Citocromo b-245 Polipéptido a

CYP 1A1 Citocromo p450 familia 1, subfamilia A, polipéptido 1

CYP 1A2 Citocromo p450 familia 1, subfamilia, polipéptido 2

CYP2E 1 Citocromo p450 familia 2, subfamilia E, polipéptido 1

CYP2F 1 Citocromo p450 familia 2, subfamilia F, polipéptido 1

CYP3A 5 Citocromo p450 familia 3, subfamilia A, polipéptido 5

DEFB 1 Defensina b1
 DEFB4A Defensina b4A
 EDN 1 Endotelina 1
 EDNRB Receptor Endotelina tipo B
 ELN Elastina (estenosis supra valvular aórtica y síndrome de Williams-Beuren)
EPHX 1 Epóxido hidrolasa 1 microsomal (xenobiótico)
 ESR1 Receptor 1 estrogénico
FAM13A Familia con secuencia de similaridad 13 miembro A
 FGF10 Factor 10 de crecimiento de fibroblastos
 GC Componente específico de grupo (proteína conectora de vitamina D)
 GCLC Ligasa glutamato-cisteína, subunidad catalítica
 GCLM Ligasa glutamato-cisteína, subunidad modificadora
 GenKOLS study. Cohorte noruega "Genetics of Chronic Obstructive Lung Disease, GSK code 11080".
 GSTTCD Glutathion S-trasferasa con dominio C-terminal
GSTM 1 Glutathion S-trasferasa M1
 GSTO1 Glutathion S-trasferasa Omega 1 (v1)
 GSTO2 Glutathion S-trasferasa Omega 2 (v2)
 GSTP1 Glutathion S-trasferasa Pi 1 (p1)
GSTT1 Glutathion S-trasferasa Theta 1 (Q1)
 HCK Kinasa celular hematopoyética
HHIP Proteína interactiva Hedgehog (erizo)
 HLA Subregión clásica clase 11 del MHC (mecanismo de histocompatibilidad)
 HMOX1 Hemoxigenasa (deciclador) 1
 HTR4 Receptor 4 de 5 hidroxiriptamina (serotonina)
 ICGN International COPD Gene Network.
IFNG Interferón gamma (γ)
 IL 1A Interleuquina 1 α
 IL 1B Interleuquina 1 β
 IL1RN Antagonista del receptor de la Interleuquina 1
IL2 Interleuquina 2
 IL27 Interleuquina 27
IL4 Interleuquina 4
 IL4R Receptor de la Interleuquina 4
IL5 Interleuquina 5 (factor estimulador de colonias de eosinófilos)
 IL6 Interleuquina 6
 IL8 Interleuquina 8
 IL8RA Receptor α de la Interleuquina 8

IL8RB(CXCR2) Receptor β de la Interleuquina 8

IL10 Interleuquina 10

IL12B Interleuquina 12 β (factor 2 estimulador de células natural killer, factor 2 p40 de maduración de los linfocitos T citotóxicos)

IL13 Interleuquina 13

IL3RA1 Receptor α 1 de la Interleuquina 13

IL17F Interleuquina 17F

IREB2 Proteína 2 conectora respondedora al elemento hierro

KNCMB1 Canales de potasio activados por calcio de gran conductancia subfamilia M miembro b1

KEAP1 Proteína 1 asociada a enfermedad contra huésped (ECH)-rechazo de tipo Kelch

LEP Leptina

LEPR Receptor de la leptina

LTA Linfotóxina α Superfamilia TNF miembro 1

LTA4H Hidrolasa del leucotrieno A4

LTBP4 Proteína 4 conectora del factor de crecimiento transformador beta (TGF β) latente

MBL2 Lectina (proteína C) 2 soluble conectora de manosa

MICB Polipéptido asociado al mecanismo de clase de histocompatibilidad tipo I (MHC I) secuencia B

MIR196A2 MicroARN 196a-2

MIR499A MicroARN 499a

MMP1 Metalopeptidasa 1 de matriz (colagenasa intersticial)

MMP2 Metalopeptidasa 2 de matriz (gelatinasa A de 72 kDa, tipo IV colagenasa)

MMP3 Metalopeptidasa 3 de la matriz extracelular (estromelisin 1 progelatinasa).

MMP9 Metalopeptidasa 9 de la matriz extracelular (gelatinasa B, 92 kDa colagenasa de tipo IV)

MMP12 Metalopeptidasa 12 de la matriz extracelular (elastasa de macrófago)

MMP14 Metalopeptidasa 14 de matriz extracelular (acetiltransferasa de membrana)

NFE2L2 Factor nuclear tipo 2 (derivado eritroide 2)

NFKBIB Factor nuclear del estimulador del gen kappa de polipéptidos ligeros en el inhibidor beta de los linfocitos B)

NOS3 Sintetasa 3 del óxido nítrico (célula endotelial)

NQO1 NAD(P)H Deshidrogenasa quinona 1

NR3C1 Receptor nuclear subfamilia 3, grupo C, miembro 1 (receptor glucocorticoideo)

OGG1 8-oxoguanina ADN glicosilasa
OR4X1 Receptor olfatorio familia 4, subfamilia X, miembro 1
PDE4D Fosfodiesterasa 4D AMPc específica
PLAUR Receptor de la uroquinasa activador del plasminógeno
PPARG Receptor gamma activado por el proliferador del peroxisoma
PTEN Homólogo de la fosfatasa y de la tensina
PTGDR Receptor de la prostaglandina D2 (DP)
PTGS2 (COX2) Sintetasa 2 de la prostaglandina endoperoxidasa (sintetasa de la prostaglandina G/H y ciclooxigenasa)

SERPINA 1 Inhibidor de la peptidasa serpina, clase A (a1-antiproteasa, antitripsina) miembro 1

SERPINA 3 Inhibidor de la peptidasa serpina, clase A (a1 antiproteasa, antitripsina) miembro 3

SERPINA 2 Inhibidor de la peptidasa serpina, clase E (nexina, inhibidor del activador del plasminógeno tipo 1)

SFTPA1 Proteína del surfactante A1

SFTPA2 Proteína del surfactante A2

SFTPB Proteína del surfactante B

SFTPC Proteína del surfactante C

SFTPD Proteína del surfactante D

SIRT2 Sirtuina 2

SLC6A4 Portador de Solutos, Familia 6 (neurotransmisor, transportador, serotonina) miembro 4

SLC11A1 Portador de soluto, familia 11 (transportador acoplado a protón de iones metálicos divalentes) miembro 1

SMAD3 Familia SMAD Miembro 3

SMOC2 Conector 2 de Calcio modular relacionado con SPARC

SOD2 Superóxido Dismutasa mitocondrial

SOD3 Superóxido dismutasa 3 extracelular

SOX5 SRY (región Y determinada por el sexo) caja 5

STAT1 Trasductor de señal y activador de la transcripción 1 de 91 kDa

STAT3 Trasductor de señal activador de transcripción 3 (factor de respuesta en fase aguda)

STAT6 Trasductor de señal y activador de la transcripción 6 (inducido por interleuquina 4)

STIP1 Fosfoproteína 1 inducida por estrés

TBXA2R Receptor A2 del tromboxano

TGFBR3 Beta-receptor III del factor transformador del crecimiento

TIMP 1 Inhibidor 1 de la metalopeptidasa TIMP

TIMP 2 Inhibidor 2 de la metalopeptidasa TIMP

TLR4 Receptor 4 Toll-like

TNF Factor de necrosis tumoral (superfamilia TNF, miembro 2)

TNS1 Tensina 1

TP53 Proteína tumoral
(p53) p53

TRPV4 Receptor transitorio potencial canal catiónico, subfamilia V, miembro
4

TSLP Linfoproteína del estroma tímico

VDR Receptor de la vitamina D (1,25-dihidroxitamina D)

VEGFA Factor A de Crecimiento vasculoendotelial

**XRCC1 Reparación Rayos X complementaria de reparación defectuosa de
células de hámster chino 1**

XRCC5 Reparación rayos X complementaria de reparación defectuosa en células
de hámster chino 5 (unión de dobles cadenas rotas)

1.3. LISTA DE ALGUNOS ESTUDIOS DE ASOCIACIÓN AMPLIA DE GENOMA (genome-wide association studies: GWAS) en EPOC.

EOCOPD Early-Onset COPD Boston Cohort: EPOC grave de inicio a temprana edad

NETT National Emphysema Treatment Trial: Enfisema grave avanzado.

NAS Normative Aging Study.

GenKOLS (Noruega) "Genetics in Chronic Obstructive Lung Disease".

ICGN International COPD Genetics Network.

COPDGene

ECLIPSE Evaluation of COPD Longitudinally to Identify Surrogate Endpoints

SAPALDIA Swiss Cohort Study on Air Pollution and Lung Diseases in Adults.

Algunos grandes estudios de cohortes poblacionales con función pulmonar en los que se han realizado GWAS para estudio de la obstrucción bronquial:

FHS Framingham Heart Study.

FHS Family Heart Study.

CHARGE Cohorts for Heart and Aging Research in Genetic Epidemiology Consortium.

Health 2000 Study.

SpiroMeta.

1.4. Lista de Genes asociados a EPOC/obstrucción/ fenotipos de EPOC en estudios de asociación amplia de genoma (GWAS):

Banda cromosómica	Genes
Chr5q25	CHRNA 3 /5 e IREB2 CHRNA 3 /5 receptores colinérgicos nicotínicos afa 3 y 5 neuronales, variante rs1051730 IREB2 iron responsive element binding protein 2: proteína conectora 2 de elemento respondedora al hierro
Chr4q31	HHIP (hedgehog interacting protein gene: gen de la proteína interactiva “erizo”). Variantes rs1828591 y rs13118928
Chr4q22.1	FAM13A.
Chr19q13	variantes rs7937 y rs2604894 CYP2A6 variante del citocromo P450, familia 2, subfamilia A, gen del polipéptido 6. RAB4B Member Rasoncogen family gene (gen miembro de la familia del oncogen Ras). MIA (the melanoma inhibitory activity gene: gen inhibidor de la actividad del melanoma). EGLN2 (egl-9 family hypoxic-inducible factor 2 gene: gen del factor 2 inducible por hipoxia de la familia egl-9).
Chr14q13	RIN3 (Rab5 GTPase binding protein gene: gen de proteína conectora GTPasa Rab5).
Chr11q22	MMP12 (matrix metaloprotease 12: metaloproteasa de matriz 12).
Chr1q41	TGF-b2 (transforming growth factor beta-2: factor transformador del crecimiento beta-2).

1.4.1. Metanálisis de GWAS sobre asociación con el estado "EPOC":

COPDGene HHIP, CHRNA3/5 / IREB2, FAM13A, RIN3 , MMP12 y TGF-b2.

COPD affection study meta-analysis – Metanálisis sobre el estado EPOC

(COPDGene+NETT/NAS+ECLIPSE+GenKOLS y replicación en población ICGN familiar).

HHIP, CHRNA3/5 / IREB2, FAM13A, RIN3 , MMP12 y TGF-b2

Análisis de rasgos de expresión génica cuantitativa (eQTLs) en esputo:

- **ECLIPSE+GenKOLS+NETT/NAS:**
 - **EPOC:** IREB2 y CHRNA5 y PSORS1C1 (receptor 1 del gen de la psoriasis) del cromosoma 6 (replicado en ICGN, pero **no en COPDGene**).
 - **Falta de asociación a EPOC de HHIP y FAM13**

1.4.2. GWAS sobre asociación con función pulmonar:

- **GWAS sobre asociación con cociente FEV1/FVC prebroncodilatador:**
 - **Framingham Heart Study (Wilk et al.):** HHIP.
 - **Family Heart Study:** HHIP.

 - **Cohorts for Heart and Aging Research in Genetic Epidemiology Consortium (CHARGE) (Hancock et al.) con SpiroMeta Consortium** como estudio de **replicación:** HHIP, FAM13A, GPR126, ADAM19, AGER/PPT2, PTCH1, PID y HTR4 y 1 locus asociado a FEV1 (INTS12/GSTCD/NPNT).
 - **SpiroMeta (RePapi et al) con replicación CHARGE+HEALTH2000 studies.**

ARN mensajero en tejido pulmonar.

 - **Variantes asociadas a FEV1/FVC:**
 - AGER.
 - THSD4: Thrombospondin type 1 domain containing 4 gene (trombospondina tipo 1, dominio conteniendo el gen 4).
 - HHIP.
 - **Variantes asociadas a FEV1:**
 - GSTCD.
 - HTR4.
 - TNS1: tensin 1 gene (gen de la tensina 1).
 - HHIP.
 - **Metanálisis de 23 estudios en CHARGE y SpiroMeta:** 2.5 millones de SNPs testados. 48201 individuos caucásicos. Se examinaron los SNPs más significativos con valor de p menor en otros 17 estudios con 46411 individuos.
 - 1 nueva variante asociada a FEV1/FVC y FEV1:
 - CDC123
 - 12 nuevas variantes asociadas a FEV1/FVC:

- MFAP2
- TGFB2
- HDAC4
- RARB
- SPATA9
- NCR3
- ARMC2
- LRP1
- CCDC38
- MMP15
- CFDP1
- KCNE2
- 3 nuevas variantes asociadas a FEV1:
 - MECOM
 - ZKSCAN3/ZNF323
 - C10orf11
- Soler-Artigas:
 - TSN1
 - GSTCD
 - HTR4
- Castaldi: SpiroMeta y CHARGE (NETT/NAS, GenKOLS, ECLIPSE y los primeros 1000 participantes del COPDGene).
 - 3 loci asociados a EPOC:
 - 4q24 (FLJ20184/INTS12/GSTCD/NPNT)
 - 6p21 (AGER y PPT2)
 - 5q33 (ADAM19)
- Hardin: cohorte de Polonia de EPOC grave.
 - ADCY2 locus
- Hansel: 2 regiones de los cromosomas 10 y 14 asociadas a caída del FEV1 en EPOC leve-moderado.

1.4.3. GWAS de los fenotipos de EPOC:

1.4.3.1. GWAS en enfisema:

- Kong, Cho et al: ECLIPSE, GenKOLS y NETT correlacionadas con medidas cuantitativas y cualitativas de enfisema (atenuación densitométrica medida por TAC:
 - BICD1 (bicaudal D homolog 1 (Drosophila) gene).

1.4.3.2. GWAS en fenotipos de EPOC según espirometría, exposición al humo de tabaco, índice de masa corporal (IMC) o body mass index (BMI), enfisema, engrosamiento de la vía aérea, agudizaciones de EPOC e índice BODE (body mass index, obstruction, dyspnea, exercise (6-minute) walking distance):

- Pilaii: ECLIPSE y replicación IGCN (asociaciones con fenotipos de EPOC de **espirometría**, exposición al **humo de tabaco**, índice de masa corporal (IMC) o body mass index (**BMI**), **enfisema** y **engrosamiento de la vía aérea** valorados por TAC, **agudizaciones de EPOC** e índice **BODE** (body mass index, obstruction, dyspnea, exercise (6-minute) walking distance):
 - **CHRNA3 /5** asociado con:
 - La cantidad de **paquetes-año** fumados acumulados.
 - **Enfisema**.
 - **Obstrucción bronquial**
 - **IREB2** asociado con:
 - **FEV1**.
 - **HHIP** asociado a:
 - **Obstrucción** de la vía aérea.
 - **Agudizaciones** de EPOC.
- Wan et al. metanálisis (ECLIPSE, GenKOLS y NETT), replicación con 1000 primeros pacientes de COPD Gene. Asociación de **EPOC e índice de masa corporal (IMC)** con:
 - Gen **FTO** (fat mass and obesity associated gene: gene asociado a la masa grasa y a la obesidad). Asociado con:
 - **Obesidad y sobrepeso**.
 - **Índice de masa corporal (IMC)**.
 - **Fat-free mass index (FFMI)**.
 - **FEV1**.
 - **FEV1/FVC**,
 - **Menos enfisema**.

- **Papel protector en EPOC y cáncer pulmonar.**

1.4.3.3. GWAS de Biomarcadores en sangre periférica de EPOC:

- Kim: ECLIPSE (proteína secretora de las células de Clara cell CC16 y proteína surfactante D SP-D correlacionadas con fibrinógeno, proteína C reactiva, interleuquina 6, interleuquina 8 y factor de necrosis tumoral alfa (TNF-α)):
 - Con los niveles de CC16 en EPOC:
 - **SCGB1A1**: near the secretoglobin, family 1 A, member 1 (uteroglobin) gene.
 - Con los niveles de SP-D en EPOC:
 - **SFTPD**: surfactante protein D gene.

1.5. LISTA DE GRUPOS DE GENES DE VÍAS MOLECULARES CON EXPRESIÓN DIFERENCIAL EN LOS PACIENTES EPOC CON MUESTRAS DE TEJIDO PULMONAR DEL BIOBANCO DE TEJIDO PULMONAR DEL HOSPITAL DE SON DURETA (2005-2006)

1. **\$CCR3PATHWAY** (38 genes de expresión diferencial) p=0.047
Proportion.active [1] 0.4318182
2. **\$ECMPATHWAY** (43 genes de expresión diferencial) p=0.048
Proportion.active [1] 0.3333333
3. **\$RASPATHWAY** (68 genes con expresión diferencial) p=0.047
Proportion.active [1] 0.5483871
4. **\$GLEEVECPATHWAY** (45 genes con expresión diferencial) p=0.047
Proportion.active [1] 0.3308824
5. **\$GPCRPATHWAY** (45 genes con expresión diferencial) p=0.047
Proportion.active [1] 0.4787234
6. **\$CDK5PATHWAY** (30 genes con expresión diferencial) p=0.047
Proportion.active [1] 0.6382979
7. **\$PDGFPATHWAY** (46 genes con expresión diferencial) p=0.047
Proportion.active [1] 0.3262411
8. **\$IL3PATHWAY** (38 genes con expresión diferencial) p=0.047
Proportion.active [1] 0.4691358
9. **\$EGFPATHWAY** (47 genes con expresión diferencial) p=0.048
Proportion.active [1] 0.3154362
10. **\$MPRPATHWAY** (32 genes expresados diferencialmente) p=0.048
Proportion.active [1] 0.4507042
11. **\$SPPAPATHWAY** (36 genes con expresión diferencial) p=0.047
Proportion.active [1] 0.3272727
12. **\$PYK2PATHWAY** (60 genes con expresión diferencial) p=0.049
Proportion.active [1] 0.3726708
13. **\$IGF1PATHWAY** (51 genes con expresión diferencial) p=0.047
Proportion.active [1] 0.3923077
14. **\$BYSTROM_IL5_UP** (42 genes con expresión diferencial) p=0.047
Proportion.active [1] 0.4772727
15. **\$INSULINPATHWAY** (41 genes con expresión diferencial) p=0.047
Proportion.active [1] 0.3660714
16. **\$TPOPATHWAY** (43 genes con expresión diferencial) p=0.047
Proportion.active [1] 0.3233083
17. **\$SPRYPATHWAY** (34 genes con expresión diferencial) p=0.047
Proportion.active [1] 0.3655914
18. **\$AT1RPATHWAY** (59 genes con expresión diferencial) p=0.048

- Proportion.active [1] 0.sd
19. **\$NO1PATHWAY** (42 genes con expresión diferencial) p=0.047
Proportion.active [1] 0.4565217
 20. **\$EPOPATHWAY** (51 genes con expresión diferencial) p=0.047
Proportion.active [1] 0.408Proportion.active [1] 0.3939394
 21. **\$CXCR4PATHWAY** (52 genes con expresión diferencial) p=0.047
 22. **\$NFATPATHWAY** (60 genes con expresión diferencial) p=0.047
Proportion.active [1] 0.3141361
 23. **\$NGFPATHWAY** (43 genes con expresión diferencial) p=0.047
Proportion.active [1] 0.4134615
 24. **\$IL2PATHWAY** (41 genes con expresión diferencial) p=0.047
Proportion.active [1] 0.3416667dsd
 25. **\$IGF1RPATHWAY** (51 genes con expresión diferencial) p=0.047
Proportion.active [1] 0.5604396
 26. **\$INTEGRINPATHWAY** (66 genes con expresión diferencial) p=0.047 Proportion.active [1]
0.3350254
 27. **\$MCALPAINPATHWAY** (35 genes con expresión diferencial) p=0.047
Proportion.active [1] 0.3804348
 28. **\$ETSPATHWAY** (26 genes con expresión diferencial) p=0.048
Proportion.active [1] 0.5
 29. **\$MAPK_CASCADE** (36 genes con expresión diferencial) p=0.047
Proportion.active [1] 0.3428571
 30. **\$HBX_HCC_DN** (34 genes con expresión diferencial) p=0.048
Proportion.active [1] 0.4722222
 31. **\$HDACI_COLON_SUL16HRS_DN** (28 genes con expresión diferencial) p=0.047
Proportion.active [1] 0.2641509sdf
 32. **\$HDACI_COLON_CLUSTER9** (41 genes con expresión diferencial) p=0.048
Proportion.active [1] 0.3628319
 33. **\$TNFALPHA_30MIN_UP** (28 genes con expresión diferencial) p=0.048
Proportion.active [1] 0.3888889
 34. **\$CITED1_KO_WT_UP** (6 genes con expresión diferencial) p=0.048
Proportion.active [1] 0.3529412
 35. **\$HBX_NL_UP** (24 genes con expresión diferencial) p=0.048
Proportion.active [1] 0.4210526kk
 36. **\$IFNALPHA_RESIST_DN** (43 genes con expresión diferencial) p=0.047
Proportion.active [1] 0.5657895
 37. **\$HSA04370_VEGF_SIGNALING_PATHWAY** (79 genes con expresión diferencial) p=0.048
Proportion.active [1] 0.3291667
 38. **\$HSA04530_TIGHT_JUNCTION** (95 genes con expresión diferencial) p=0.047
Proportion.active [1] 0.3505535sdfg

39. \$HSA04540_**GAP_JUNCTION** (65 genes con expresión diferencial) p=0.048
Proportion.active [1] 0.3513514
40. \$HSA04720_**LONG_TERM_POTENTIATION** (51 genes con expresión diferencial) p=0.047
Proportion.active [1] 0.3377483
41. \$HSA04730_**LONG_TERM_DEPRESSION** (55 genes con expresión diferencial) p=0.047
Proportion.active [1] 0.3107345
42. \$HSA04916_**MELANOGENESIS** (92 genes con expresión diferencial) p=0.047
Proportion.active [1] 0.3914894
43. \$HSA05213_**ENDOMETRIAL_CANCER** (91 genes con expresión diferencial) p=0.049
Proportion.active [1] 0.3922414
44. \$HSA05216_**THYROID_CANCER** (56 genes con expresión diferencial) p=0.047
Proportion.active [1] 0.3916084
45. \$HSA05219_**BLADDER_CANCER** (89 genes con expresión diferencial) p=0.047
Proportion.active [1] 0.3692946
46. \$HSA05223_**NON_SMALL_CELL_LUNG_CANCER** (91 genes con expresión diferencial)
p=0.049 Proportion.active [1] 0.4312796

2. LISTA DE FIGURAS:

Fig 1. Análisis de expresión génica diferencial utilizando la hibridación con sondas marcadas con fluoresceína de chips del ADN del genoma humano que se unen con el ADN complementario de muestras de casos con la enfermedad y controles sanos, como uno de los métodos de screening para el estudio de las vías moleculares etiopatogénicas de las enfermedades y nueva herramienta de conocimiento y reinterpretación del cosmos.

Fig. 2 La expresión génica es modulada por factores genéticos (intrones, etc), epigenéticos (histonas, etc), del desarrollo (factores de crecimiento, etc) y de exposición ambiental (infecciones, alérgenos, tóxicos, fármacos, etc).

Fig 3. Las herramientas de valoración de la sobreexpresión génica diferencial y las “-ómicas” nos permiten detectar aquellos genes expresados diferencialmente. Son como las sílabas de un idioma que después se tiene que ordenar en palabras y frases (las vías moleculares), con sistemas de puntuación, sintaxis, gramática y usos convencionales y coloquiales, que lo conforman como idioma; es decir, dándoles una plausibilidad biológica (una explicación fisiopatogénica de acuerdo con los conocimientos existentes).

Fig 4. Puntos y conexiones cambiantes de sistemas complejos, representativos de las vías estimuladas en enfermedades complejas como la EPOC, cual redes neuronales o eléctricas con estimulación variable de las conexiones. Se trata de localizar aquellas vías más frecuentes y de importancia fisiopatológica y de aquellos puntos en ellas susceptibles de convertirse en dianas terapéuticas.

Fig 5. Interpretación de la integridad de las vías moleculares etiopatogénicas de la inmunidad primaria y secundaria, de la reparación celular y del mantenimiento de la homeostasis de enfermedades complejas como la EPOC (5A) en el contexto de la macrofisiología de la función pulmonar, de otros órganos y aparatos implicados, y de sus repercusiones sistémicas en general (5B). CPA: células presentadoras de antígeno. TH1 y 2: linfocitos T helper 1 y 2.

Fig 6. Relación de los resultados de estudios de replicación de genes candidatos con previa asociación en estudios de linkeage. Bossé Y. Updates in COPD Gene List. Int J Chron Obstruct Pulmon Dis. 2012; 7: 607–631. Published online 2012 Sep 18. doi: [10.2147/COPD.S35294](https://doi.org/10.2147/COPD.S35294) PMID: PMC3459654 (1).

Fig.7. Ejemplo de propuesta de estudio de la patogénesis de la EPOC y de las vías moleculares implicadas en la misma a partir de los genes asociados en estudios de asociación amplia de genoma

(GWAS) y asociación (linkeage) de genes candidatos replicados. Berndt A, Leme AS, Shapiro SD. Emerging genetics of COPD. EMBO Mol Med 2012; 4: 1144–1155. DOI 10.1002/emmm.201100627

Fig 8. Esquema simplificado del protocolo de extracción y procesado inmediato de las muestras de tejido pulmonar obtenidas del quirófano de Cirugía Torácica para su almacenamiento en el biobanco y posteriores estudios genéticos y estructurales histológicos.

Fig 9. Fase de trabajo en el diseño y configuración de las páginas web de la futura Plataforma Nacional de Biobancos de Tejido Pulmonar en Red de la Red Ciberres-Respira de la Sociedad Española de Neumología (SEPAR), que tras cambio en la dirección y control del Biobanco de Tejido Pulmonar del Hospital de Son Dureta, se declinó que presentáramos en el Congreso Nacional anual de SEPAR en Sevilla.

Fig 10. Megaproyectos en EEUU para el estudio de los fenotipos de la EPOC y su correlación con la expresión génica (COPD-Gene y Spiromics del National Heart Lung and Blood Institutes of Health).

Fig 11. Fenotipado pulmonar mediante el desarrollo de mayor resolución y nueva tecnología en la TAC torácica en los últimos años, con cuantificación y distribución espacial de las áreas de atenuación del fenotipo enfisema con predominio de afectación bronquial terminal y parenquimatosa alveolar, y la medida del grosor de la pared bronquial en el fenotipo bronquitis crónica-bronquiectasias con predominio de afectación obstructiva de las vías aéreas de conducción bronquial

Fig 12. Proceso propuesto por Han en EPOC, asemejando el camino recorrido ya en asma, recomendando el trabajo conjunto de clínicos y básicos (“translational research”) para la caracterización de fenotipos clínicos con marcadores y su subclasificación en endotipos con vías moleculares comunes de sobreexpresión preferencial.

Fig 13. Visiones diferentes clínica (coctelera sindrómica: resultados pronósticos) y básica (fenotipación pura: función de vías moleculares) que deben confluir y consensuarse para la detección de los endotipos o subgrupos con vías moleculares expresadas comunes susceptibles de dianas terapéuticas.

Que ante todo podamos ir dando respuestas, y aumentar el conocimiento, sobre los apasionantes mecanismos y vías moleculares subyacentes de la inmunidad, reparación celular, senescencia y homeostasis humanas, que hacen que ciertos individuos ante los mismos estímulos (por ejemplo el humo del tabaco) puedan ser más susceptibles y acabar desarrollando una u otras enfermedades pulmonares.

Fig 14. Distintas patologías como resultado de la susceptibilidad a la expresión de determinadas vías moleculares ante un mismo estímulo (ejemplo: el humo del tabaco) provocando distintas

enfermedades pulmonares: asma (especialmente ante la exposición fetal o infantil, con una predisposición genética atópica familiar, y ante la exposición a determinados alérgenos, polución o infecciones virales, con desarrollo de una respuesta inflamatoria preponderante Th2 con eosinófilos y mastocitos; la EPOC, con sus variantes enfisema y bronquitis crónica, con una inflamación predominante Th1 con macrófagos alveolares y neutrófilos, con destrucción del parénquima pulmonar o con expectoración crónica con o sin colonización bacteriana respectivamente; las enfermedades intersticiales relacionadas con el humo del tabaco (entre ellas la histiocitosis X, la bronquiolitis respiratoria, neumonitis intersticial linfoide, o incluso la fibrosis pulmonar).

Fig 15. Fenotipos clínicos pulmonares clásicos de la EPOC: EPOC tipo A (enfisema) y EPOC tipo B (bronquitis crónica). Como vemos son fenotipos extremos de la campana de Gauss, mientras la mayor parte de pacientes presenta una mezcla de características de ambos fenotipos.

Fig 16. Desarrollo actual a partir de la “hipótesis holandesa” rebatida del probable origen común de las neumopatías crónicas obstructivas en una supuesta enfermedad común (“neumopatía obstructiva crónica inespecífica”) con supuestas vías moleculares y causas genéticas compartidas. Actualmente se reconocen como entidades distintas con mecanismos etiopatogénicos, vías moleculares de expresión génica, histología, imágenes radiológicas por TAC y comportamiento funcional pulmonar y evolutivo clínico diferentes. No obstante, persisten entidades que comparten características mixtas de varias de ellas con abanicos de tonalidades que varían de unas a otras, en un sistema más complejo de lo que a priori pudiera parecer.

Fig 17. Importancia de las exacerbaciones de la EPOC y su impacto sobre los síntomas, calidad de vida, deterioro acelerado de la función pulmonar (caída del FEV1), desarrollo de nuevas agudizaciones y la mortalidad

Fig 18. Círculo vicioso infección-inflamación-daño celular que predispone a la cronificación del proceso con deterioro progresivo de la función pulmonar. Además, la colonización bronquial crónica de la vía aérea por microorganismos patógenos y por *Pseudomonas aeruginosa* y la presencia de bronquiectasias se ha relacionado con una caída acelerada del FEV1, empeoramiento de la calidad de vida y aumento de la frecuencia de agudizaciones.

Fig. 19 Modelo de Miguel Ángel Martínez et al. donde muestra la progresión del daño estructural y funcional de las bronquiectasias en el contexto de la colonización o infección crónica bronquial especialmente por *Pseudomonas aeruginosa*, sus descompensaciones por agudizaciones y la inflamación subyacente.

Fig. 20 Otros modelos sugieren la desregulación de los equilibrios entre la proliferación y apoptosis celular en contexto de disrupción de barreras físicas de defensa, como el epitelio bronquial en contexto de infecciones, estrés (oxidativo o no) o daño por lesión directa, como perpetuadores de enfermedades pulmonares inflamatorias crónicas.

Fig 21. Cohortes de Fletcher y Petto con la caída del FEV1 en fumadores y no fumadores y con caída acelerada en EPOC, sugiriendo el concepto de EPOCs susceptibles a desarrollar obstrucción bronquial crónica.

Fig 22. Representación gráfica de las 3 lesiones histológicas observadas en los pacientes con EPOC: la obstrucción bronquial por hipersecreción mucosa de la bronquitis crónica, la inflamación mucosa y peribronquial y fibrosis peribronquial de la bronquitis obliterante y de la bronquitis crónica (dependiendo de que nivel de ramificación bronquial hablemos), y la destrucción de las paredes alveolares, que a la vez son los amarres que mantienen la patencia de los bronquiolos más periféricos sin cartílago, impidiendo su colapso.

Fig.23. Se pueden observar estas mismas lesiones al microscopio óptico con cortes histológicos de pulmón humano teñidos con hematoxilina-eosina. Se observan lesiones características de bronquitis crónica y bronquiolitis obliterante, con infiltración inflamatoria de la mucosa y submucosa peribronquial, metaplasia escamosa epitelial por células caliciformes, hiperplasia de glándulas submucosas e hipertrofia del músculo liso peribronquial, que conducen a una obstrucción de la luz bronquial que se encuentra parcialmente ocluída por moco. A su vez, disrupción de los amarres o paredes alveolares con soluciones de continuidad entre los alvéolos (enfisema).

Fig 24 Comparación de cortes histológicos de pulmón no EPOC y EPOC

Fig 25. Representación esquemática de las lesiones previamente indicadas típicas de bronquitis crónica en los bronquios intermedios de 2 a 4 mm de diámetro, mostrando como característico el índice de Reid > 0.5

Fig 26. Cortes histológicos de enfisema pulmonar con agrandamiento y comunicación de los espacios alveolares.

Fig 27. Representación esquemática de las lesiones vasculares producidas en la EPOC, con disfunción endotelial, engrosamiento de la íntima con hiperplasia y fibrosis, y de la media por hipertrofia muscular y con infiltrado inflamatorio con predominio de macrófagos y linfocitos T CD8+.

Fig 28. Células más abundantes en la EPOC que a través de la producción de mediadores y la liberación de proteasas causan los daños estructurales de la EPOC que conducen al remodelado y obstrucción crónica progresiva de la vía aérea.

Fig 29. Principales células implicadas en las lesiones estructurales de la EPOC estable. Barnes. Lancet 2004.

Fig 30. Papel central del macrófago en la patogénesis de la EPOC, favoreciendo la quimiotaxis celular, la secreción bronquial, fibrosis y destrucción del parénquima pulmonar y la resistencia corticoidea. Barnes. J COPD 2004; 1: 59-70.

Fig 31. Producción por neumocitos tipo II, recaptación del espacio alveolar y catabolismo intramacrofágico del surfactante pulmonar. Se señalizan los trastornos que afectan a cada una de las fases.

Fig 32. Estimulación de los neutrófilos por otras células en la EPOC, mediante mediadores que se unen fundamentalmente a su receptor CXCR2, favoreciendo su quimiotaxis, adhesión y activación con liberación de radicales libres de oxígeno, enzimas proteolíticos y mieloperoxidasa.

Fig 33. Moléculas de adhesión de neutrófilos y células endoteliales.

Fig 34. La lesión del epitelio bronquial permite el contacto con células dendríticas subepiteliales de autoantígenos intracelulares de las células epiteliales o endoteliales necróticas opsonizados por heat shock proteins (HSP), o antígenos víricos o de las sustancias del humo del tabaco y de su combustión, así como radicales libres de oxígeno, que se presentan de forma cruzada ante la presencia de linfocitos T CD4+ y T CD8+, favoreciendo la proliferación de linfocitos T CD8+ por preponderancia Th1 de la inflamación que estimulará el acúmulo de macrófagos, neutrófilos y linfocitos T CD8+ citotóxicos en la zona.

Fig 35. Quimiotaxis de Linfocitos T con diferenciación a CD8+ y activación del linfocito T CD8+ citotóxico (Tc1) en la patogénesis del enfisema.

Fig 36. Modulación de la respuesta inflamatoria según la integridad del epitelio respiratorio y el predominio de la microbiota. Cuando abunda la propia flora orofaríngea simbiótica (*Lactobacillus* spp) el epitelio favorece la producción de reacciones antiinflamatorias, mientras que cuando ésta es desplazada por microorganismos potencialmente patógenos el epitelio desencadena reacciones inflamatorias que se cronifican en caso de colonización bronquial.

Fig 37. Epitelio pseudoestratificado respiratorio normal a nivel de tráquea y bronquios principales, con predominio de células ciliadas, con algunas células caliciformes entre ellas y células de Clara junto a la membrana basal. En EPOC existe una sustitución de las células ciliadas necróticas y lesionadas fundamentalmente por células caliciformes secretoras de mucina. También aumentan en número y tamaño las glándulas secretoras submucosas.

Fig 38. Representación gráfica de las principales uniones intercelulares: tight junctions, adherens junctions, desmosomas y GAP junctions. Esquema más detallado a la derecha de las adherens junctions, probablemente las más importantes para mantener el anclaje celular al citoesqueleto.

Fig 39. Activación de reacciones inflamatorias a partir del reconocimiento de patrones mediante los tol-like receptors en la membrana epitelial de la vía aérea.

Fig 40. Desbalances proteasas-antiproteasas y oxidantes-antioxidantes en la activación inflamatoria a partir del epitelio de la vía aérea.

Fig 41. Vías alternativas a la alérgica del asma extrínseco de estimulación de la inflamación mediada por eosinófilos, frecuentemente desencadenadas, como en la hiperreactividad bronquial y asma intrínseco de inicio adulto, por infecciones víricas o bacterianas o por el humo del tabaco, favoreciendo la hiperreactividad bronquial y aumento de inflamación con componente eosinofilo-neutrofilico en las agudizaciones. Sería interesante estudiar su papel en las agudizaciones también de la EPOC.

Fig. 42. Esquema simplificado de las acciones de las cito y quimiocinas en el pulmón. Tras estímulo, por ejemplo del humo del cigarrillo, las células epiteliales son dañadas, y el tejido o los macrófagos alveolares producen TNF-alfa que induce la producción de IL-8, GRO-alfa, MCP-1 y MIP-1. IL-8 y GRO-alfa también estimulan la migración de neutrófilos y linfocitos T al epitelio de la vía aérea. Ambos TNF-alfa e IL-8/GRO-alfa causan degranulación de neutrófilos y su explosión con producción y liberación de radicales libres de oxígeno que causan daño epitelial y a la matriz extracelular. MCP-1 y MIP-1 estimulan el influjo de monocitos/macrófagos. Alternativamente TNF-alfa puede también causar daño epitelial y muerte celular, metaplasia de células glandulares y/o hipersecreción mucosa. TNF-alfa puede estimular también la expresión de el factor de crecimiento epidérmico (EGF) que orquesta la reparación epitelial. IL-8/GRO-alfa y MCP-1 pueden estar implicados directamente en la reparación epitelial. Mono: monocito; neu: neutrófilo; macro: macrófago.

Fig 44. Representación de algunas de las hipótesis de desbalances en la EPOC (proteasas-antiproteasas, oxidantes-antioxidantes, inflamación-antiinflamación y apoptosis-antiapoptosis-proliferación celular).

Fig 45. Hipótesis planteada por Álvaro Agustí sobre los efectos sistémicos de la EPOC.

Fig 46. Nº de pacientes, edades medias y nº de mujeres del total de pacientes del biobanco con muestras enviadas para análisis de expresión génica diferencial, y de los EPOC y no EPOC de entre éstos.

Fig 47. Las dos terceras partes de los pacientes con EPOC eran exfumadores; y el otro tercio restante, fumadores activos.

Fig 48. Nº de pacientes, edad y nº de mujeres repartidos según fenotipos de hábito tabáquico combinados con espirometría en los pacientes con muestras del biobanco enviadas para expresión génica diferencial.

Fig 49. Proporción de pacientes según gravedad de la obstrucción por estadio GOLD (2COPD1,2,3,4).

Fig 50. Edad y nº de mujeres repartidos según estadio de obstrucción GOLD (2COPD1,2,3,4) en los pacientes del biobanco con muestras enviadas para expresión génica diferencial.

Fig 51. Dosis acumulada total de tabaco fumado (paquetes-año) comparada entre pacientes EPOC y no EPOC del biobanco con muestras enviadas para expresión génica diferencial.

Fig 52. Dosis acumulada total de tabaco fumado según grado de obstrucción GOLD (2COPD1,2,3,4) en los pacientes del biobanco con muestras enviadas para expresión génica diferencial.

Fig 53. Dosis acumulada total de tabaco fumada según fenotipos combinados de hábito tabáquico y espirometría de los pacientes del biobanco con muestras enviadas para expresión génica diferencial.

Fig 54. Comparación de grado de obstrucción (media de FEV1) entre los pacientes EPOC y no EPOC del biobanco con muestras enviadas para expresión génica diferencial.

Fig 55. Grado de obstrucción según FEV1 y FEV1 postbroncodilatador en los pacientes con muestras enviadas para expresión génica diferencial.

Fig 56. Grado de obstrucción según FEV1 y FEV1 postbroncodilatador de los distintos fenotipos combinados de hábito tabáquico y espirometría en los pacientes del biobanco con muestras enviadas para expresión génica diferencial.

Fig 57. Grado de obstrucción medidos por los valores medios de FEV1 y FEV1 postbroncodilatador de los pacientes distribuidos por estadios GOLD (CODP1,2,3,4) con muestras enviadas para expresión génica diferencial.

Fig 58. Comparación de la capacidad de difusión media (% medido del valor teórico) entre pacientes EPOC, no EPOC y totales del biobanco con muestras enviadas para expresión génica diferencial.

Fig 59. Comparación de valores medios de capacidad de difusión de monóxido de carbono (DLCO y KCO medidos en % de valor teórico) según estadios de obstrucción GOLD (2COPD1,2,3,4) de los pacientes del biobanco con muestras enviadas para expresión génica diferencial.

Fig 60. Comparación de valores medios de DLCO medida en % del valor teórico en los pacientes con EPOC, sin EPOC y con enfisema.

Fig 61. Proporción de pacientes fumadores y exfumadores entre los 21 EPOC de consultas externas de Neumología.

Fig 62. Edad media comparada de los 21 pacientes EPOC fumadores activos y exfumadores de consultas externas de Neumología del Hospital de Manacor.

Fig 63. Nº de mujeres repartidos entre los 21 EPOC fumadores y exfumadores de consultas externas.

Fig 64. Proporción de pacientes según estadio de obstrucción GOLD (1COPD1,2,3,4) en los EPOC de consultas externas.

Fig 65. Edad media de los pacientes EPOC de consultas externas distribuidos según estadio de obstrucción GOLD (1COPD1,2,3,4).

Fig 66. Distribución del nº de mujeres según estadios GOLD de gravedad.

Fig 67. DAT media grupos hábito tabáquico EPOC de consultas externas.

Fig 68. DAT media por grupos GOLD de los EPOC de consultas.

Fig 69. FEV1 medio por estadios GOLD de EPOC de consultas.

Fig 70. Nº pacientes con prueba broncodilatadora positiva entre estadios GOLD de EPOCs de consultas.

Fig 71. DLCO media estadios GOLD de pacientes EPOC de consultas.

Fig 72. Distribución del Nº de pacientes con enfisema entre EPOC fumadores y exfumadores y total.

Fig 73. Distribución de casos de enfisema entre estadios GOLD de pacientes EPOC de consultas.

Fig 74. Comparación de proporción de pacientes exfumadores y fumadores en los EPOC de consultas y del biobanco.

Fig 75. Proporción de enfisemas entre EPOCs de consultas y del biobanco.

Fig 76. Comparación de edad media entre EPOC de consultas y del biobanco.

Fig 77. Comparación % de FEV1 pre y postbroncodilatador medio de los EPOC de consultas y del biobanco.

Fig 78. Comparación del % de DLCO y KCO de los EPOC de consultas y del biobanco.

Fig 79. Proporción de enfisemas entre EPOC de consultas y del biobanco.

3. LISTA DE TABLAS:

Tabla 1. Lista de genes candidatos asociados con EPOC con referencias bibliográficas (adaptada de Bossé et al.).

Tabla 2: Asociaciones amplias de genes en GWAS con obstrucción pulmonar y EPOC (adaptado de Hardin et al.).

Tabla 3: Locus de susceptibilidad a EPOC en GWAS (adaptado de Bossé et al.).

Tabla 4. Nuevas dianas terapéuticas moleculares en la EPOC. Barnes PJ. Eur Resp Rev 2005.

Tabla 5. Nº de pacientes, edad y % de mujeres de los pacientes del biobanco con muestras enviadas a análisis de expresión génica diferencial.

Tabla 7. Comparación del nº de pacientes, edad y sexo entre los distintos fenotipos de combinación de función pulmonar espirométrica e historia tabáquica de los pacientes con muestras del Biobanco de Tejido Pulmonar almacenadas en 2005 y 2006 y enviadas para su análisis de expresión génica diferencial en 2008.

Tabla 8. Comparación de nº de pacientes, edad y sexo entre los distintos niveles de gravedad según grado de obstrucción GOLD dentro del grupo de fumadores no EPOC (2GOLD0) y EPOC (2GOLD1;2GOLD2;2GOLD3;2GOLD4) del biobanco con muestras enviadas para análisis de expresión génica diferencial.

Tabla 9. Distribución de la cantidad de tabaco fumada (dosis de tabaco acumulada total= DAT en paquetes año) entre los pacientes con EPOC y sin EPOC del biobanco con muestras enviadas para análisis de su expresión génica diferencial.

Tabla 10. Dosis acumulada total de tabaco fumado según estadio de obstrucción GOLD (2COPD1,2,3,4) de los pacientes del biobanco con muestras enviadas para expresión diferencial génica.

Tabla 11. Medias y desviaciones estándar de dosis acumuladas totales de tabaco fumadas según fenotipos combinados de hábito tabáquico y espirometría de los pacientes del biobanco con muestras enviadas para expresión génica diferencial.

Tabla 12 . Grado de obstrucción según FEV1 y FEV1 postbroncodilatador (pFEV1)

Tabla 13 . Distribución de la prueba broncodilatadora positiva entre EPOC y no EPOC.

Tabla 14 . Distribución del grado de obstrucción según FEV1 y FEV1 postbroncodilatador en relación con los fenotipos combinados de función pulmonar e historia de hábito de consumo tabáquico.

Tabla 15 . Distribución del grado de obstrucción según FEV1 y FEV1 postbroncodilatador en los distintos estadios GOLD.

Tabla 16. Difusión de monóxido de carbono entre los pacientes EPOC y no EPOC del Biobanco de Tejido Pulmonar del Hospital de Son Dureta con muestras enviadas para expresión génica diferencial.

Tabla 17. Comparación de los valores medios de difusión de monóxido de carbono (DLCO y KCO medidos en % del valor de referencia) según estadios de obstrucción GOLD (2COPD1,2,3,4) de los pacientes del biobanco con muestras enviadas para expresión génica diferencial.

Tabla 18. Difusión de CO (DLCO) entre los enfisemas y no enfisemas

Tabla 19 . Descripción del nº de pacientes, edad y mujeres en la población de 21 EPOC consecutivos de Consultas Externas del Hospital de Manacor en marzo de 2013.

Tabla 20. Comparación de la distribución de casos de enfisema entre los casos con EPOC de consultas y del biobanco.

4. RESUMEN / RESUM / SUMMARY

4.1. RESUMEN:

La parte central de este trabajo doctoral trata de nuestra puesta en marcha en 2005 del **Biobanco de Tejido Pulmonar del Hospital de Son Dureta** en Palma de Mallorca, y de nuestra experiencia en la adecuación de sus **bases de datos y protocolos**, y de las **bases de funcionamiento y páginas web** en 2006 de una **futura Red Nacional de Biobancos de Tejido Pulmonar de la Red Respira** de la Sociedad Española de Neumología y Cirugía Torácica (SEPAR).

Se presenta el **estudio piloto** aplicando nuestros protocolos del **biobanco**, con las **muestras de tejido pulmonar** de los primeros 100 pacientes consecutivos del mismo, para valorar las **vías moleculares de expresión génica diferencial de los pacientes EPOC** respecto a controles no EPOC, y los resultados del **estudio de asociación de expresión amplia de genoma (genome-wide association study: GWAS)** tras la extracción del ADN y la hibridación con sondas marcadas con fluoresceína de chips del ADN del genoma humano que se unen con el ADN complementario utilizando Agilent.

La EPOC se define actualmente por la Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease (GOLD) 2014 (413) como un **“padecimiento frecuente que es prevenible y tratable, caracterizado por una limitación persistente al flujo aéreo, que normalmente es progresiva y se asocia a una respuesta inflamatoria acentuada y crónica de las vías respiratorias y los pulmones ante la exposición a partículas o gases nocivos, más frecuentemente al humo del tabaco, polución o de la combustión de carbón o leña. Las exacerbaciones y las comorbilidades contribuyen a la gravedad general en cada paciente en lo individual”**. Actualmente es la 4^a causa de mortalidad en los EEUU y en los países industrializados, y se estima que se convierta en la 3^a causa en 2020 (2). Representa una importante carga asistencial, y de gasto sociosanitario, tanto por costes directos como indirectos, al ser una enfermedad progresiva y en muchos casos invalidante (2,3).

Evaluamos en primer lugar nuestras **bases de datos clínico-radiológico-funcionales** para valorar la **representatividad de los pacientes consecutivos** de los que se obtuvieron las muestras del biobanco para el estudio piloto y los posibles **sesgos epidemiológicos, clínico-radiológicos y funcionales** de los mismos en comparación con el grueso de pacientes EPOC que vemos en una consulta neumológica habitual.

Nuestros **resultados** reinciden en la importancia de ciertas vías moleculares sobreexpresadas que ya están siendo objetivo de las investigaciones sobre nuevas dianas terapéuticas en la EPOC. Comparamos así mismo nuestros resultados con los de otras experiencias similares, perseverando en las características diferenciales de los pacientes y métodos, y los comparamos también con las hipótesis patogénicas existentes.

Destaca la **importancia de vías etiopatogénicas moleculares comunes a varias células** o expresados en células concretas que son dianas terapéuticas para nuevos fármacos: Ciertos **receptores** como **CXCR3** (vía molecular iniciada a partir de dicho receptor CXCR3 localizado en linfocitos T CD8+ y responsables de su acúmulo en EPOC, pero también en eosinófilos, músculo liso y epitelio, que tienen también su papel en su patogenia) y **CCR4** (también en linfocitos T CD8+ y responsables de su acúmulo en EPOC). Otros **complejos de receptores acoplados a proteínas G** que presentan los mismos mecanismos moleculares en distintos lugares y células (los receptores betaadrenérgicos y muscarínicos colinérgicos bronquiales, responsables en ambos casos de la broncoconstricción e hiperreactividad bronquial, y en el segundo también de la hipersecreción mucosa). **Sistemas de transducción intracelular de las señales**, como la vía molecular de las **MAP kinasas** que representa todo un campo en el futuro inmediato de investigación en dianas terapéuticas para nuevos tratamientos. Vías moleculares de **interleucinas y mediadores** responsables de la inflamación crónica de la EPOC: interferón alfa (**IFN- α**), factor de necrosis tumoral (**TNF- α**) y **TGF- β** . Se discute el papel de otras interleucinas como la **IL-2, IL-3 e IL-5**, alternativas en EPOC al aumento de IL-1 β , IL-8, etc. Factores de crecimiento que moldean los equilibrios entre **reparación-apoptosis-fibrosis y angiogénesis**: factor de crecimiento epitelial (**EGF**: epithelial growth factor), vasculoendotelial (**VEGF**: vasculoendothelial growth factor), factor de crecimiento de derivados de plaquetas (**PDGF**: platelet derived growth factor), factor transformante del crecimiento (**TGF- β** : transforming growth factor beta), eritropoyetina (EPO), trombopoietina (TPO), etc. Así como la reincidencia en la importancia de vías moleculares del **citoesqueleto (TIGH y GAP junctions)**, **la matriz extracelular (INTEGRIN, M-CALPAÍN, MPR)** y del **surfactante**, con los equilibrios proteasas-antiproteasas u oxidante-antioxidante, y otras vías con implicación en la **afectación sistémica de la EPOC**.

En el **análisis secundario** comparativo de la expresión génica diferencial y de vías moleculares de los distintos **fenotipos de la EPOC: enfisema, bronquitis crónica, asmático, y subgrupos según consumo tabáquico**, se discute el porqué **no se obtuvieron resultados diferenciales** significativos, lo que se atribuye al **pequeño tamaño de muestra** de cada uno de ellos. Esto apoya la **necesidad** de la proliferación y creación de **redes de bancos de tejido pulmonar** que puedan aportar **tamaños muestrales mucho mayores** para poder conseguir un número de pacientes importante en cada grupo fenotípico puro en que se subdivide la muestra. Y la importancia de la **fenotipificación escrupulosa** para poder evaluar fenotipos puros, con definiciones de los mismos lo más objetivas, consensuadas y unificadas posibles, para que puedan tener vías patogénicas moleculares de expresión génica diferencial comunes.

Se discute también el hecho de que a pesar de que hubo una cantidad ingente de genes al borde de la significación en el análisis comparativo de genes aislados, no llegaron éstos a la misma, hecho que también se atribuye al tamaño de muestra y al hecho de que en una enfermedad compleja como la **EPOC, la mayoría de pacientes presentan múltiples polimorfismos que se pueden ver afectados pero de forma débil, pudiendo dar en conjunto alteraciones significativas en vías**

moleculares concretas. No obstante alteraciones con significación fuerte como el déficit de alfa 1 antitripsina mono cigoto sólo se ven en un número muy reducido de pacientes, siendo más bien la excepción.

Del mismo modo, se hace un comentario detallado sobre las **limitaciones del estudio**, y entre ellas, el **reducido tamaño muestral** y la **ausencia de confirmación de resultados del estudio con técnicas de replicación génica y marcaje estructural-funcional** de genes específicos, debido en gran parte a la **restricción al acceso a las muestras del biobanco tras cambio de manos** en la dirección del mismo, **criterios de inclusión-exclusión y fenotipado estrictos**, y valoración escrupulosa de la **calidad y cantidad del ADN extraído**.

El motivo por el cual puede ser atractivo este trabajo es como **experiencia piloto** en el **estudio y fenotipado de muestras pulmonares de biobanco de tejido pulmonar**, que pueda servir para valorar **dificultades, sesgos y características intrínsecas** que se deberían tener presentes a la hora de realizar estudios similares, poner en marcha experiencias paralelas o a partir de la nuestra propia de **redes de biobancos de tejido pulmonar**.

Así mismo, se propone la agrupación de las vías moleculares expresadas diferencialmente en algunas vías etiopatogénicas que pueden aportar luz sobre ciertos campos que precisan un estudio preferencial en el futuro inmediato para entender la patogenia de la EPOC y son subsidiarias de **dianas terapéuticas** a corto plazo.

En los capítulos introductorios previos al estudio se dan unas pinceladas sobre la evolución de las **hipótesis patogénicas de la EPOC**, y las implicaciones sobre las bases de datos del biobanco primero, la clasificación de los fenotipos clínicos del mismo después, y la clasificación de las vías moleculares expresadas diferencialmente.

En la discusión se proponen **mejoras sugeridas a raíz de la evolución tecnológica para el escrupuloso fenotipado de los pacientes de las redes de biobancos de tejido pulmonar**.

4.2. RESUM:

La part central d'aquest treball doctoral tracta de la nostra posada en funcionament en 2005 del **Biobanc de Teixit Pulmonar de l'Hospital de Son Dureta** a Palma de Mallorca, i de la nostra experiència en l'adequació de les seves **bases de dades i protocols**, i de les **bases de funcionament i pàgines web** en 2006 d'una **futura Xarxa Nacional de Biobancs de Teixit Pulmonar de la Xarxa Respira** de la Societat Espanyola de Pneumologia i Cirurgia Toràcica (SEPAR).

Presentem l'**estudi pilot** aplicant els nostres protocols del **biobanc**, amb les **mostres de teixit pulmonar** dels primers 100 pacients consecutius del mateix, per valorar les **vies moleculars d'expressió gènica diferencial dels malalts MPOC** respecte als controls no MPOC, i els resultats de l'**estudi d'associació d'expressió ampla de genoma (genome-wide association study: GWAS)** tras l'extracció de l'ADN i la hibridació amb sondes marcades amb fluoresceïna de xips de l'ADN del genoma humà que s'uneixen amb l'ADN complementari utilitzant Agilent Affymetrix.

La MPOC es defineix actualment per la Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease (GOLD) 2014 (413) com a un **"patiment freqüent que és prevenible i tractable, caracteritzat per una limitació persistent al fluxe aeri, que normalment és progressiva i la qual s'associa a una resposta inflamatòria accentuada i crònica de les vies respiratòries i dels pulmons davant la exposició a partícules o gasos nocius, més freqüentment al fum del tabac, pol·lució o de la combustió de carbó o llenya. Les exacerbacions i les commorbiditats contribueixen a la gravetat general en cada malalt individualment"**. Actualment es la 4^a causa de mortalitat als Estats Units i als països industrialitzats, i s'estima que esdevingui la 3^a causa en 2020 (1). Representa una important càrrega assistencial, i de despesa socio-sanitària, tant pels seus costos directes com indirectes, en ésser una malaltia progressiva i en molts casos invalidant (2,3).

Avaluem en primer lloc, les nostres **bases de dades clíniques-radiològiques-funcionals** per valorar la **representativitat dels malalts consecutius** dels què s'obtingueren les mostres del biobanc per a l'estudi pilot i els possibles **sesgos epidemiològics, clínic-radiològics i funcionals** dels mateixos en comparació amb el gruix de malalts MPOC que veiem a una consulta pneumològica habitual.

Els nostres **resultats** reincidenten en la importància de certes vies moleculars expressades diferencialment les quals ja estàn sent objectiu de les investigacions sobre noves dianes terapèutiques a la MPOC. Comparem així mateix els nostres resultats amb els d'altres experiències semblants, perseverant en les característiques diferencials dels malalts i els mètodes, i els comparem també amb les hipòtesis patogèniques existents.

Destaca la **importància de vies etiopatogèniques moleculars comunes a vàries cèl·lules** o expressades en cèl·lules concretes les quals són dianes terapèutiques per a nous fàrmacs: Certs **receptors** com **CXCR3** (via molecular iniciada a partir de dit receptor CXCR3 localitzat als limfòcits T i responsables de l'acumul dels limfòcits T CD8+ en MPOC, però també hi és als eosinòfils, múscul llis i a l'epiteli, els quals tenen també el seu paper en la seva patogènia) i **CCR4** (també als limfòcits T CD8+ i responsables de la seva acumulació a la MPOC). Altres **complexes de receptors acoplats a proteïnes G** que presenten els mateixos mecanismes moleculars en diferents llocs i cèl·lules (els receptors beta-adrenèrgics i muscarínics colinèrgics bronquials, responsables en tots dos casos de la broncoconstricció i hiperreactivitat bronquial, i al segon també de l'hipersecreció mucosa). **Sistemes de transducció intracel·lular de les senyals**, com la via molecular de les mitogen-activated kinases (**MAP kinases**) que representa tot un camp per al futur immediat de investigació en dianes terapèutiques per nous tractaments. Vies moleculars d'**interleuquines i mediadors** responsables de la inflamació crònica de la MPOC: interferó alfa (**IFN- α**), factor de necrosi tumoral alfa (**TNF- α**) i factor transformador del creixement beta (**TGF- β**). Es discuteix el paper d'altres interleuquines como la **IL-2, IL-3 e IL-5**, alternatives a l'MPOC al augment d'IL-1 β , IL-8, etc. Factors de creixement que modelen els equilibris entre **reparació-apoptosi-fibrosi i angiogènesi**: factor de creixement epitelial (**EGF**: epithelial growth factor), vasculo-endotelial (**VEGF**: vasculoendothelial growth factor), factor de creixement dels derivats plaquetars (**PDGF**: platelet derived growth factor), factor transformador del creixement beta (**TGF- β** : transforming growth factor beta), eritropoietina (**EPO**), trombopoietina (**TPO**), etc. Així com la reincidència en la importància de vies moleculars del **citoesquelet (TIGR y GAP junctions)**, la **matriu extracel·lular** (INTEGRIN, M-CALPAÍN, MPR) i del **surfactant**, amb els equilibris de proteases-antiproteases o oxidant-antioxidant, i d'altres vies amb implicació a l'**afectació sistèmica de la MPOC**.

A l'**anàlisi secundari** comparatiu de la expressió gènica diferencial i de vies moleculars dels diferents **fenotips de la MPOC: enfisema, bronquitis crònica, asmatiform, i subgrups segons consum tabàquic**, es discuteix el perquè **no s'obtingueren resultats diferencials** significatius, la qual cosa s'atribueix al **reduït tamany de la mostra** de cadascun d'ells. Això recolça la **necessitat** de la proliferació i creació de **xarxes de bancs de teixit pulmonar** que puguin aportar **tamanys muestrals molts majors** per poder aconseguir un número de malalts important a cada grup fenotípic pur en què es subdivideix la mostra. I la importància de la **fenotipificació escrupul·losa** per poder avaluar fenotips purs, amb definicions dels mateixos el més objectives, consensuades i unificades possibles, per a que puguin compartir vies patogèniques moleculars d'expressió gènica diferencial comunes.

Es discuteix també el fet de que a pesar de què hi va haver una gran quantitat de gens al bord de la significació a l'anàlisi comparatiu de gens aïllats, no arribassin aquests a la mateixa, fet que també s'atribueix al tamany de muestral i al fet de què a una malaltia complexa como ho és la **MPOC, la majoria de malalts presenten múltiples polimorfismes els quals es poden veure afectats**

però de forma dèbil, podent donar en conjunt alteracions significatives en vies mol.leculars concretes. No obstant, alteracions amb significació forta com el dèficit d'alfa 1 antitripsina monozigot tan sols es veuen en un número molt reduït de malalts, sent més bé la excepció.

Del mateix mode, es fa un comentari detallat sobre les **limitacions de l'estudi**, i entre d'elles, sobre el **reduit tamany muestral** i l'**absència de confirmació de resultats de l'estudi amb tècniques de replicació gènica i marcatge estructural-funcional** de gens específics, degut en gran part a la **restricció al accés a les mostres del biobanc tras canvi de mans** a la direcció del mateix, **criteris de inclusió-exclusió i fenotipat estrictes**, i valoració escrupul.losa de la **qualitat y cantitat de l'ADN extret**.

El motiu pel qual pot ésser atractiu aquest treball és com a **experiència pilot** a l'**estudi i fenotipat de mostres pulmonars de biobanc de teixit pulmonar**, què pugui servir per valorar **dificultats, sesgos i característiques intrínseques** que caldria tindre presents a l'hora de realitzar estudis similars, posar en marxa experiències paral.leles o, a partir de la nostra pròpia, de **xarxes de biobancs de teixit pulmonar**.

Així mateix, es proposa l'agrupació de les vies mol.leculars expresades diferencialment en algunes vies etio-patogèniques que puguin aportar lum sobre certs camps que necessiten d'un estudi preferencial al futur immediat per entendre la patogenia de la MPOC i que són subsidiàries de **dianes terapèutiques** a curt plaç.

Als capítols introductoris previs a l'estudi es donen unas pinzellades sobre la evolució de les **hipòtesis patogèniques de la MPOC**, i sobre les implicacions en la conformació de les bases de dades del biobanc primer, la classificació dels fenotips clínics del mateix després, i la classificació de les vies mol.leculars expresades diferencialment.

A la discussió es proposen **millores suggerides arrel de l'evolució tecnològica per a l'escrupul.lós fenotipat dels malalts de les xarxes de biobancs de teixit pulmonar**

4.3. SUMMARY:

The body of this doctorwork deals with our beginnings, firings and fuelings by 2005 of the Lung Tissue Biobank of Son Dureta Hospital in Palma de Mallorca, and our experience on the adequation of its databases and protocols, and the operational grounds and webpages in 2006 of a future National Network of Lung Tissue Biobanks for the Respira Web Network of the Spanish Pneumonological Society (SEPAR).

Our **pilot study** applying our protocols of the **biobank** is reported. The first 100 consecutive patients of the biobank were assessed for inclusion criteria for processing their **lung tissue samples** in order to compare the **differential genetics' and molecular pathways' expression of COPD patients and COPD phenotypes** versus non-COPD controls. A **genome-wide association study (GWAS)** was conducted after DNA extraction, quality test and quantification protocols performance, with the hybridation with fluorescein-marked probes of whole human genome, binding the complementary DNA of our biobank samples by using the Agilent technology and ROAST biostatistics for informatic interpretation of the results.

COPD is currently defined by the Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease (GOLD) 2014 (413) as *"a common preventable and treatable disease, characterized by persistent airflow limitation that is usually progressive and associated with an enhanced chronic inflammatory response in the airways and the lung to noxious particles or gases. Exacerbations and comorbidities contribute to the overall severity in individual patients.* COPD is a leading cause of morbidity and mortality worldwide (becoming 3rd in 2020) and results in an economic and social burden that is both substantial and increasing (1-3). Inhaled cigarette smoke and other noxious particles such as smoke from biomass fuels cause lung inflammation, a normal response that appears to be modified in patients who develop COPD. This chronic inflammatory response may induce parenchymal tissue destruction (resulting in emphysema), and disrupt normal repair and defense mechanisms (resulting in small airway fibrosis). These pathological changes lead to air trapping and progressive airflow limitation, and in turn to breathlessness and other characteristic symptoms of COPD.

Firstly, our **clinic-radiologic-lung funcional databases** were assessed for the **representativity** of the **COPD patients** from our consecutive patients of the biobank included for the pilot study compared to the usual COPD population profile attending our diary ambulatory clinic of a comarcal hospital. Possible **epidemiological, clinic-radiological and funcional biases** are being discussed.

Our results highlight the importance of several **differentially expressed molecular pathways in COPD**. Structural or functional, many of them are a recent focus for research as targets for **new treatment developments**. Other studies on COPD genetic differential expression are compared

with ours, insisting on the different profile of COPD population and phenotypes represented and methods used. Related existing COPD **pathogenic hypotheses** are also exposed.

Structural molecular pathways commonly expressed by different cell types are shown to be differentially expressed and highly important in COPD as new therapeutical targets. Some are **receptors**. For instance, **CXCR3** is located at T-cells' membrane and is responsible for the characteristic accumulation of CD8+ T-cells in COPD airways and parenchyma, but they are present at eosinophils', smooth muscle and epithelial cells' membranes too, playing other different roles in COPD pathogenesis. Or **CCR4** at CD8+ T-cell membrane and also involved in their accumulation in COPD. **G-protein coupled receptors (GPCR)** are likewise expressed in several cells or are constitutive of specific pathways, i.e. at bronchial beta-adrenergic and muscarinic cholinergic receptors, responsible both for bronchial contraction and hiperreactivity, and the second for mucus hypersecrecion too. **Intra-cellular transduccion signal mechanisms**, such as protein-phosphorilations using common molecular pathways of mitogen-activated kinases (**MAP kinasas**) are shared in many cells and pathways, representing a huge field for immediate future research on new targets for developing medications. Infalmatory pathways of several **interleukines and mediators** are responsible for the persistance of chronic inflammation in COPD: interferon-alfa (**IFN- α**), tumoral necrosis factor alfa (**TNF- α**) and transforming growth factor beta (**TGF- β**). The role of other differentially expressed interleukines such as **IL-2, IL-3 e IL-5**, eosynophilic related alternatives in COPD to its characteristic inflammation with increases in IL-1 β and IL-8. Growth factors regulating cell repair-apoptosis-fibrosis imbalances or angiogenesis: vasculo-endothelial growth factor (**VEGF**), platelet derived growth factor (**PDGF**), transforming growth factor beta (**TGF-b**), eritropoietin (**EPO**), trombopoietin (**TPO**), etc. Structural and functional importance of **citostkeleton (TIGH and GAP junction pathways), extracellular matrix (INTEGRIN, M-CALPAÍN, MPR)** and the **surfactant**, and their changes with protease-antiprotease and oxidant-antioxidant desbalances, are all underlined. Some **pathways with likely systemic compromise** differentially expressed in COPD are also discussed.

As **secondary outcome, COPD phenotypes' differential molecular pathway expression** was attempted to be assessed for the **emphysemas', chronic bronchitis', asthmatic COPDs'** patients of our samples, and specific subgroups attending to the **smoking consumption** pattern, with **no different results**.

Small sample size after splicing the sample into subgroups of phenotypes might likeky be the cause for these negative results.

This made us support the idea and the **need** of creating, implementing and spreading **lung tissue biobank web networks** which could have bigger numbers of patients with **much higher sample sizes** when splicing for phenotypes. And highlights the importance of a **scrupulous characterization of the phenotypes** trying to achieve to get their purest possible traits' profile,

with their most current objective, consensed and unified definitions possible, expecting that they could share common differentially expressed molecular pathways.

There is discussed the fact that, contrarily to what happened with our previously reported results with significative differential expression in COPD of groups of genes asambled by pathways, gene to gene differential expression lacked achieving statistical significance, despite of having plenty of them at the threshold. Again small sample size might be the reason, and the fact of coping with a complex disease like COPD, where most of the patients might probably carry multiple polymorphisms with modest or weak effect, which could only interphere in specific pathways. Meanwhile, sheldom abnormalities with strong effects such as alpha-1 antitrypsine defficiency are really rarely excepcional, needing a huge amount of patients for finding them.

Likewise, possible **limitations** of the study are being extensively discussed, among them the **small sample size** and the **absence of confirmatory studies with genetic replication techniques or structural-funcional markage** of pathways on histology. This might be due to **restriction by denial to access to biobank samples** after changing hands of its direction, **strict inclusion-exclusion and phenotyping criteria**, and **careful assessment of quality and quantity controls of DNA extracted** for the microarrays.

The reason why this doctorwork might be attractive could be as **pilot experience** in the **study and phenotyping of lung tissue biobank samples**, as an example for assessing its **difficulties, biases and intrinsic characteristics** to be taken into account for conducting similar studies, firing and fueling paralel experiences or following ours, for the oncoming **lung tissue biobank web networks** studying COPD and its phenotypes.

It has being suggested to group differentially expressed molecular pathways in COPD into etiopathogenic groups of interest that could bring some light to fields needing preferential research on COPD in immediate future for explaining its pathogenesis, or as possible **therapeutic targets** in short term.

The introductory chapters before the study handle the current, past and near future **hipotheses and evolving fields on the etiopathology of COPD** and their involvement in designing the databases of the biobank first, classification of its clinic phenotypes second, and of the differentially expressed molecular pathways third.

On the discusion some improvents are suggested accounting for the new developments of technology, especially in Computed Tomography for further scrupulous phenotyping of patients, which should be included in the lung tissue biobank web Networks studying COPD phenotypes.

5. INTRODUCCIÓN:

NUEVAS HERRAMIENTAS GENÉTICAS. PASADO, PRESENTE y FUTURO EN EL ESTUDIO DE LA PATOGÉNESIS DE LA EPOC.

5.1 Nuevas herramientas genéticas: Presente y futuro inmediato del estudio de la patogénesis de la EPOC

5.1.1. La codificación del Genoma Humano y las técnicas de hibridación para el estudio de la expresión génica y vías moleculares de enfermedades complejas:

Parfraseando las famosas palabras de Neil Armstrong cuando daba su primer paso sobre la superficie lunar de: “es un pequeño paso para el hombre, pero un gran salto para la humanidad”; también la codificación y secuenciación completa del genoma humano (416) ha representado eso, un hito para la ciencia, y una revolución para la medicina, al abrirse la posibilidad del estudio meticuloso de los mecanismos etiopatogénicos de las enfermedades y de tratamientos más específicos personalizados dirigidos a vías moleculares concretas.

Ello, desde luego, nos proporciona las herramientas para un estudio detallado del mundo desde los mecanismos, desde el microcosmos de los pequeños detalles que van conformando poco a poco el macrocosmos del todo.

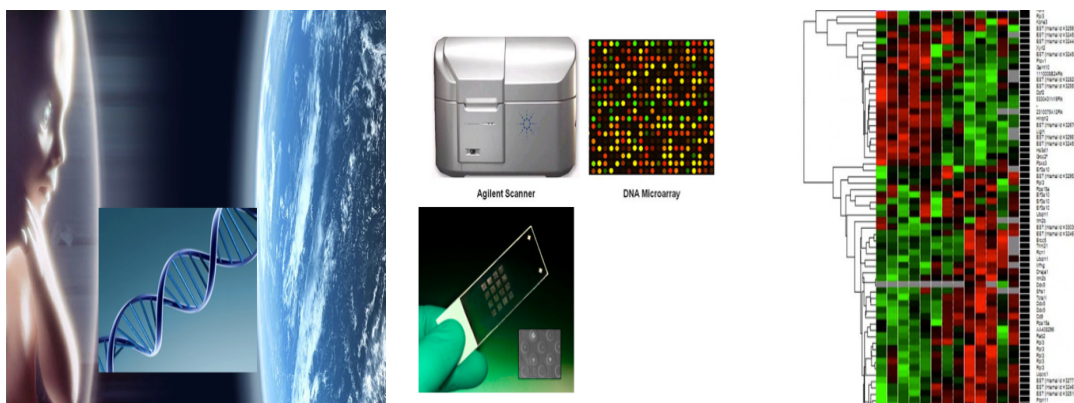


Fig 1. Análisis de expresión génica diferencial utilizando la hibridación con sondas marcadas con fluorescencia de chips del ADN del genoma humano que se unen con el ADN complementario de muestras de casos con la enfermedad y controles sanos, como uno de los métodos de screening para el estudio de las vías moleculares etiopatogénicas de las enfermedades y nueva herramienta de conocimiento y reinterpretación del cosmos.

Un **chip de ADN** (*DNA microarray*) (417) es “una superficie sólida a la cual se une una colección de fragmentos de ADN. Las superficies empleadas para fijar el ADN son muy variables y pueden ser de vidrio, plástico e incluso de silicona (418). Los chips de ADN se usan para analizar la expresión diferencial de genes, y se realiza el filtrado o despistaje (*screening*) de manera simultánea de los

niveles de miles de ellos. Su funcionamiento consiste, básicamente, en medir el nivel de hibridación entre la sonda específica (*probe*), y la molécula diana (*target*), y se indican generalmente mediante fluorescencia y a través de un análisis de imagen, lo cual indica el nivel de expresión del gen. Suelen utilizarse para identificar genes con una expresión diferencial en condiciones distintas. Por ejemplo, para detectar genes que producen ciertas enfermedades mediante la comparación de los niveles de expresión entre células sanas y células que están desarrollando ciertos tipos de enfermedades”. Con el chip de ADN se pasó de la “era génica” (gen a gen, de 1 en 1) a la “era genómica” (expresión diferencial en bloque).

No obstante, y aunque se pudiera considerar el uso de nuevas herramientas de comparación de la expresión génica con el genoma humano normal, sobre todo con el uso de la hibridación en microarrays con sondas marcadas con fluoresceína sobre chips del genoma humano, y las otras nuevas “-ómicas”, como lo que fuera otrora la piedra Rosetta en la Egiptología como llave para empezar a descifrar sus jeroglíficos, éstas no hacen más que eso, detectar expresión génica diferencial.

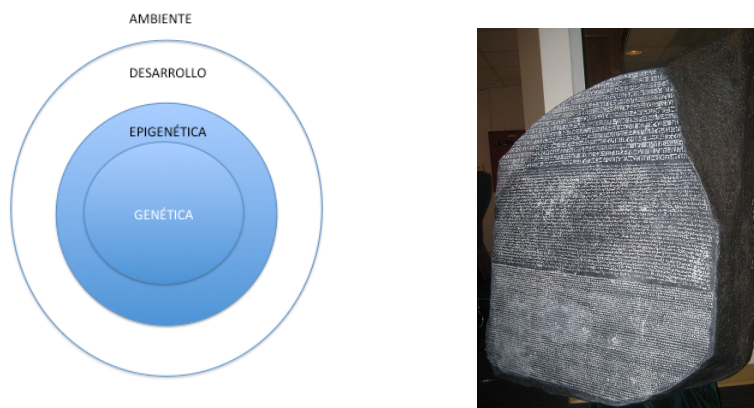


Fig. 2 La expresión génica es modulada por factores genéticos (intrones, etc), epigenéticos (histonas, etc), del desarrollo (factores de crecimiento, etc) y de exposición ambiental (infecciones, alérgenos, tóxicos, fármacos, etc).

Es como poder leer (con esas sondas de hibridación del genoma), las sílabas de las palabras que se encuentran inscritas sin puntuación en griego clásico en los pilares de Olimpia, donde se tiene la capacidad de decidir dónde y cuándo empieza cada una. Que según como juntes o separes esas sílabas obtienes las palabras, de hecho siempre existe esta posibilidad de separación diferencial (“splicing”) de la información genética, regulada según se activen intrones o ciertos factores epigenéticos (histonas, etc).



Fig 3. Las herramientas de valoración de la sobreexpresión génica diferencial y las “-ómicas” nos permiten detectar aquellos genes expresados diferencialmente. Son como las sílabas de un idioma que después se tiene que ordenar en palabras y frases (las vías moleculares), con sistemas de puntuación, sintaxis, gramática y usos convencionales y coloquiales, que lo conforman como idioma; es decir, dándoles una plausibilidad biológica (una explicación fisiopatogénica de acuerdo con los conocimientos existentes).

Y obtenidas esas palabras (la expresión génica), éstas deben combinarse atendiendo a una gramática, a una sintaxis, a una ortografía y a unos usos dialectales y populares habituales preponderantes para poder formar un idioma (la etiopatogenia de la enfermedad).

Es decir, que para unir esos puntos (las palabras, núcleos o “hubs”) de sistemas complejos (419) (lenguaje), que representan esos genes expresados diferencialmente, se debe de realizar un trabajo exhaustivo de campo de clasificación atómico-molecular de la expresión génica en vías moleculares expresadas diferencialmente y explicar la plausibilidad biológica de los resultados. Para ello, se precisa también dar dicha explicación etiopatogénica mediante la comparación con los estudios y conocimientos preexistentes, de estudios de expresión génica (de asociación –linkeage o de expresión amplia del genoma – genome wide association studies), o bien de estudios de replicación génica o estructurales con expresión génica marcada con inmunofluorescencia, y de vías moleculares con ratones Knock out (con ausencia de ciertos genes).

En el caso de la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), también se debe correlacionar con los datos existentes de estudios clínico-radiológico-funcionales, de fenotipos clínicos, de

inflamación de esputo, esputo inducido y biopsias pulmonares, y citometría de flujo, y con el cuerpo de bibliografía existente sobre la patogenia de la enfermedad y de caracterización de las estirpes celulares implicadas más significativas del proceso.



Fig 4. Puntos y conexiones cambiantes de sistemas complejos, representativos de las vías estimuladas en enfermedades complejas como la EPOC, cual redes neuronales o eléctricas con estimulación variable de las conexiones. Se trata de localizar aquellas vías más frecuentes y de importancia fisiopatológica y de aquellos puntos en ellas susceptibles de convertirse en dianas terapéuticas.

Precisa imbrincarse en los mecanismos de la inmunidad primaria celular y la adaptativa, de reparación celular y de homeostasis, intrínsecos del individuo, que pueden presentar variabilidad inter e intraindividual de base o en el tiempo y que reaccionan de diversas maneras ante distintas enfermedades, exposiciones ambientales o agresiones (tóxicas, químicas, alérgicas, infecciosas).

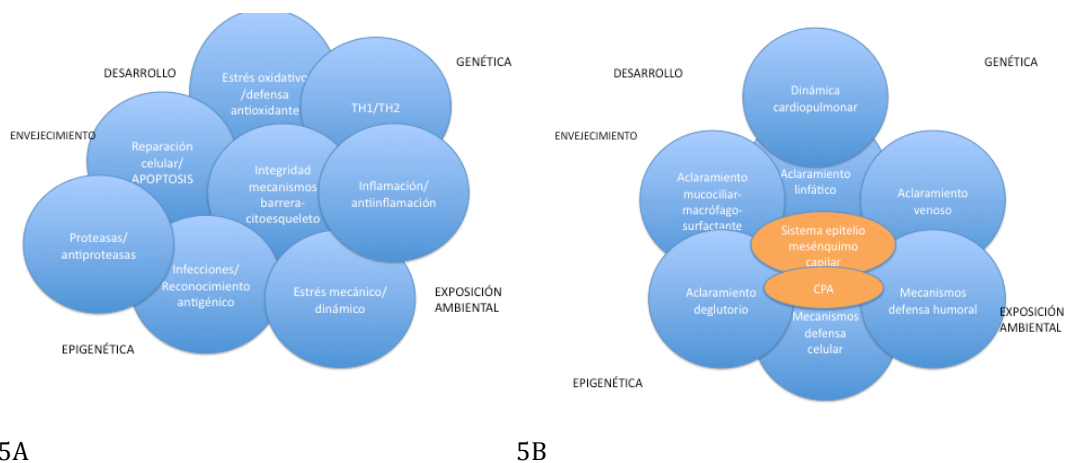


Fig 5. Interpretación de la integridad de las vías moleculares etiopatogénicas de la inmunidad primaria y secundaria, de la reparación celular y del mantenimiento de la homeostasis de

enfermedades complejas como la EPOC (5A) en el contexto de la macrofisiología de la función pulmonar, de otros órganos y aparatos implicados, y de sus repercusiones sistémicas en general (5B). CPA: células presentadoras de antígeno. TH1 y 2: linfocitos T helper 1 y 2.

Se debe tener en cuenta que la expresión génica representa una foto de un momento único y que las enfermedades pueden tener una evolución o cursar con brotes. A su vez, enfermedades complejas como lo es la EPOC pueden tener fenotipos de presentación diferentes.

Del mismo modo, la comparabilidad de los estudios de expresión génica diferencial dependerá del momento, estadio, fenotipo y tipo de muestra utilizados.

5.1.2. Estudios de expresión génica en EPOC.

Hasta ahora en EPOC han predominado estudios ampliados de expresión de genoma (GWAS: genome-wide association studies) y de genes candidatos en asociación (linkage) apoyados por estudios de replicación génica o funcionales en estirpes celulares extraídas del tejido pulmonar de biopsias o de estudios en modelos animales, generalmente ratones, expuestos al humo del tabaco u otras toxas químicas, con comparaciones groseras atendiendo a definiciones funcionales de la enfermedad (EPOC vs no EPOC basados en espirometría: cociente FEV1/FVC o FEV1; a veces filtrados o no por factores de confusión como asma o historia tabáquica; no de bronquiectasias) sin atenderse a la expresión diferencial de fenotipos concretos más puros, y mezclando pacientes con características fenotípicas muy diversas y en estadios diferentes de la enfermedad para conseguir amplias muestras de pacientes (n), incluso a veces incorporando resultados obtenidos de muestras diferentes para el análisis de la expresión génica (tejido pulmonar, sangre, esputo), cuya valoración debería ser diferente.

Un ejemplo de esto es la mezcla de estudios en tejido pulmonar de pacientes con enfisema avanzado intervenidos por resección de bullas (NETT: National Emphysema Treatment Trial) con estudios de susceptibilidad genética en fases precoces de desarrollo de la EPOC en fumadores.

La interpretación y comparabilidad de los resultados es, por ello, en ocasiones confusa y complicada, debido a la necesidad de una clasificación más precisa en grupos diferenciados de características concretas (fenotipos), con un mismo tipo de muestras y en estadios de la enfermedad similares.

No obstante, conseguir valorar las diferencias en el tiempo de expresión génica diferencial evolutivamente en muestras de tejido pulmonar con obtención de biopsias repetidas no es ético en humanos, lo cual sólo lo hace viable en modelos de experimentación animal con ratones con exposición progresiva al humo de tabaco (smoked mice).

En biobancos de tejido pulmonar dependen no obstante de las muestras consecutivas de pacientes de quirófano con estadios y características sesgadas por el motivo de la intervención (cánceres, resección u otros) y por ser tributarios o candidatos funcionales a la misma, generalmente en estadios más iniciales que permitan la operabilidad de los pacientes; o en caso de resección de bullas de enfisema o trasplante pulmonar, en estadios más avanzados o terminales de la enfermedad que permitan dichas indicaciones.

5.1.2.1. Estudios de asociación génica (linkage) con genes candidatos en EPOC:

Se cree que la EPOC es una enfermedad compleja con **múltiples polimorfismos o variantes de susceptibilidad genética de efecto modesto** cada una y/o **raras variantes de gran efecto**, creando en conjunto todo un abanico de fenotipos (420).

De hecho, solamente, como variante de **susceptibilidad rara de gran efecto**, el gen **SERPINA 1** que codifica para el **déficit homocigoto de alfa 1 antitripsina** grave, ha demostrado una **asociación fuerte con susceptibilidad a EPOC**, riesgo de enfermedad pulmonar (enfisema panacinar) y hepática.

Por lo demás, más de **192 genes** se han relacionado con la patogénesis de la EPOC en **estudios de genes candidatos y de linkage o asociación genómica** (4,6-8,151,420,421), pero con resultados **controvertidos** no irrefutables sobre su **replicabilidad** y reproductibilidad en muchos casos. Sólo **SOD3** (4,5,8,90,91,364,367-370) además de **SERPINA1**(14,76,308-336), han presentado estudios de replicabilidad en todos los casos positivos. En cuanto al resto, SERPINA 1 y otros 6 han sido los más repetidos, con más de 10 estudios cada uno, aunque con resultados de replicabilidad variables (excepto en SERPINA 1): **SERPINA 1** (14,76,308-336), **TNF** (5,6,8,11,83,120,146,147,149,151,155, 230, 233-238,248,250,262,268-275,390-403), **GSTM1** (5,7,8,90,127,130,146-148, 161,164,165,169,192-206), **GSTP1** (5,8,11,69,77,90,127,130,146,148,151,213,214), **EPHX1** (5,8,77,83,127,130,146-176), **ADRB2** (71-83), **TGFB1**(5,8,30,69,77,146,149,151,384). Ello también denotaba sesgos sobre vías moleculares concretas hacia dónde iban dirigidos los estudios al creerse relacionadas con la patogénesis de la EPOC: **proteasas-antiproteasas, inflamación-antiinflamación, oxidantes-antioxidantes**, etc

La **plausibilidad biológica** se intentaba demostrar en muchos casos por **estudios funcionales o estructurales de expresión y/o de replicación y mapeo génico** prioritariamente también sobre el tejido pulmonar humano, células extraídas de muestras biópsicas de tejido pulmonar, o en su defecto, sobre tejido pulmonar en modelos de experimentación animal, fundamentalmente de ratones expuestos a condensado del humo de tabaco, en algunos casos con ratones knocked-out para estudio funcional de vías moleculares complejas.

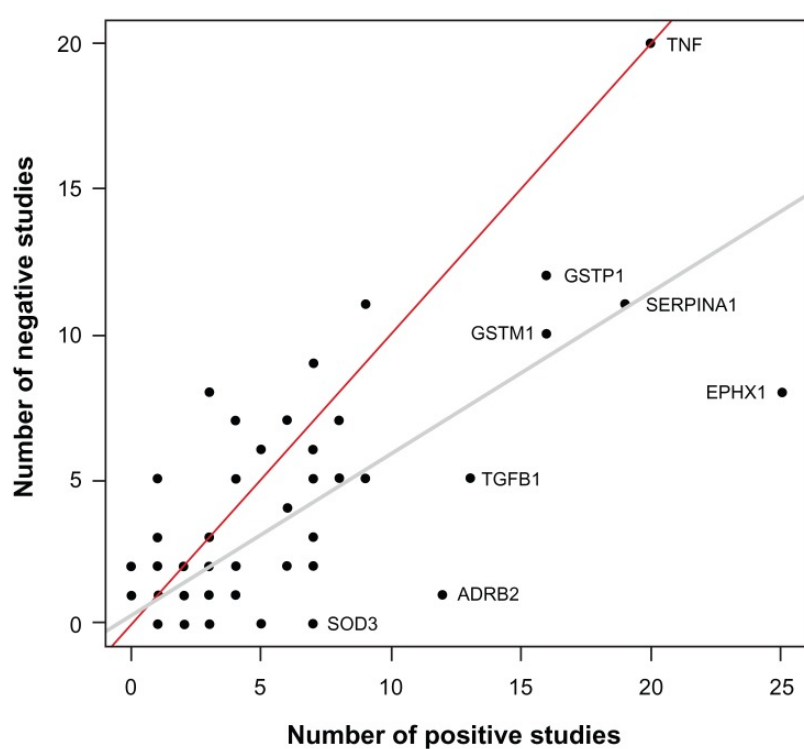


Fig 6. Relación de los resultados de estudios de replicación de genes candidatos con previa asociación en estudios de linkage. Bossé Y. Updates in COPD Gene List. Int J Chron Obstruct Pulmon Dis. 2012; 7: 607–631. Published online 2012 Sep 18. doi: [10.2147/COPD.S35294](https://doi.org/10.2147/COPD.S35294) PMID: PMC3459654 (420).

Metanálisis de estos estudios de genes candidatos se han realizado sobre vías moleculares distintas: inflamación (IL4, IL6, IL1B, IL1RN, LTA, TNF y TGFB1), proteasas-antiproteasas (MMP9, TIMP2 y SERPINA3), estrés oxidativo (GSTM1, GSTP1, GSTT1, EPHX1, SOD2 y SOD3), y otros (ECA y ADRB2). Sólo **GSTM1** se ha asociado de forma consistente a EPOC en más de un estudio, y **TNF**, pero exclusivamente en población asiática

Lista de genes candidatos asociados con EPOC (adaptado de 420):

Símbolo	Nombre	Cromosoma	Referencias			
			Estudios aislados		Metaanálisis	
			Posit	Negat	Posit	Negat
A2M	Alfa-2 macroglobulina	12	51			
ABCC1	ATP-binding cassette subfamilia C (CFTR/MRP) miembro 1	16	51-54			
ACE	Angiotensin I converting Enzyme (peptidil dipeptidasa A) I	17	55-60	61-62	5	
ADAM33	Metalopeptidasa ADAM dominio 33	20	63-68	69-70		
ADRB2	Receptor β -2 adrenérgico de superficie	5	71-82	83	5, 83	
ALOXAP	Proteína activadora del ácido araquidónico 5 lipoxigenasa	13	84			
AQP5	Acuaporina 5	12	85-86			
BCL2	Oncogen linfocitos B leucemia linfática crónica y linfoma 2	18	87			
BDKRB2	Receptor B2 bradiquinina	14	88			
CASP10	Caspasa 10 cisteína peptidasa relacionada con apoptosis	2	89			
CAT	Catalasa	11	90	91, 92		
CCL5 (RANTES)	Ligando 5 de la quimioquina (C-C motif)	17	93	79		
CCR2	Receptor 2 de la quimiocina (C-C motif)	3	94			
CD14	Molécula CD14	5	95, 96			
CD40	Molécula CD40 superfamilia de receptores TNF	20	97			
CD63	Molécula CD63	12	98			
CD86	Molécula CD8	3	99			
CHI3L I	Chitinasa tipo 3 I (glicoproteína-39 de cartílago)	1	111			
CHRNA3	Receptor colinérgico nicotínico α -3 neuronal	15	26,30,32,112,113			

Símbolo	Nombre	Cromosoma	Referencias			
			Estudios aislados		Metaanálisis	
			Posit	Negat	Posit	Negat
CHRNA5	Receptor colinérgico nicotínico α -5 neuronal	15	26,30,31,112,113			
CLCA 1	Canal de cloro accesorio I	1	114			
COL4A3	α -3 colágeno tipo IV (antígeno Goodpasture)	2	115			
CRP	Proteína C reactiva relacionada con pentraxina	1	116	117-119		
CSF2	Factor 2 estimulador de colonias (granulocitomacrofágicas)	5	120	121		
CSF3	Factor 3 estimulador de colonias (granulocitomacrofágicas)	17	121			
CTLA4	Proteína 4 asociada a Linfocito T citotóxico	2	99,122,123			
CTSS	Catepsina S	1	124			
CYBA	Citocromo b-245 Polipéptido α	16	125			
CYP 1A1	Citocromo p450 familia 1, subfamilia A polipéptido 1	15	125-128	129-130		
CYP 1A2	Citocromo p450 familia 1, subfamilia A polipéptido 2	15	129-131	125-128		
CYP2E 1	Citocromo p450 familia 2, subfamilia E polipéptido 1	10	127-132	130		
CYP2F 1	Citocromo p450 familia 2, subfamilia F polipéptido 1	19	133			
CYP3A 5	Citocromo p450 familia 3, subfamilia A polipéptido 5	7	134			
DEFB 1	Defensina β 1	8	135,136	137		
DEFB4A	Defensina β 4A	8	138			
EDN 1	Endotelina 1	6	139-141	142,143		
EDNRB	Receptor Endotelina tipo B	13	143			
ELN	Elastina (estenosis supravalvular aórtica y síndrome de Williams-Beuren)	7	144,145	146,147		

Símbolo	Nombre	Cromosoma	Referencias				
			Estudios aislados		Metaanálisis		
			Posit	Negat	Posit	Negat	
EPHX 1	Epóxido hidrolasa 1 microsomal (xenobiótico)	1	77,83,130,146-167	127,168-174	175	5,8,176	
ESR1	Receptor 1 estrogénico	6		177			
FAM13A	Familia con secuencia de similaridad 13 miembro A	4		24			
FGF10	Factor 10 de crecimiento de fibroblastos	5		26			
GC	Componente específico de grupo (proteína conectora de vitamina D)	4	179-186	146,147,151,155,187			
GCLC	Ligasa glutamato-cisteina, subunidad catalítica	6	188	172,189			
GCLM	Ligasa glutamato-cisteina, subunidad modificadora	1	190	172,188			
GSTTCD	Glutation S-trasferasa con dominio C-terminal	4	191				
GSTM 1	Glutation S-trasferasa M1	1	127,148,161,164,165, 192-202	90,130,146,147 151,169,203-6	5,7,8		
GSTO1	Glutation S-trasferasa Omega 1 (ω 1)	10	207				
GSTO2	Glutation S-trasferasa Omega 2 (ω 2)	10	207				
GSTP1	Glutation S-trasferasa Pi 1 (π 1)	11	77,90,146,148,151, 152,157,164,165, 193,194,196 204,208-210	69,127,130, 147,149, 159,171,185 197,203,211,212	8,213	5,214	
GSTT1	Glutation S-trasferasa Theta 1 (Θ 1)	11	77,90,146,148,151,	69,127,130,	8,213	5,214	
HCK	Kinasa celular hematopoyética	20	215				
HHIP	Proteína interactiva Hedgehog (erizo)	4	26,191,216				
HLA	Subregión clásica clase 11 del MHC (mecanismo de histocompatibilidad)	6	217,218	219,220			

Símbolo	Nombre	Cromosoma	Referencias			
			Estudios aislados		Metaanálisis	
			Posit	Negat	Posit	Negat
HMOX1	Hemoxigenasa (deciclador) 1	22	130,151,166,221-224	69,147,185,196,225		
HTR4	Receptor 4 de 5hidroxitriptamina (serotonina)	5		191		
IFNG	Interferón gamma (γ)	12		226-228		
IL 1A	Interleuquina 1 α	2		227		
IL 1B	Interleuquina 1 β	2	227,229-233	120,228,234-238	5,8	
IL1RN	Antagonista del receptor de la Interleuquina 1	2	231,232,234,235	228,230,236-238	8	
IL2	Interleuquina 2	4		227		
IL27	Interleuquina 27	16		239		
IL4	Interleuquina 4	5		244		
IL4R	Receptor de la Interleuquina 4	16	227,243	79,241		
IL5	Interleuquina 5 (factor estimulador de colonias de eosinófilos)	5		244		
IL6	Interleuquina 6	7	118,228,234,245-247	116,233,236,248	5,8	
IL8	Interleuquina 8	4	120	234,235,238,249,250		
IL8RA	Receptor α de la Interleuquina 8	2	251	120,146,147		
IL8RB (CXCR2)	Receptor β de la Interleuquina 8	2	250	120,146,147		
IL10	Interleuquina 10	1	149,227,235,248, 252-254,227	120,234,255		
IL12B	Interleuquina 12B (factor 2 estimulador de células natural killer, factor 2 p40 maduración de los linfocitos T citotóxicos)	5		227	239	
IL13	Interleuquina 13	5	79,241,242,256-261	71,120,238,243,262	5	
IL13RA1	Receptor α 1 de la Interleuquina 13	X		241		
IL17F	Interleuquina 17F	6		263		

Símbolo	Nombre	Cromosoma	Referencias			
			Estudios aislados		Metaanálisis	
			Posit	Negat	Posit	Negat
IREB2	Proteína 2 conectora respondedora al elemento hierro	15	26,30,47			
KNCMB1	Canales de potasio activados por calcio de gran conductancia subfamilia M miembro β 1	5	264			
KEAP1	Proteína 1 asociada a ECH de tipo Kelch	19	265			
LEP	Leptina	7	266			
LEPR	Receptor de la leptina	1	267			
LTA	Linfotoxina α superfamilia TNF miembro 1	6	234,268-272	120,233,248,273-275		
LTA4H	Hidrolasa del leucotrieno A4	12	84			
LTBP4	Proteína 4 conectora de factor de crecimiento transformador beta (TGF β) latente	19	146,147			
MBL2	Lectina (proteína C) 2 soluble	10	276,277			
MICB	Polipéptido asociado al mecanismo de clase de histocompatibilidad tipo I (MHC I) secuencia B	11	146,280,281	69,128,147,151,282-285		
MIR196A2	MicroARN 196a-2	12	279			
MIR499A	MicroARN 499a	20	279			
MMP1	Metalopeptidasa 1 de matriz (colagenasa intersticial)	11	146,280,281	69,128,147,151,282-285		
MMP2	Metalopeptidasa 2 de matriz (gelatinasa A de 72 kDa, tipo IV colagenasa)	16	285	69,281		
MMP3	Metalopeptidasa 3 de matriz (estromelisinina 1 progelatinasa).	11	286	128,287		

Símbolo	Nombre	Cromosoma	Referencias			
			Estudios aislados		Metaanálisis	
			Posit	Negat	Posit	Negat
MMP9	Metalopectidasa 9 de matriz (gelatinasa B, 92 kDa colagenasa de tipo IV)	20	128,202,281,282, 284,288-290	69,147,151,280, 283,285,287		5,8
MMP12	Metalopectidasa 12 de matriz (elastasa de macrófago)	11	280,283,291,292	69,146,147,282,284, 285,287		
MMP14	Metalopectidasa 14 de matriz (acetiltransferasa de membrana)	14	293			
NFE2L2	Factor nuclear tipo 2 (derivado eritroide 2)	2	262,295			
NFKB1B	Factor nuclear del estimulador del gen kappa de polipéptidos ligeros en el inhibidor beta de los linfocitos B)	19	185			
NOS3	Sintetasa 3 del óxido nítrico (célula endotelial)	7	57,62,296,297		149	
NQO1	NAD(P)H deshidrogenasa quinona 1	16	90			
NR3C1	Receptor nuclear subfamilia 3 grupo C, miembro 1 (receptor glucocorticoideo)	5	298		299	
OGG1	8-oxoguanina ADN glicosilasa	3	300		189	
OR4X1	Receptor olfatorio familia 4, subfamilia X miembro 1	11	301			
PDE4D	Fosfodiesterasa 4D AMPc específica	5	302			
PLAUR	Receptor de uroquinasa activador de plasminógeno	19	303,304			

Símbolo	Nombre	Cromosoma	Referencias			
			Estudios aislados		Metaanálisis	
			Posit	Negat	Posit	Negat
PPARG	Receptor gamma activado por el proliferador del peroxisoma	3	163			
PTEN	Homólogo de la fosfatasa y de la tensina	10	14			
PTGDR	Receptor de la prostaglandina D2 (DP)	14	305			
PTGS2	Sintetasa 2 de la (COX2) prostaglandina endoperoxidasa (sintetasa de la prostaglandina G/H y ciclooxigenasa)	1	306,307			
SERPINA 1	Inhibidor de la peptidasa serpina, clade A (a1 antiproteasa, antitripsina) miembro 1	14	76,308-325	326-336		
SERPINA 3	Inhibidor de la peptidasa serpina, clade A (a1 antiproteasa, antitripsina) miembro 3	14	337-343	146,147,149,151,310,314 326,332,344		
SERPINA 2	Inhibidor de la peptidasa serpina, clade E (nexina, inhibidor del activador del plasminógeno tipo 1)	2	77,146,149,326,345-348	147,152,171,349,350		
SFTPA1	Proteína del surfactante A1	10	69,351			
SFTPA2	Proteína del surfactante A2	10	69			
SFTPB	Proteína del surfactante B	2	147,151,171,351-354	69,77,146,149,152,355		

Símbolo	Nombre	Cromosoma	Referencias			
			Estudios aislados		Metaanálisis	
			Posit	Negat	Posit	Negat
SFTPC	Proteína del surfactante C	8	356	357		
SFTPD	Proteína del surfactante D	10	69,358,359	151,351		
SIRT2	Sirtuina 2	19	185			
SLC6A4	Portador de soluto Familia 6 (neurotransmisor, transportador, serotonina) miembro 4	17	360			
SLC11A1	Portador de soluto familia 11 (transportador acoplado a protón de iones metálicos divalentes) miembro 1	2	361			
SMAD3	Familia SMAD Miembro 3	15	362			
SMOC2	Conector 2 de Calcio modular relacionado con SPARC	6	363			
SOD2	Superóxido dismutasa 2 mitocondrial	6	364-366	91,92,271		8
SOD3	Superóxido dismutasa 3 extracelular	4	90,91,364,367-370	5		8
SOX5	SRY (región Y determinada por el sexo) caja 5	12	371			
STAT1	Trasductor de señal y activador de transcripción 1 de 91 kDa	2	185			

Símbolo	Nombre	Cromosoma	Referencias			
			Estudios aislados		Metaanálisis	
			Posit	Negat	Posit	Negat
STAT3	Trasductor de señal y activador de transcripción 3 (factor de respuesta en fase aguda)	17	372			
STAT6	Trasductor de señal y activador de transcripción 6 (inducido por interleuquina 4)	12	79	241		
STIP1	fosfoproteína 1 inducida por estrés	11	373			
TBXA2R	Receptor A2 del tromboxano	19	244,374			
TGFBR1	Beta-receptor I del factor transformador de crecimiento	1	69,77,146	30,149,151	5,8	384
TGFBR3	Beta-receptor III del factor transformador de crecimiento	1	190			
TIMP 1	Inhibidor 1 de la metalopeptidasa TIMP	X	285	69		
TIMP 2	Inhibidor 2 de la metalopeptidasa TIMP	17	146,385,386	147,151,387	5	
TLR4	Receptor 4 Toll-like	9	388,389	96,271		
TNF	Factor de necrosis tumoral (superfamilia TNF, miembro 2)	6	11,149,151,234, 238,250,262,268, 270-272,390-398 269,273-275,399-403	83,120,146,147, 155,230,233, 235-237,248	5,8,11	
TNS1	Tensina 1	2	191			
TP53 (p53)	Proteína tumoral p53	17	101,307			
TRPV4	Receptor transitorio con potencial canal catiónico subfamilia V miembro 4	12	404			

Símbolo	Nombre	Cromosoma	Referencias			
			Estudios aislados		Metaanálisis	
			Posit	Negat	Posit	Negat
TSLP	Linfoproteína del estroma tímico	5	405			
VDR	Receptor de la vitamina D (1,25-dihidroxi-vitamina D)	12	406-408	409		
VEGFA	Factor A de crecimiento vasculoendotelial A	6	410	411		
XRCC1	Reparación rayos X complementaria de reparación defectuosa en células de hámster chino 1	19	300			
XRCC5	Reparación rayos X complementaria de reparación defectuosa en células de hámster chino 5 (unión de dobles cadenas rotas)	2	412			

5.1.2.2. Estudios de asociación amplia de genoma (genome-wide association studies: GWAS) en EPOC:

Se han realizado estudios de asociación amplia de genoma recientemente sobre:

- Estado de EPOC en poblaciones diversas de fumadores, exfumadores y EPOCs:

- Early-Onset COPD Boston Cohort: EPOC grave de inicio a temprana edad.
- National Emphysema Treatment Trial (NETT): Enfisema grave avanzado.
- Normative Aging Study (NAS).
- GenKOLS (Noruega).
- International COPD Genetics Network (ICGN).
- COPDGene.
- Evaluation of COPD Longitudinally to Identify Surrogate Endpoints (ECLIPSE).
- SAPALDIA.

- Pruebas de función respiratoria en población general:

- Framingham Heart Study (FHS).
- Family Heart Study.
- Cohorts for Heart and Aging Research in Genetic Epidemiology Consortium (CHARGE).
- Health 2000 Study.
- SpiroMeta.

Sólo unos pocos loci han sido asociados con EPOC de forma significativa en estudios de asociación amplia de genoma (GWAS) (420,421):

-La Banda de Cromosoma **Chr5q25: genes CHRNA 3 /5 e IREB2:**

- **CHRNA 3 /5 (receptores colinérgicos nicotínicos alfa 3 y 5 neuronales)** relacionados con la susceptibilidad a desarrollar EPOC (**la variante rs1051730**) independientemente del comportamiento fumador y la cantidad fumada en paquetes-año, con la **dependencia nicotínica y el comportamiento fumador (cantidad paquetes-año), el cáncer de pulmón y la enfermedad arterial periférica.**

- **IREB2 (iron responsive element binding protein 2: proteína conectora 2 de elemento respondedora al hierro)** que codifica la **IRP2 (iron responsive protein 2: la proteína respondedora al hierro)** expresada en las **células epiteliales de la vía aérea,**

las células endoteliales, células musculares lisas y macrófagos, y que se activa con presiones bajas de oxígeno. Relacionado con susceptibilidad a **EPOC** independientemente del comportamiento fumador y la cantidad fumada en paquetes-año, y con el riesgo o gravedad según el **FEV1**.

-Banda 4q31: gen HHIP (hedgehog interacting protein gene: gen de la proteína interactiva “erizo”). Loci intergénico para la **regulación génica** y relacionado con vías moleculares de la **matriz extracelular** y la **proliferación celular**. Relacionado con **susceptibilidad a EPOC (variantes rs1828591 y rs13118928)** y con **EPOC grave** (en una cohorte caucásica polaca y en EOCOPD grave)

-Banda 4q22.1: gen FAM13A. Asociada a **EPOC** en **COPDGene** e **ICGN**, pero **no en EOCOPD**. **Transducción de señal** en respuesta a la **hipoxemia**.

- Banda 19q13: Asociada a **EPOC (ECLIPSE+NETT/NAS+GenKOLS+COPDGene: variantes rs7937 y rs2604894)**, con la cantidad fumada en **cigarrillos al día (GWAS de comportamiento fumador)** y con **EPOC grave** y la gravedad de la obstrucción según **FEV1** (estos 2 últimos en **ICGN**, sin que mostrara susceptibilidad a EPOC ni asociación con la cantidad fumada en cigarrillos al día o paquetes-año en este estudio). Incluye los siguientes genes:

- **CYP2A6** (variante del **citocromo P450, familia 2, subfamilia A, gen del polipéptido 6**) asociado con el **comportamiento fumador** y con el **cáncer de pulmón**.

- **RAB4B: Member Rasoncogene family gene (gen miembro de la familia del oncogen Ras).**

- **MIA (the melanoma inhibitory activity gene: gen inhibidor de la actividad del melanoma).**

- **EGLN2 (egl-9 family hypoxic-inducible factor 2 gene: gen del factor 2 inducible por hipoxia de la familia egl-9).** Sobreexpresión en **células basales del epitelio de la vía aérea**. Asociado a **comportamiento fumador**.

- Banda 14q13: RIN3 (Rab5 GTPase binding protein gene: gen de proteína conectora GTPasa Rab5). Asociada con **EPOC grave (COPDGene)**.

- Banda 11q22: MMP12 (matrix metaloprotease 12: metaloproteasa de matriz 12). Asociada con **EPOC grave (COPDGene)**.

- **Banda 1q41: TGF- β 2 (transforming growth factor beta-2: factor transformador del crecimiento beta-2).** Asociada con **EPOC grave (COPDGene).**

5.1.2.2.1. Metanálisis de GWAS sobre asociación con el estado "EPOC":

- **COPDGene** confirmaba asociaciones previas de **HHIP, CHRNA3/5 / IREB2 y FAM13A** e identificaba nuevas asociaciones con EPOC grave cerca de **RIN3 , MMP12 y TGF- β 2.**
- **COPD affection study meta-analysis – Metanálisis sobre el estado EPOC (COPDGene+NETT/NAS+ECLIPSE+GenKOLS y replicación en población ICGN familiar).** Al aumentar el tamaño muestra se identificaron **nuevos genes asociados a EPOC y a EPOC grave** además de **aumentar la potencia de asociación** de los genes **HHIP, CHRNA3/5 / IREB2, FAM13A, RIN3 , MMP12 y TGF- β 2** previamente identificados. **Dividir poblaciones heterogéneas grandes de EPOC en grupos fenotípicos distintos, como en este caso EPOC grave, puede identificar asociaciones genéticas con los fenotipos.**

5.1.2.2.2. Análisis de rasgos de expresión génica cuantitativa (eQTLs) en esputo:

- **ECLIPSE+GenKOLS+NETT/NAS:**
 - Asociación a EPOC de **IREB2 y CHRNA5** y del **gen de la psoriasis PSORS1C1 del cromosoma 6 (replicado en ICGN, pero no en COPDGene).**
 - **Falta de asociación a EPOC de HHIP y FAM13A.**

5.1.2.2.3. GWAS sobre asociación con función pulmonar:

- **GWAS sobre asociación con cociente FEV1/FVC prebroncodilatador:** tendrían que tener **mayor poder** para detectar variantes asociadas al examinar una variable continua en vez de rasgos dicotómicos (EPOC sí=1; EPOC no=0) y más objetivas, ya que no dependen de la subjetividad del médico. A diferencia de la definición de EPOC de la GOLD utilizan el cociente pre, en vez del postbroncodilatador, porque parece que la prueba broncodilatadora no se realiza de forma rutinaria siempre tan fácilmente. No parecen filtrar por exposición tabáquica o excluir asma u otras causas de obstrucción, reversibles o no.
En nuestro caso sí que disponíamos de la prueba broncodilatadora en todos los casos y del cociente postbroncodilatación FEV1/FVC. A diferencia de estos estudios hechos sobre

población general con mínima inclusión de pacientes EPOC, y muchos no fumadores. Nuestro estudio del Biobanco de Tejido Pulmonar del Hospital de Son Dureta estaba realizado sobre población con indicación quirúrgica, generalmente por cáncer de pulmón o metástasis única pulmonar de cáncer de colon; por lo tanto aunque tampoco era sobre una población exclusiva EPOC, era sobre población general sesgada con más riesgo de EPOC, habiendo por ello probablemente una mayor proporción de pacientes con EPOC, y de fumadores activos y de exfumadores que en estos estudios.

- **Framingham Heart Study (Wilk et al.): 7691 individuos de familias. 27 polimorfismos** -SNP (single nucleotide polymorphisms) localizados en una región intergénica cerca de **HHIP**.
- **Family Heart Study: Cohorte de 835 individuos (225 con obstrucción bronquial y 610 controles). HHIP** fue la única región asociada de forma significativa a FEV1/FVC. También asociada a FEV1 y a la variable dicotómica obstrucción bronquial.
- **Cohorts for Heart and Aging Research in Genetic Epidemiology Consortium (CHARGE) (Hancock et al.): 20890 individuos. Población general de fumadores activos, exfumadores y nunca fumadores.** Usaron la población del **SpiroMeta Consortium** como estudio de replicación. **8 loci asociados a FEV1/FVC: HHIP, FAM13A, GPR126, ADAM19, AGER/PPT2, PTCH1, PID y HTR4 y 1 locus asociado a FEV1 (INTS12/GSTCD/NPNT).**
- **SpiroMeta (RePapi et al): 20288 individuos. Usaron para la replicación de los SNPs principales población del CHARGE (32184 individuos)+HEALTH2000 study (883 individuos).** Mostraron también expresión del **ARN mensajero en tejido pulmonar** de los genes asociados.
 - **Variantes asociadas a FEV1/FVC:**
 - **AGER.**
 - **THSD4: Thrombospondin type 1 domain containing 4 gene (trombospondina tipo 1, dominio conteniendo el gen 4).**
 - **HHIP.**
 - **Variantes asociadas a FEV1:**
 - **GSTCD.**
 - **HTR4.**

- **TNS1: tensin 1 gene (gen de la tensina 1).**
 - **HHIP.**
- **Metanálisis de 23 estudios en CHARGE y SpiroMeta:** 2.5 millones de SNPs testados. 48201 individuos caucásicos. Se examinaron los SNPs más significativos con valor de p menor en otros 17 estudios con 46411 individuos.
- 1 nueva variante asociada a FEV1/FVC y FEV1:
 - CDC123
 - 12 nuevas variantes asociadas a FEV1/FVC:
 - MFAP2
 - TGFB2
 - HDAC4
 - RARB
 - SPATA9
 - NCR3
 - ARMC2
 - LRP1
 - CCDC38
 - MMP15
 - CFDP1
 - KCNE2
 - 3 nuevas variantes asociadas a FEV1:
 - MECOM
 - ZKSCAN3/ZNF323
 - C10orf11
- Soler-Artigas et al. testaron 5 loci significativos de los estudios previos funcionales (TNS1, GSTCD, HTR4, AGER y THSD4) en un estudio de cohortes poblacional de 3284 EPOC diagnosticados por espirometría y 17538 controles. Sólo 3 se asociaron a EPOC:
- TSN1
 - GSTCD
 - HTR4
- Castaldi et al. Testaron 32 SNPs y 17 nuevos genes identificados previamente por los estudios funcionales SpiroMeta y CHARGE en 4 cohortes de casos/controles de EPOC (NETT/NAS, GenKOLS, ECLIPSE y los primeros 1000 participantes del COPDGene).

- 3 loci asociados a EPOC:
 - 4q24 (FLJ20184/INTS12/GSTCD/NPNT)
 - 6p21 (AGER y PPT2)
 - 5q33 (ADAM19)
- Hardin et al. cohorte de Polonia de EPOC grave.
 - ADCY2 locus
- Hansel et al. encontraron 2 regiones de los cromosomas 10 y 14 que se asociaron a caída del FEV1 en EPOC leve-moderado.

5.1.2.2.4. GWAS de los fenotipos de EPOC:

5.1.2.2.4.1. GWAS en enfisema:

- Kong, Cho et al. testaron variantes de las cohortes de ECLIPSE, GenKOLS y NETT correlacionándolas con medidas cuantitativas y cualitativas de enfisema según el grado de atenuación densitométrica medida por TAC. **Las variables asociadas con medidas cuantitativas del enfisema se asociaron significativamente menos que con las valoradas por los radiólogos.** Identificaron SNPs:
 - BICD1 (bicaudal D homolog 1 (Drosophila) gene) que codifica proteína implicada en el control de la función de la dineína y se ha asociado con la longitud de los telómeros en los leucocitos. Asociado con enfisema grave. Su papel en el enfisema podría relacionarse con el acortamiento de telómeros.

5.1.2.2.4.2. GWAS en fenotipos de EPOC según espirometría, exposición al humo de tabaco, índice de masa corporal (IMC) o body mass index (BMI), enfisema, engrosamiento de la vía aérea, agudizaciones de EPOC e índice BODE (body mass index, obstruction, dyspnea, exercise (6-minute) walking distance):

- Pilaii et al. usando datos del estudio ECLIPSE y replicación con IGCN para valorar asociaciones con fenotipos de EPOC según **espirometría, exposición al humo de tabaco, índice de masa corporal (IMC) o body mass index (BMI), enfisema y engrosamiento de la vía aérea** valorados por TAC, **agudizaciones de EPOC e índice BODE (body mass index, obstruction, dyspnea, exercise (6-minute) walking distance):**

- **CHRNA3 /5** asociado con:
 - La cantidad de **paquetes-año** fumados acumulados.
 - **Enfisema.**
 - **Obstrucción bronquial.**

- **IREB2** asociado con:
 - **FEV1.**

- **HHIP** asociado a:
 - **Obstrucción** de la vía aérea.
 - **Agudizaciones** de EPOC.

- **Wan et al.** realizaron un **metanálisis** de 3 cohortes de casos y controles (**ECLIPSE, GenKOLS y NETT**), **replicando** sus resultados con los 1000 primeros pacientes de **COPDGene. Asociación de EPOC e índice de masa corporal (IMC) con**
 - **Gen FTO (fat mass and obesity associated gene: gene asociado a la masa grasa y a la obesidad). Asociado con:**
 - **Obesidad y sobrepeso.**
 - **Índice de masa corporal (IMC).**
 - **Fat-free mass index (FFMI).**
 - **FEV1.**
 - **FEV1/FVC,**
 - **Menos enfisema.**
 - **Papel protector en EPOC y cáncer pulmonar.**

5.1.2.2.5. GWAS de Biomarcadores en sangre periférica de EPOC:

- **Kim et al.** GWAS de 2 proteínas pulmonares (la proteína secretora de las células de Clara cell CC16 y la proteína surfactante D SP-D) y 5 biomarcadores inflamatorios (fibrinógeno, proteína C reactiva, interleuquina 6, interleuquina 8 y factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α)) en el estudio ECLIPSE. Encontraron las asociaciones siguientes:
 - Con los niveles de CC16 en EPOC:
 - **SCGB1A1:** near the secretoglobin, family 1 A, member 1 (uteroglobin) gene. Asociado también a ARNm en esputo de la proteína CC16 y nominal con EPOC.

- Con los niveles de SP-D en EPOC:
 - **SFTPD**: surfactant protein D gene. Asociación nominal con EPOC.

Asociaciones amplias de genes GWAS con función pulmonar EPOC (421)

Autor y año	Tipo de estudio	Población	Tamaño muestral (casos vs controles)	SNPs	Odds ratio (o β coefficient)	p value
Cromosoma 15q25 : CHRNA3/5/ IREB2						
Pillai et al., 2009 (422)	EPOC inicial GWAS	EPOC moderado-grave	823 vs. 810	rs8034191 rs1051730	1.4-1.43 1.32-1.39	1.48×10^{-10} 5.74×10^{-10}
Wilk et al., 2012 (423)	Obstrucción GWAS	Población general con EPOC leve-grave	3056 vs. 28111	rs1051730	1.17	3.29×10^{-7}
Hardin et al., 2012 (424)	Replicación de Genes Candidatos	EPOC grave-muy grave (Polonia)	315 vs. 330	rs8034191	1.89	7.0×10^{-7}
Cho et al., 2014 (425)	GWAS	EPOC moderado-grave	6633 vs. 5704	rs12914385	1.28	6.38×10^{-14}

Cromosoma 4q31 : HHIP

Wilk et al., 2009 (426)	Función pulmonar (obstrucción) GWAS	Población general Familias (Framingham Heart Study)	8526	rs11100860 rs7655625 rs1980057	0.104 0.098 0.097	3.55×10^{-9} 2.4×10^{-8} 2.7×10^{-8}
Pillai et al., 2009 (422)	GWAS+replicación	EPOC moderado-grave	823 vs. 810	rs1828591 rs13118928	0.7-0.726 0.097	1.47×10^{-7} 2.7×10^{-7}
Hancock et al., 2010 (427)	Función pulmonar (obstrucción) GWAS	Población general CHARGE Consortium	41178	rs1980057 rs1032395	0.52 -0.47	3.21×10^{-20} 4.37×10^{-15}
Repapi et al., 2010 (428)	Función pulmonar (obstrucción) GWAS	Población general SpiroMeta Consortium	74564	rs12504628	-0.077	6.48×10^{-13}
Van Durme et al., 2010 (429)	Replicación Genes candidatos	Población general con EPOC leve-grave (Rotterdam- Holanda)	752 vs. 4976	rs13118928	0.80	2.0×10^{-3}
Zhou et al., 2012 (430)	Replicación Genes candidatos	EPOC grave-muy grave (Polonia)	315 vs. 330	rs13118928	0.68	2.0×10^{-3}
Cho et al., 2014(431)	EPOC GWAS	EPOC moderado-grave	6633 vs. 5704	rs13141641	1.27	1.57×10^{-12}

Cromosoma 4q22 : FAM13A

Cho et al., 2010 (432)	EPOC inicial GWAS	EPOC moderado-grave	2940 vs. 1380	rs1903003	0.76-0.78	9.47×10^{-11}
Hancock et al., 2012 (427)	Función pulmonar (obstrucción) GWAS	Población general CHARGE+SpiroMeta Consortia	41178	rs2869967	0.30	1.91×10^{-11}
Young et al., 2011 (433)	Replicación Genes candidatos	EPOC	458 vs. 488	rs7671167	0.79	0.013
Guo et al., 2011 (434)	Replicación Genes candidatos	EPOC Han COPD Study (China)	278 vs. 434	rs2869967	N/A	0.04
Cho et al., 2014 (431)	EPOC GWAS	EPOC moderado-grave	6633 vs. 5704	rs4416442	1.28	1.12×10^{-14}

Cromosoma 19q13

Cho et al., 2012 (435)	EPOC GWAS	EPOC moderado-grave	3499 vs. 1922	rs7937	0.73	2.88×10^{-9}
------------------------	-----------	---------------------	---------------	--------	------	-----------------------

Cromosoma 14q32 : RIN3

Cho et al., 2014 (431) EPOC GWAS EPOC moderado-grave 6633 vs. 5704 rs754388 1.28 5.25 x 10⁻⁷

Asociaciones amplias de genes a partir de GWAS con función pulmonar y EPOC

Autor y año	Tipo de estudio	Población	Tamaño muestral (casos vs controles)	SNPs	Odds ratio (o β coefficient)	p value
-------------	-----------------	-----------	--------------------------------------	------	------------------------------	---------

Cromosoma 11q22 : MMP12

Hunninghake et al., 2012 (436)	Análisis de Genes Candidatos	EPOC y familias (cohorte)	1614 vs. 1468	rs226109	NA	4 x 10 ⁻⁵
--------------------------------	------------------------------	---------------------------	---------------	----------	----	----------------------

Cho et al., 2014 (431)	EPOC GWAS	EPOC grave	3125 vs. 5704	rs626750	1.36	5.35 x 10 ⁻⁹
------------------------	-----------	------------	---------------	----------	------	-------------------------

Cromosoma 1q41 : TGFB2

Soler Artigas et al., 2011 (437)	Función pulmonar (obstrucción) GWAS	Población general	94612	rs993925	0.034	1.16 x 10 ⁻⁸
----------------------------------	-------------------------------------	-------------------	-------	----------	-------	-------------------------

Cho et al., 2014 (431)	EPOC GWAS	EPOC grave	3125 vs. 5704	rs4846480	1.26	1.25 x 10 ⁻⁷
------------------------	-----------	------------	---------------	-----------	------	-------------------------

Loci de susceptibilidad a EPOC y fenotipos relacionados identificados en estudios de asociación amplia de genoma (genome-wide association studies (GWAS)):

Referencia	Estudio	Nºcasos/controles	Plataforma	Región	Gen	SNP clave
Pillai (15)	Noruega ICGN NETT-NAS EOCOPD	823/810 1891 389/472 949	Illumina (Human Hap550)	15q25	CHRNA3	rs8034191
				4q31	HHIP	rs1828591 rs13118928
Cho (19)	Noruega NETT-NAS ECLIPSE COPDGene EOCOPD ICGN	2940/1380 502/504 949 2859	Illumina (Human Hap550 ó Quad 610)	4q22	FAM13A	rs7671167 rs1903003
				15q25	CHRNA3 CHRNA5 IREB2	rs1062980
Cho (20)	ECLIPSE NAS-NETT GenKOLS COPDGene ICGN	1764/178 373/435 863/808 499/501 983 voluntarios/ 1876 gemelos	Illumina (Hap550, Quad 610, ó Omni 1 Quad)	4q31	HHIP	rs1828591
				19q13	RAB4B EGLN2 M1A CYP2A6	rs7037 rs2604894
				4q22	FAM13A	rs196456 rs7671167
				4q31	HHIP	rs13141641

Loci de susceptibilidad a EPOC y fenotipos relacionados identificados en estudios de asociación amplia de genoma (genome-wide association studies(GWAS))

Referencia	Estudio	Nºcasos/controles	Plataforma	Región	Gen	SNP clave
				15q25	CHRNA3 CHRNA5 IREB2	rs13119028 rs11858836 rs13180
Wilk (37)	FHS	1059-1222	Affymetrix (70,987)	10q25	GSTO2	rs156697
Wilk (38)	FHS	7691	Affymetrix (500K + 50K)	4q31	HHIP	rs13147758
	Family Heart Study	835	FEV1/FVC			
Repapi(40)	Spiro	20288	Affymetrix y Illumina (2.5 millones)	4q31	HHIP	rs12504628
	Meta Consortium		FEV1 y FEV1/FVC			
	CHARGE Consortium	32184				
	Health 2000 survey	21209 883				
				FEV1	2q35 TNS1 4q24 GSTCD 5q33 HTR4 6p21 AGER 15q23 THSD4	rs2571445 rs10516526 rs3995090 rs2070600 rs12899618
Hancock(39)	CHARGE Consortium	20890	Affymetrix e Illumina (2515866)	2q35	PIDI	rs1435867
	SpiroMeta Consortium	16178	FEV1/FVC			
				4q22	FAM13A	rs2869967
				4q31	HHIP	rs1980057
				5q33	HTR4	rs11168048
				5q33	ADAM19	rs2277027
				6p21	AGER PPT2	rs2070600
				6q24	GPR126	rs3817928
				9q22	PTCH1	rs16909898
				FEV1	4q24 INTS12 GSTCD NPNT	rs17331332
Soler Artigas (42)	23 studies 17 studies	48201 46411	Illumina y Affymetrix (2706349)	3q26	MECOM	rs134555
			FEV1			
				6q22	ZKSCAN3	rs6903823
				10q22	C10orf11	rs11001819
			FEV1/FVC	1p36	MFAP2	rs2284746
				1q41	TGFB2- LYPLAL1	rs993925
				2q37	HDAC4- FLJ43879	rs12477314
				3p24	RARB	rs1529672
				5q15	SPATA9- RHOBTB3	rs153916
				6q21	ARMC2	rs2798641
				6p21	NCR3- AIF1	rs2857595

Loci de susceptibilidad a EPOC y fenotipos relacionados identificados en estudios de asociación amplia de genoma (genome-wide association studies (GWAS))

Referencia	Estudio	Nºcasos/controles	Plataforma	Región	Gen	SNP
				12q13	LRP1	rs11172113
				12q22	CCDC38	rs1036429
				16q13	MMP15	rs12447804
				16q23	CFDP1	rs2865531
				21q22	KCNE2- LINCO0310	rs9978142
Imboden (42)	SAPALDIA no asma 1441 asma	2677	FEV1 y FEV1/FVC Illumina caída FEV1	10p23	CDC123	rs7068966
				13q14	DLEU7	rs9316500
Kong(43)	ECLIPSE Noruega	1557 432	caída FEV1/FVC asma Illumina Enfisema cualitativo " Human " Hap550 (499578) Illumina	8p22	TUSC3	rs4831760
				12q	B1CD1	rs10844154
						rs161976
Wan(44)	ECLIPSE Noruega NETT COPDGene	1734 432 365 502	Fenotipos con caquexia (IMC e índice de masa grasa magra)	16q12	FTO	rs8050136

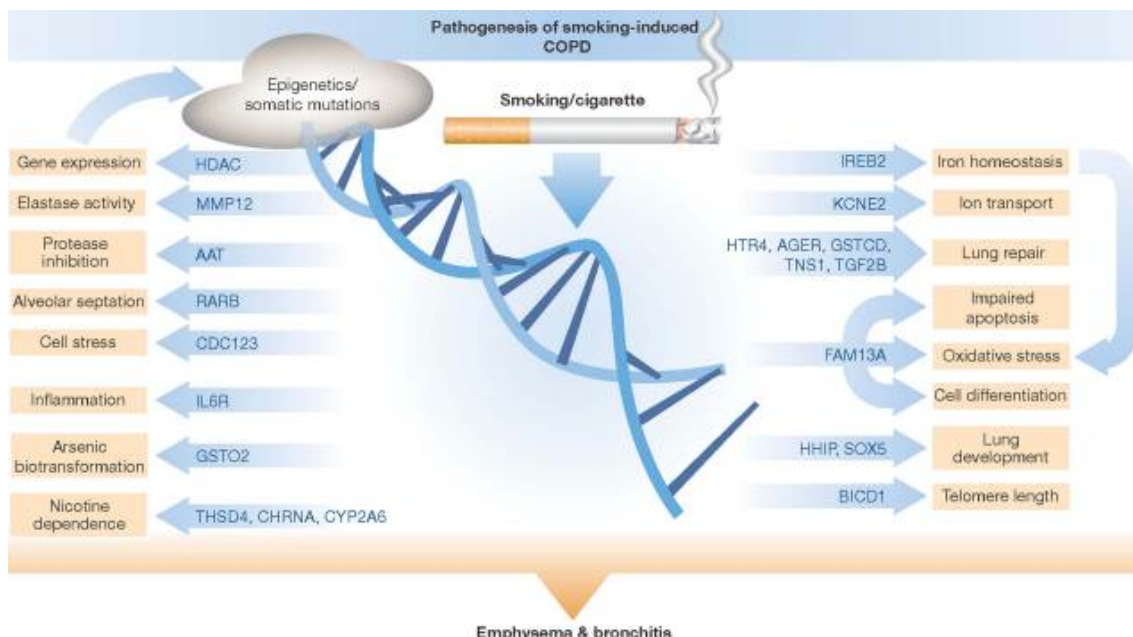


Fig 7. Ejemplo de propuesta de estudio de la patogénesis de la EPOC y de las vías moleculares implicadas en la misma a partir de los genes asociados en estudios de asociación amplia de genoma

(GWAS) y asociación (linkeage) de genes candidatos replicados. Berndt A, Leme AS, Shapiro SD. Emerging genetics of COPD. EMBO Mol Med 2012; 4: 1144–1155. DOI 10.1002/emmm.201100627 (438).

5.1.3. Nuevos desarrollos farmacológicos en la EPOC (439-441).

Los nuevos fármacos en investigación del tratamiento de la EPOC están dirigidos contra dianas terapéuticas de las vías moleculares implicadas en la patogénesis de la EPOC.

Los estudios genéticos vienen a corroborar la importancia de algunas de estas dianas y de sus vías moleculares.

Así mismo, dependiendo de las características de presentación “fenotípica” individual, algunas de estas vías moleculares serán preponderantes sobre otras.

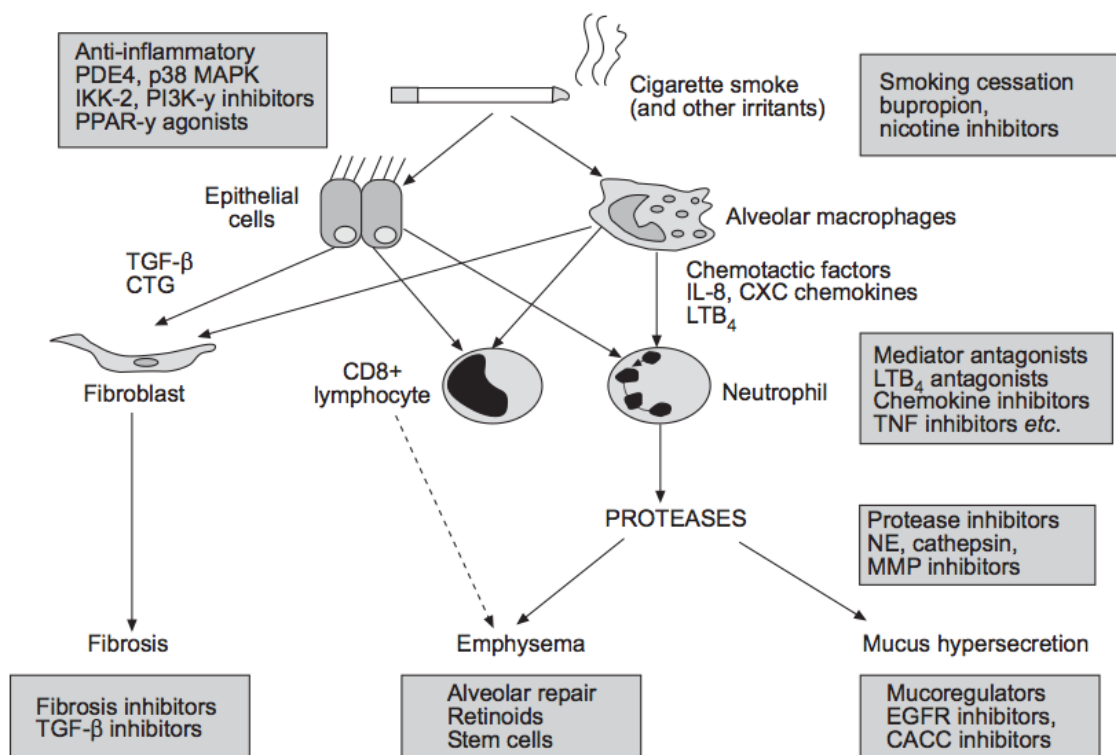


Fig 8. Dianas terapéuticas en la EPOC: PDE4: phosphodiesterase-4; p38 MAPK: p38 mitogen activated protein; IKK-2: inhibitor of nuclear factor-κB kinase; PI3K-γ: phosphoinositide 3 inase-gamma; PPAR-γ: peroxisome proliferation activated receptor-γ; TGF-β: transforming growth factor-β; CTG: connective tissue growth factor; IL-8: interleukin-8; CXC: cysteine-X-cysteine; LTB₄: leukotriene B₄; TNF: tumour necrosis factor; NE: neutrophil elastase; MMP: matrix metalloproteinases; EGFR: epidermal growth factor receptors; CACC: calcium-activated chloride channels. Barnes et al. Eur Respir Rev 2005; 14: 94, 2–11 DOI: 10.1183/09058180.05.00009401 Copyright©ERSJ Ltd 2005. New approaches to COPD.

Nuevos tratamientos potenciales de la EPOC (Barnes et al. 2005)	
Diana	Tratamiento potencial
Fumar	Dependencia nicotínica neural
Oxidantes	Antioxidantes (ej. análogos estables del glutatión) Resveratrol Inhibidores de la sintasa de óxido nítrico inducible (iNOS)
Leucotrienos	Antagonistas de los receptores LTB1 Inhibidores de la 5-lipooxigenasa.
Moléculas de adhesión	AntiCD11/CD18 y anti-ICAM-1 Inhibidores de la E-selectina
Quimiocinas	Antagonistas CXCR2 Antagonistas CCR2 Antagonistas CCR3
Citoquinas	Inhibidores TNF- α (infliximab, ertanercept). Inhibidores del enzima conversor de TNF- α . Interleuquina 10 y análogos.
Fosfodiesterasa 4(PDE4)	Inhibidores de la fosfodiesterasa 4 (roflumilast, ciclomilast).
Kinasas y factores de transcripción	Inhibidores de NF κ B (inhibidores IKK2, proteasoma, y del gen I κ B-a transfer) Inhibidores p38 MAP kinasa Inhibidores PI-3 kinasa gamma Activadores PPAR.
Hipersecreción mucosa	Inhibidores de la kinasa del receptor EGF (gefitinib). Inhibidores de los canales de cloro activados por Calcio (ácido niflúmico).
Fibrosis	Inhibidores de los receptores TGF-B1 Inhibidores del factor de crecimiento de Fibroblastos (FCF). Inhibidores PAR-2
Proteinasas	Antiproteinasas endógenas: α 1-AT, SLPI, TIMP, elafin. Inhibidores de la elastasa de neutrófilo. Inhibidores de la cisteína-proteinasas. Inhibidores de las metaloproteinasas de matriz
Regeneración pulmonar	Ácido retinoico (all-trans retinoico acid) Antagonistas del receptor alfa del ácido retinoico Células madre.

Tabla 4. Nuevas dianas terapéuticas moleculares en la EPOC. Barnes PJ. New approaches to COPD. Eur Respir Rev 2005; 14: 94, 2–11 DOI: 10.1183/09058180.05.00009401 Copyright©ERSJ Ltd 2005 BLT1: leukotriene B₄ receptor type 1; ICAM-1: intercellular adhesion molecule-1; CXCR: cysteine-x-cysteine receptor; CCR: cysteine-cysteine receptor; TNF- α : tumour necrosis factor- α ; PDE-4: phosphodiesterase-4; NF- κ B: nuclear factor- κ B; IKK: inhibitor of I κ B kinase; I κ B-a: inhibitor of NF- κ B; MAP: mitogen activated protein; PI-3: phosphoinositide-3; PPAR: peroxisome proliferation activated receptor; EGF: epidermal growth factor; TGF- β : transforming growth factor- β ; PAR: proteinase-activated receptor; α 1-AT: α 1-antitrypsin; SLPI: secretory leukoprotease inhibitor; TIMP: tissue inhibitor of matrix metalloproteinases.

5.1.3. Experiencia del Biobanco de Tejido Pulmonar del Hospital de Son Dureta de Palma de Mallorca y de las bases funcionales de la futura Red Nacional de Biobancos en Red de Tejido Pulmonar Ciberes-Respira-SEPAR:

Las tendencias están cambiando en el sentido de que estudios previos groseros de expresión génica comparativos entre enfermos y sanos, se están intentando refinar para obtener el máximo de muestras de fenotipos más puros con expresión diferencial.

Nuestra experiencia piloto con la creación y adecuación en 2005 del Biobanco de Tejido Pulmonar del Hospital de Son Dureta de Palma de Mallorca, con unas bases de datos clínico-radiológico-funcionales y de fenotipos pulmonares y sistémicos para el estudio de la EPOC, que en aquel momento suscitaban crítica al respecto por su exhaustividad, no perseguían sino eso, el poder clasificar las muestras de los pacientes fenotípicamente en subgrupos puros comparables.

En aquel momento disponíamos únicamente, según nuestro conocimiento, de un Biobanco de Sangre y Tejidos de Cordón Umbilical para la preservación de Células Madre funcionante en las Islas Baleares en Palma de Mallorca al que asistimos a sus cursos.

Como modelo alternativo tuvimos unas páginas web del Biobanco funcionante de la National Heart, Lung and Blood Institutes of Health (NHLBIH) con acceso restringido al público general que sólo mostraba cortes de TAC, pero que anunciaba correlación radiológica entre imágenes de TAC con probables estudios genéticos en marcha.

Adaptamos protocolos para la preservación y almacenamiento de las muestras para la correlación histológica con resultados de expresión génica diferencial, y bases de datos clínico-radiológico-funcionales para correlación también con ellos (ved capítulo de Materiales y Métodos y Anexo Protocolos del Biobanco de Tejido Pulmonar del Hospital de Son Dureta).

Adaptamos, así mismo estas bases de datos clínico-radiológico-funcionales para el Biobanco de Tejido Pulmonar del Hospital de Son Dureta de Palma de Mallorca orientado al estudio de los fenotipos de la EPOC (ved capítulo de Materiales y Métodos).

Plataforma
Biobanco Pulmonar

**BIOBANCO TEJIDO PULMONAR
HOSPITAL SON DURETA
Y RED DE BIOBANCOS RED RESPIRA**

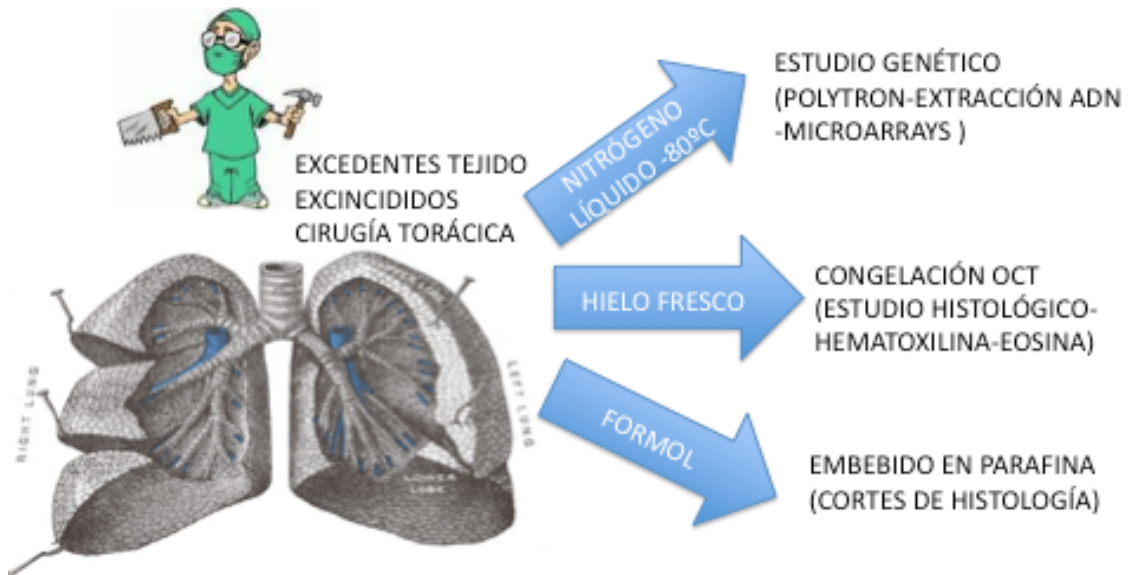


Fig 8. Esquema simplificado del protocolo de extracción y procesado inmediato de las muestras de tejido pulmonar obtenidas del quirófano de Cirugía Torácica para su almacenamiento en el biobanco y posteriores estudios genéticos y estructurales histológicos.

Estuvimos durante el 2014 optimizando los protocolos utilizando tejido pulmonar de ratón del animalario de que disponía en la Universitat de les Illes Balears (UIB) el Dr. Daniel Bachiller.

Posteriormente, preservamos y almacenamos las muestras de los primeros 100 pacientes consecutivos del Biobanco de Tejido Pulmonar del Hospital de Son Dureta sito en el edificio del Institut Universitari d'Investigacions en Ciències de la Salut (IUNICS) de dicho hospital, donde también hacíamos las extracciones del ADN y estudios de calidad y cantidad del mismo previo a su envío a Madrid para su estudio genético diferencial con microarrays. Las muestras congeladas en Optimal Cutting Temperature (OCT) para estudio histológico las tallábamos con microtomo, extendíamos y procesábamos para tinciones en el Edificio de la Unidad de Genética y Reparación Celular del Dr. Daniel Bachiller del Centro Caubet-CIMERA del Complejo Hospitalario de Joan March en Bunyola (ved capítulo de MATERIALES y MÉTODOS y Anexo PROTOCOLOS DEL BIOBANCO DE TEJIDO PULMONAR DEL HOSPITAL SON DURETA).

La apreciación de la dificultad de poder conseguir extensas muestras (n) de pacientes con fenotipos puros para los estudios de expresión génica diferencial, especialmente para fenotipos concretos

más específicos, nos hizo sentar las bases de funcionamiento de una futura Red Nacional de Biobancos de Tejido Pulmonar Red Respira-SEPAR que permitiera a los investigadores la localización y aporte de muestras en diversos puntos para el estudio de estos fenotipos más puros o específicos (ved anexo Correcciones al Proyecto “Desarrollo de una Plataforma Bioinformática a medida para la gestión del Biobanco de la Red Respira”).

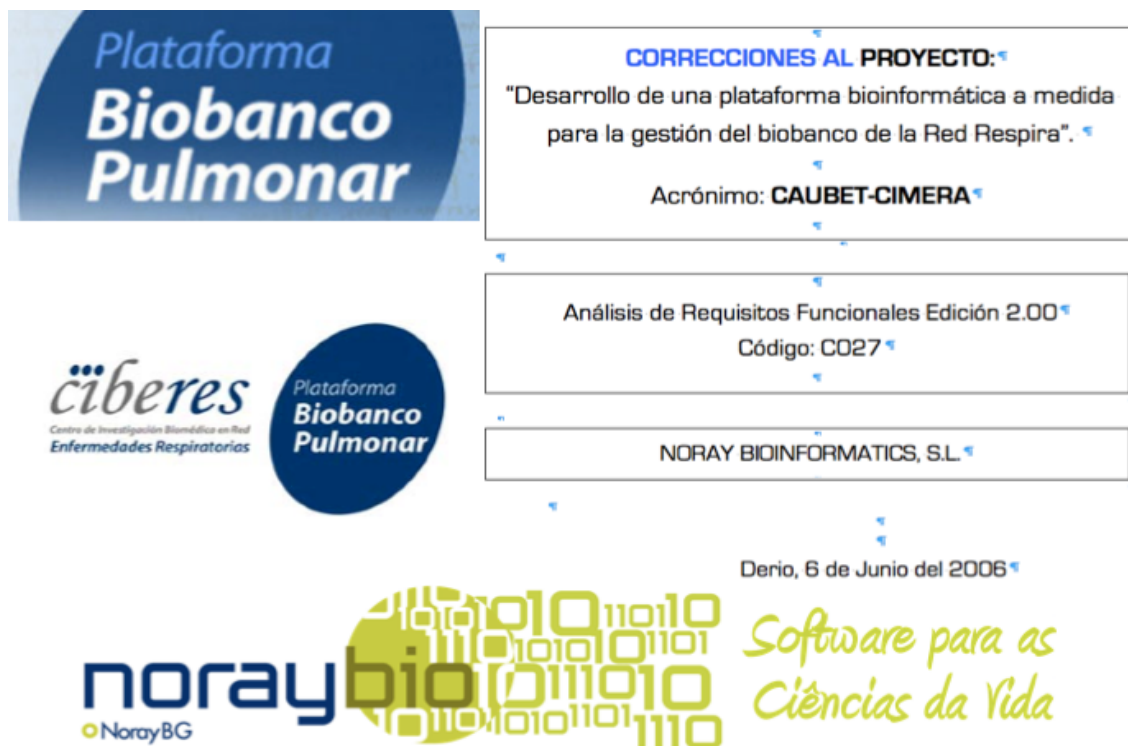


Fig 9. Fase de trabajo en el diseño y configuración de las páginas web de la futura Plataforma Nacional de Biobancos de Tejido Pulmonar en Red de la Red Ciberres-Respira de la Sociedad Española de Neumología (SEPAR), que tras cambio en la dirección y control del Biobanco de Tejido Pulmonar del Hospital de Son Dureta, se declinó que presentáramos en el Congreso Nacional anual de SEPAR en Sevilla.

Fue una labor, tras la cual, se ha ido generando paralelamente, al igual que ha ido ocurriendo en asma, todo un trabajo de campo desde los clínicos en la EPOC tendente a la caracterización progresiva de los fenotipos clínicos o grupos de pacientes con la enfermedad con características comunes de interés pronóstico o terapéutico (al beneficiarse por mecanismos patológicos similares de tratamientos similares). La evolución de las técnicas de imagen del TAC con cuantificación de áreas de atenuación pulmonar y distribución del enfisema o de la medida del engrosamiento de la pared bronquial han ayudado al respecto, con un gran desarrollo tecnológico en la actualidad, del que no disponíamos al iniciar nuestro estudio.

Ofrecemos valiosas conclusiones a partir de nuestra experiencia, y de las limitaciones de nuestro estudio piloto de la expresión génica diferencial de las muestras de tejido pulmonar de los pacientes con EPOC del biobanco que aquí presentamos, derivadas principalmente de un limitado número muestral, al tratarse de un estudio realizado de las primeras 100 muestras consecutivas de un único nodo o biobanco de tejido pulmonar, antes de haber podido disponer de muestras de esa ideada futurible red de biobancos, y tras haber perdido el acceso a más muestras de tejido pulmonar del biobanco, tras cambiar de manos el control y gestión del mismo. Y teniendo en cuenta una reducción muestral significativa de las muestras finalmente disponibles de forma efectiva para la realización de las hibridaciones para valoración de la expresión génica diferencial, por un filtrado previo por criterios estrictos de exclusión y de cantidad y calidad del ADN extraído, generalmente más degradado en las muestras de fumadores.

Todo ello llevó a que el estudio diera resultados significativos de expresión de vías moleculares en la comparación inicial grosera EPOC versus no EPOC, con confirmación funcional espirométrica de obstrucción en todos los casos, y de su definición con cociente postbroncodilatación en su mayoría.

Pero, no obstante, no tuviera resultados significativos diferenciales en la expresión en los subgrupos fenotípicos, al ser la muestra de cada uno de ellos mucho más reducida. Esto se valora de forma mucho más exhaustiva en los resultados y la discusión del estudio.

Por ello, una de las conclusiones del estudio es que se necesitan tamaños muestrales mucho mayores, con fenotipos puros muy bien clasificados, de forma exhaustiva, estricta y objetiva; y que la utilización futura de redes de biobancos de tejido pulmonar de este tipo, con la incorporación de los avances tecnológicos (TAC etc) oportunos, puede conseguir este objetivo.

Es por tanto necesaria la proliferación de plataformas de redes de biobancos de tejido pulmonar, como la que se está desarrollando en España, en la que nosotros, humildemente, intentamos poner los cimientos para el inicio de su funcionamiento, para un estudio adecuado de los fenotipos de la EPOC.

Nuestras experiencias y dificultades o limitaciones, reflejadas en este manuscrito pueden servir de punto de partida o de referencia para estos nuevos proyectos.

Finalmente también se discuten y comparan otros abordajes en el estudio de la etiopatogenia y de las vías moleculares de la EPOC a través de los estudios genéticos en marcha, y los sesgos de nuestro estudio, y de los otros estudios, que dificultan la comparabilidad de los mismos con nuestra experiencia, aunque refuerzan algunos de nuestros resultados.

Así mismo, todos juntos pueden aportar un granito de arena, para los nuevos megaproyectos de estudio de la expresión génica de la EPOC que están en proceso o actualmente en marcha.

COPD Gene™
COPD Genetic Epidemiology

- 21-center, \$35 million NHLBI initiative
- 10,500 subjects, cross-sectional
- To perform whole genome genotyping phenotyping correlation
 - State-of-the art HRCT
 - Physiologic assessment
 - Symptom/health status assessment

SPIROMICS National Heart, Lung and Blood Institute Foundation

- Phenotypic/clinical parameters and biological markers will enable COPD patients to be divided into homogeneous subgroups.
- The same, or a different subgroup, of phenotypic/clinical and biological markers can be used as intermediate outcomes for use as clinical trial endpoints.

University of Utah
UC San Francisco
UC Los Angeles
Columbia University
University of Michigan
Wake Forest University
University of North Carolina at Chapel Hill

Fig 10. Megaproyectos en EEUU para el estudio de los fenotipos de la EPOC y su correlación con la expresión génica (COPD-Gene y Spiromics del Nacional Heart Lung and Blood Institutes of Health).

Que ante todo podamos ir dando respuestas, y aumentar el conocimiento, sobre los apasionantes mecanismos y vías moleculares subyacentes de la inmunidad, reparación celular, senescencia y homeostasis humanas, que hacen que ciertos individuos ante los mismos estímulos (por ejemplo el humo del tabaco) puedan ser más susceptibles y acabar desarrollando una u otras enfermedades pulmonares.

5.1.5. Fenotipos clínicos de la EPOC:

El concepto de “fenotipos clínicos en la EPOC” se ha venido a definir como “aquellos atributos de la enfermedad que solos o combinados describen las diferencias entre individuos con EPOC en relación a parámetros que tienen significado clínico”. De acuerdo con Miravittles et al. (442), existen 3 fenotipos clínicos pulmonares que se asocian con factores pronósticos y sobre todo con distinta respuesta a los tratamientos disponibles: 1) el agudizador; 2) el mixto EPOC-asma; 3) el enfisema-hiperinsuflado.

El **EPOC agudizador** se caracteriza por la presencia de al menos 2 agudizaciones en el año previo, lo que tiene gran impacto pronóstico. Además del tratamiento con broncodilatadores de larga duración, suele requerir la utilización de fármacos antiinflamatorios inhalados como los corticoides. Pueden tener un mayor componente eosinofílico con mayor respuesta a corticoides inhalados, o en EPOC grave, neutrofilico, con mayor respuesta a roflumilast, a tratamientos antibióticos crónicos o de la colonización bronquial, y de las comorbilidades cardiovasculares o metabólicas. Precisa, como paso previo, la optimización del tratamiento, tanto de deshabituación tabáquica, inhalado de base, de sostén, de las agudizaciones y de las comorbilidades.

Factores de riesgo asociados a repetidas exacerbaciones

Edad avanzada

Gravedad de la EPOC

-mayor disnea basal

-FEV1 más bajo

-paO2 más bajo

Historia previa de exacerbaciones

Inflamación de la vía aérea mayor

sistémica mayor

Carga bacteriana (en fase estable)

Hipersecreción bronquial

Comorbilidad Cardiovascular

Ansiedad-depresión

Miopatía

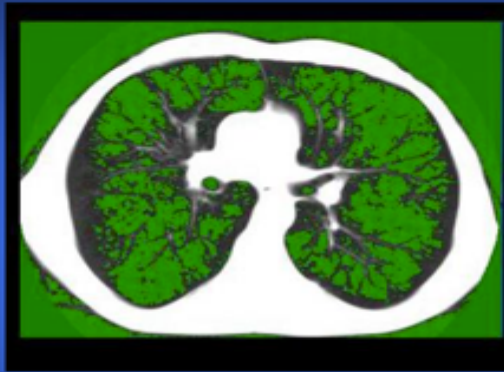
Reflujo

El subgrupo de pacientes con bronquitis crónica-bronquiectasias- engrosamiento de la pared bronquial-hipersecreción bronquial se suele incluir en este fenotipo.

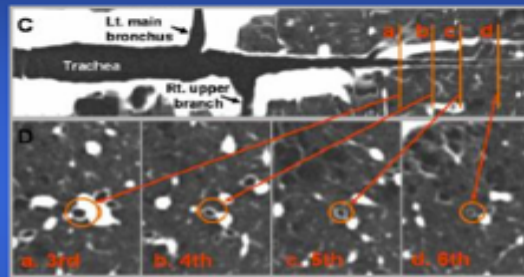
El fenotipo mixto **EPOC-asma** presenta una obstrucción no completamente reversible al flujo aéreo acompañada de una reversibilidad aumentada de la obstrucción. Suele presentar mayor eosinofilia y una buena respuesta terapéutica a los corticoides inhalados en combinación con broncodilatadores. Puede incluir a EPOC asmatiformes o EPOC (el 25%) con reversibilidad significativa de la prueba broncodilatadora, asmáticos que fuman y/o desarrollan EPOC, no fumadores que desarrollan limitación crónica al flujo aéreo, etc.

El fenotipo **enfisema** presenta pobre respuesta a fármacos antiinflamatorios. El atrapamiento aéreo y la hiperinsuflación pulmonar son responsables de un mayor trabajo ventilatorio que se suele traducir en mayor disnea de esfuerzo. Los broncodilatadores de larga duración y la rehabilitación son la base de su tratamiento.

CT Assessment of Disease



Emphysema percent was quantified from HRCT using a threshold of ≤ -950 HU



Airway analysis examined in the 3rd generation (segmental) airway of each lobe.

Haswegawa, et al. *AJRCCM* 2006;173

Fig 11. Fenotipado pulmonar mediante el desarrollo de mayor resolución y nueva tecnología en la TAC torácica en los últimos años, con cuantificación y distribución espacial de las áreas de atenuación del fenotipo enfisema (medidas en unidades Hounsfield: HU) con predominio de afectación bronquial terminal y parenquimatosa alveolar, y la medida del grosor de la pared bronquial en el fenotipo bronquitis crónica-bronquiectasias con predominio de afectación obstructiva de las vías aéreas de conducción bronquial (443-446)

Hay de estos fenotipos, algunos consensuados objetivables pulmonares (enfisema pulmonar, EPOC-asmátiforme u overlap EPOC-asma (ACOS) y bronquiectasias o bronquitis crónica), que coinciden básicamente con los fenotipos pulmonares que nosotros seguíamos en nuestro estudio.

Y otros que todavía están en discusión por su reproducibilidad, por su significación y su traductibilidad a endotipos o subgrupos que puedan tener vías moleculares sobreexpresadas similares: EPOC agudizador, fast decliner... .

Pero que tienen alto interés pronóstico, al precisar mayor esfuerzo terapéutico, por su peor evolución en cuanto a morbimortalidad. Sin embargo, siguen generando la duda de si son grupos con mayor susceptibilidad génica (mayor inflamación, riesgo cardiovascular, colonización bronquial, susceptibilidad al tabaco), o bien también que exista un sesgo en un subgrupo de ellos denotando déficits en el manejo o tratamiento (inadecuado tratamiento de comorbilidades, de colonización bronquial o riesgo cardiovascular, ventilación no invasiva, deshabituación tabáquica, falta de tratamiento con oxigenoterapia cuando hay indicación, inadecuados tratamientos de las agudizaciones o del manejo antibiótico, etc).

El estudio de la expresión génica diferencial de estos grupos heterogéneos no puros, puede ayudar, siempre que se considere este posible sesgo, en dos sentidos: a valorar vías moleculares expresadas

diferencialmente con mayor susceptibilidad; pero también, los déficits de manejo y de tratamiento existentes.

Así mismo, otros han detectado fenotipos combinados clínicos con repercusión sistémica cardiovascular precoz y mayor morbimortalidad (447)

5.1.6. Translational research.

Parece que clínicos y básicos, de forma interesante han ido cada uno por un lado o por caminos divergentes.

Estamos en un proceso donde los clínicos se han movido, en un extremo, más en el campo del fenotipado clínico, a veces detectando “fenotipos” heterogéneos no puros (coctelera) que en realidad se podrían componer de endotipos diferentes (o distintos subgrupos con vías moleculares de expresión similar).

Por su parte, los básicos y biólogos se han dedicado a la realización de estudios de genotipado, linkage, GWAS, estudios funcionales estructurales histológicos de replicación génica con marcaje con fluoresceína y estudios funcionales de vías moleculares concretas en ratones con ausencia de genes específicos (ratones knock out).

La proliferación de redes de biobancos de tejido pulmonar, de forma similar a la experiencia iniciada por nosotros, permitirá perseguir este objetivo de conseguir más muestras de pacientes con n mayores de fenotipos más puros que permitan estudiar los endotipos de la EPOC.

La colaboración de igual a igual entre clínicos y básicos es fundamental, aunando la visión clínica de médicos o clínicos, más dirigida a detectar fenotipos clínicos o de riesgo que precisen tratamientos concretos, con la de biólogos y básicos, con tendencia a purificar los fenotipos en endotipos o subgrupos que puedan tener unas mismas vías moleculares afectadas.

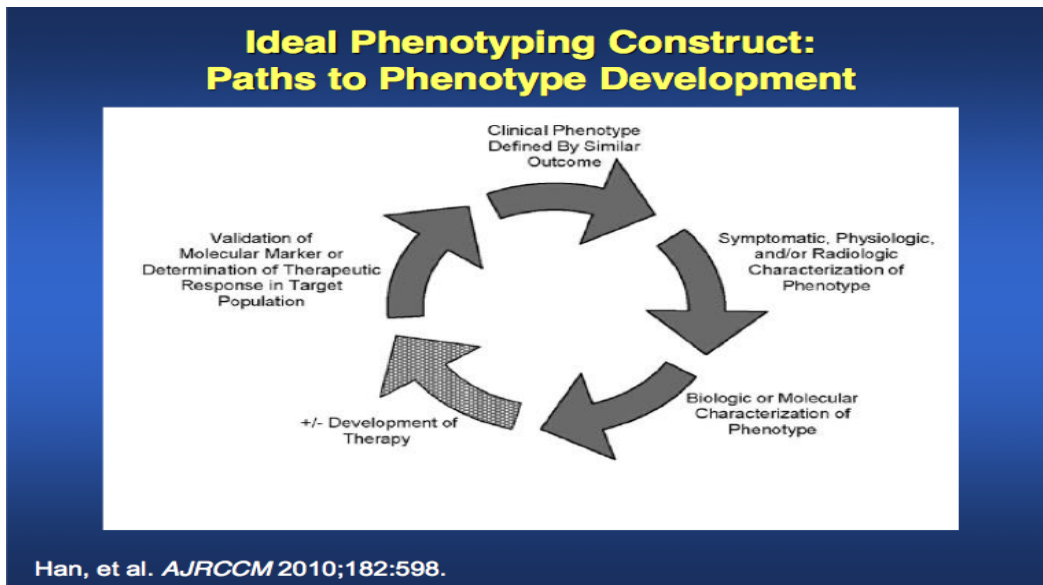


Fig 12. Proceso propuesto por Han en EPOC, asemejando el camino recorrido ya en asma, recomendando el trabajo conjunto de clínicos y básicos (“translational research”) para la caracterización de fenotipos clínicos con marcadores y su subclasificación en endotipos con vías moleculares comunes de expresión diferencial (448).

Todavía existe un gran camino por recorrer con esta comunicación indispensable entre clínicos y básicos (“translational research”) para interpretar la expresión génica diferencial con los conocimientos patogénicos adquiridos y aportando sus visiones diferenciadas al respecto, y la plausibilidad biológica de los resultados, poder llegar a traducir los fenotipos clínicos en dichos endotipos con patrones de vías moleculares de expresión diferencial predominantes comunes. Y así buscar nuevas dianas terapéuticas más dirigidas.

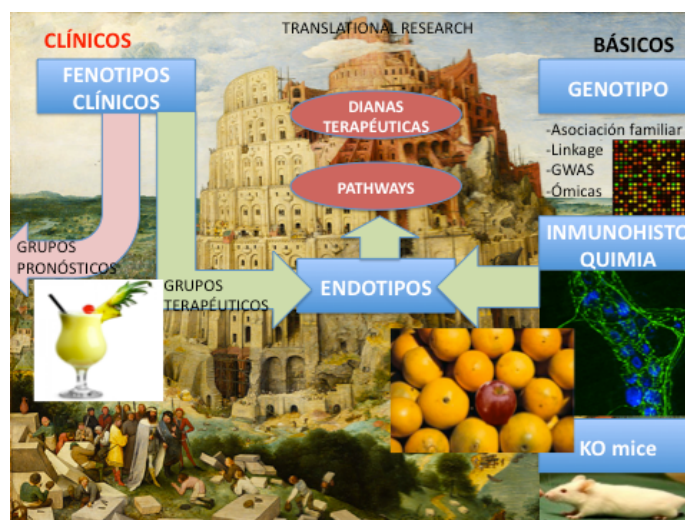


Fig 13. Visiones diferentes clínica (coctelera sindrómica: resultados pronósticos) y básica (fenotipación pura: función de vías moleculares) que deben confluir y consensuarse para la detección de los endotipos o subgrupos con vías moleculares expresadas comunes susceptibles de dianas terapéuticas.

Que ante todo podamos ir dando respuestas, y aumentar el conocimiento, sobre los apasionantes mecanismos y vías moleculares subyacentes de la inmunidad, reparación celular, senescencia y

homeostasis humanas, que hacen que ciertos individuos ante los mismos estímulos (por ejemplo el humo del tabaco) puedan ser más susceptibles y acabar desarrollando una u otras enfermedades pulmonares

5.1.7. Endotipos: el futuro de la patogénesis de la EPOC.

El futuro inmediato de las hipótesis patogénicas de la EPOC pasa por detallar y mapear las vías etiopatogénicas que se sobreexpresan en cada uno de los fenotipos y endotipos de la enfermedad. Los fenotipos clínicos se han definido como los grupos con características diferenciales de significado pronóstico que precisan de un tratamiento diferencial. Mientras que los endotipos serían aquellos subgrupos de pacientes con etiopatogenia similar que se deba a sobreexpresión de vías moleculares comunes.

Actualmente el futuro inmediato intenta esclarecer cuáles puedan ser esos endotipos de la EPOC. Para ello se dispone de herramientas -ómicas, sobre todo de expresión genómica, citometría de flujo, nanotecnología, técnicas de replicación y amplificación génica e inmunohistoquímica. La creación y proliferación de redes de biobancos de tejido pulmonar, con bases de datos complejas, y marcadores y técnicas permitirá la detección y cuantificación objetivas, de una gran cantidad de pacientes representativa de fenotipos puros específicos con rangos diferenciales de la enfermedad que no sean susceptibles de discusión.

A su vez se trata de hacer una valoración adecuada de los datos genéticos y etiopatogénicos disponibles, tanto de modelos animales y sobre muestras de tejido pulmonar o no (inflamometría, lavados broncoalveolares, sangre periférica, cultivos celulares, etc) y de las características específicas de los pacientes en concreto sobre los cuales se realizaron dichos estudios, para poder comparar y sacar conclusiones fiables de cuáles puedan ser esas vías etiopatogénicas expresadas en dichos subgrupos.

Han et al. proponen en su modelo detectar endotipos a partir de aquellos fenotipos clínicos de la EPOC que dispongan de marcadores objetivos no refutables.

En cualquier caso, puede que todavía estemos un paso más atrás: se está llegando a un cierto consenso sobre los fenotipos clínicos de la enfermedad, al menos los pulmonares; con un debate todavía candente sobre su relación con los sistémicos.

No obstante, todavía existe cierto debate sobre como definir y medir el grado y gravedad de estos fenotipos pulmonares de forma objetiva con marcadores fiables.

La evolución de las técnicas radiológicas de tomografía axial computerizada torácica permiten actualmente cuantificar y valorar con fiabilidad la distribución del **enfisema** pulmonar, mediante el

cálculo del nivel y distribución de la intensidad de la atenuación pulmonar. Las bronquiectasias o el **engrosamiento peribronquial** de la bronquitis crónica actualmente es medible por fórmulas calculadas por TAC, al igual que su extensión, y grado de distorsión bronquial y existen escalas para ello.

Además de poderse definir y cuantificar por técnicas de imagen, ambos fenotipos tienen características diferenciales, aunque el problema es que están mezclados en muchos casos en mayor o menor grado.

Así, en el enfisema se cree que predomina el atrapamiento aéreo y la disnea. Se ha hipotetizado que pueda tener menor respuesta a corticoides inhalados, por lo que se recomienda como tratamiento, en caso que no sea un fenotipo reingresador, el optimizar asociaciones de broncodilatadores para desatrapar y añadir teofilina posteriormente si es necesario, y sólo en último caso corticoides inhalados. Y hay que tener en cuenta que aunque no exista una comorbilidad cardiovascular manifiesta en la mayoría de casos, existe una mayor susceptibilidad a episodios de muerte súbita cardiovascular por arritmias o cardiopatía isquémica y de cáncer de pulmón, especialmente en agudizaciones con necesidad en muchos casos de ventilación mecánica.

Mientras que en la bronquitis crónica se cree que prepondera una inflamación macrofágico-neutrofílica, con un componente inflamatorio y sintomático importante, con expectoración crónica purulenta, y generalmente con comorbilidad cardiovascular asociada y en estadios avanzados cor pulmonale de instauración progresiva e hipercapnia. En ella, además de los broncodilatadores en asociación y corticoides inhalados, se recomiendan inhibidores de la endotelina como el roflumilast y tratamientos antiinflamatorios para mejorar el aclaramiento mucociliar y el manejo de secreciones. El tratamiento de las infecciones y agudizaciones, también con ventilación mecánica si precisa, se convierte en prioritario, así como de sus comorbilidades, especialmente cardiovasculares, y de la colonización bronquial una vez instaurada, con macrólidos de forma crónica tres veces por semana, mucolíticos y antibióticos nebulizados crónicos cuando lo precise (especialmente en caso de gram negativos como *Pseudomonas spp*).

Otros fenotipos pulmonares, a pesar de su importancia pronóstica, generan todavía cierto debate, para poder tratar de definirlos de forma objetiva evitando sesgos y factores de confusión: el EPOC asmático, el EPOC multirreingresador y el EPOC con aceleración de la obstrucción bronquial medida por la caída del volumen espiratorio forzado en el primer segundo (FEV1).

5.2 Presente a partir de las hipótesis y estudios patogénicos pasados de la EPOC e implicaciones en las concepciones del Biobanco de Tejido Pulmonar del Hospital de Son Dureta y sus bases de datos.

5.2.1. Definición actual de la EPOC.

La EPOC se define actualmente por la Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease (GOLD) 2014 (413) como un **“padecimiento frecuente que es prevenible y tratable, caracterizado por una limitación persistente al flujo aéreo, que normalmente es progresiva y se asocia a una respuesta inflamatoria acentuada y crónica de las vías respiratorias y los pulmones ante la exposición a partículas o gases nocivos, más frecuentemente al humo del tabaco, polución o de la combustión de carbón o leña. Las exacerbaciones y las comorbilidades contribuyen a la gravedad general en cada paciente en lo individual”.**

5.2.2. Impacto de la EPOC.

Actualmente es la 4ª causa de mortalidad en los EEUU y en los países industrializados, y se estima que se convierta en la 3ª causa en 2020. Representa una importante carga asistencial, y de gasto sociosanitario, tanto por costes directos como indirectos, al ser una enfermedad progresiva y en muchos casos invalidante (414,415).

Pese al aumento del interés por la misma, y el gran desarrollo de la investigación en las últimas décadas, todavía la patogénesis de la EPOC no es totalmente conocida. Los fármacos empleados actualmente han demostrado mejorar los síntomas y la calidad de vida de los pacientes y reducir sus exacerbaciones. Pocos, sin embargo, han demostrado ralentizar la caída de la función pulmonar o reducir la inflamación bronquial; y sólo algunos, de forma aislada, una tendencia no significativa a disminuir la mortalidad.

Parece que estos fármacos, conjuntamente, eso sí, con el ejercicio físico, la nutrición adecuada, el mejor tratamiento de las exacerbaciones, de la colonización bronquial y de las comorbilidades, así como de la insuficiencia respiratoria y ventilatoria agudas y crónicas, están consiguiendo aumentar la supervivencia de la EPOC.

No obstante, las actuaciones aisladas prioritarias demostradas más efectivas para aumentar las supervivencia siguen siendo el abandono del hábito de fumar, la oxigenoterapia crónica domiciliar crónica para la insuficiencia respiratoria crónica, la cirugía de reducción de volumen con resección de bullas en casos específicos de afectación de lóbulo superior derecho y el trasplante pulmonar cuando está indicado.

Por ello se está haciendo hincapié en el estudio de la patogénesis de la EPOC mediante el conocimiento progresivo de las vías moleculares implicadas, con el objetivo de encontrar nuevas dianas terapéuticas que puedan tener un significado pronóstico a la hora de desarrollar nuevos fármacos en el manejo de la enfermedad.

5.2.3 Evolución histórica de las definiciones y concepciones patogénicas de EPOC.

La evolución de la definición de la EPOC ha ido en paralelo a la de las técnicas diagnósticas y al desarrollo tecnológico, que han permitido ir perfilando las hipótesis más aceptadas sobre los fundamentos patogénicos de la enfermedad, y sobre dónde instaurar el umbral que la debe diferenciar del concepto “persona sana”.

Desde conceptos al principio meramente descriptivos semiológicos y clínicos, como los de “soplador rosado” y “congestivo azul”, refiriéndose a los pacientes con **enfisema** y **bronquitis crónica** (ved más abajo) respectivamente, que podían inducir a confusión; se pasó con el advenimiento de la espirometría forzada a una definición de consenso únicamente funcional restringida al concepto de **obstrucción crónica al flujo aéreo**, pero que permitió aunar criterios.

Posteriormente, con el uso de las técnicas fibrobroncoscópicas y la obtención de muestras de biopsias pulmonares, broncoaspirados y lavados broncoalveolares, y el advenimiento posterior de otras técnicas de inflamometría y de citometría de flujo para la caracterización de las células inflamatorias, se recalcó la importancia del concepto de **inflamación crónica pulmonar y sistémica**.

Así mismo se correlacionaron los datos de inflamometría de vía aérea, parénquima pulmonar y sangre periférica con los estudios histológicos de biopsias bronquiales y pulmonares, con las **lesiones anatomopatológicas** características de la EPOC. Con el desarrollo de las técnicas radiológicas de imagen de la Tomografía Axial Computerizada (TAC) de tórax actualmente ya es posible la cuantificación y valoración de la distribución y gravedad de las mismas, tanto la cuantificación del grado de atenuación del enfisema, como del engrosamiento de la pared bronquial.

Estudios principalmente con modelos animales, generalmente ratones expuestos a extractos concentrados de humo de tabaco, han permitido experimentos de replicación génica marcada sobre cortes histológicos pulmonares o con ratones sin genes específicos (“knocked out”) para el estudio de los genes expresados y **vías moleculares** de la EPOC.

Posteriormente, la aparición de biobancos de tejido pulmonar humano ha permitido estudios de asociación génica (“linkage”) y de expresión génica diferencial con estudios amplios de asociación del genoma (GWAS: genome-wide association studies) focalizando el estudio de la patogénesis de la EPOC en las **alteraciones de la barrera epitelial** que inducían vías moleculares de la **inmunidad**

innata celular, alteraciones de la reparación celular (citoesqueleto, factores de crecimiento, citoquinas de comunicación epitelio-macrófago-neutrófilo-linfocito TCD8 y CD4-endotelio, miofibroblastos, y posteriormente células dendríticas y eosinófilos) **y hemostasis** (balance oxidante-antioxidante, proteasa-antiproteasa, inflamación-antiinflamación, proliferación-apoptosis, ciclo celular, envejecimiento, etc). Así mismo se pone de manifiesto la importancia de conocer los **mecanismos intrínsecos de transducción de señal** vía receptores asociados a proteínas G, intercambio de calcio, o sistemas de kinasas, y regulatorios de la inflamación (NF-κB).

5.2.4 La EPOC como parte de la enfermedad tabáquica.

Algunos han considerado siempre la **enfermedad como “el tabaquismo”** con su afectación progresiva pulmonar como parte de la misma dentro del variado repertorio de las consecuencias del humo del tabaco, negando denominaciones como “fumador o exfumador sano”.

Tabla : Enfermedades relacionadas con el tabaquismo

Pulmonares:

EPOC: bronquitis crónica, bronquiolitis obstructiva y enfisema.
Neumopatías intersticiales: Bronquiolitis, Neumonía organizativa crónica, neumonía intersticial linfoide, histiocitosis X y fibrosis pulmonar idiopática.
Infecciones del tracto respiratorio, sinusitis y neumonía.
Cáncer de pulmón

Cardiovasculares:

Arteriosclerosis y ateroma.
Enfermedad tromboembólica.
Enfermedad vascular periférica

- Claudicación intermitente.
- Enfermedad de Búrguer (tromboangeitis obliterante).

Aneurisma de aorta.
Hipertensión maligna.
Cardiopatía isquémica.
Insuficiencia cardíaca y arritmias.
Enfermedad vascular cerebral.

- Ictus.
- Hemorragia subaracnoidea.

Neoplasias:

Cáncer de pulmón, labio, orofaringe, laringe, esófago, estómago, páncreas, intestino, riñón, vejiga, cerviz uterino, etc.

Gastrointestinales:

Gingivitis, estomatitis, enfermedad periodontal, colonización faríngea, laringitis.
Úlcera péptica.
Enfermedad por reflujo gastroesofágico (ERGE).

Reproductivas:

Disfunción sexual (varones). Infertilidad.
Complicaciones del embarazo. Efectos sobre el feto y sobre el niño.

Otras enfermedades:

Osteoporosis.
Envejecimiento prematuro de la piel (arrugas).
Enfermedad de Graves-Basedow (tiroides).
Cataratas. Transtornos retinianos.
Transtornos del sueño.

No obstante, ante la exposición al humo del tabaco, los pacientes pueden desarrollar distintas enfermedades pulmonares, dependiendo de su edad, del estadio evolutivo de desarrollo pulmonar y el estado de su sistema inmune innato, capacidad regenerativa y homeostática.

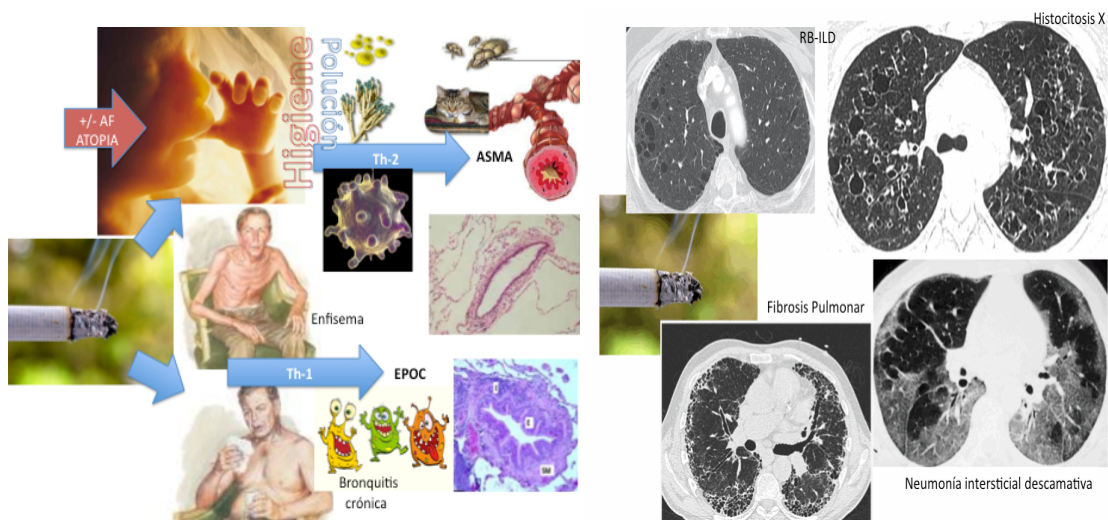


Fig 14. Distintas patologías como resultado de la susceptibilidad a la expresión de determinadas vías moleculares ante un mismo estímulo (ejemplo: el humo del tabaco) provocando distintas enfermedades pulmonares: asma (especialmente ante la exposición fetal o infantil, con una predisposición genética atópica familiar, y ante la exposición a determinados alérgenos, polución o infecciones virales, con desarrollo de una respuesta inflamatoria preponderante Th2 con eosinófilos y mastocitos; la EPOC, con sus variantes enfisema y bronquitis crónica, con una inflamación predominante Th1 con macrófagos alveolares y neutrófilos, con destrucción del parénquima pulmonar o con expectoración crónica con o sin colonización bacteriana respectivamente; las enfermedades intersticiales relacionadas con el humo del tabaco (entre ellas la histiocitosis X, la bronquiolitis respiratoria y la neumonitis intersticial descamativa), o incluso fibrosis pulmonar (al ser factor de riesgo de la misma) (508,509).

También la aparición y evolución de las enfermedades va a depender de la susceptibilidad genética y epigenética del huésped, de la exposición al ambiente y a lesiones continuadas o no por tóxicos alérgenos e infecciones y al efecto de los tratamientos. De aquí la importancia de la documentación de las exposiciones, las infecciones, colonización y tratamientos.

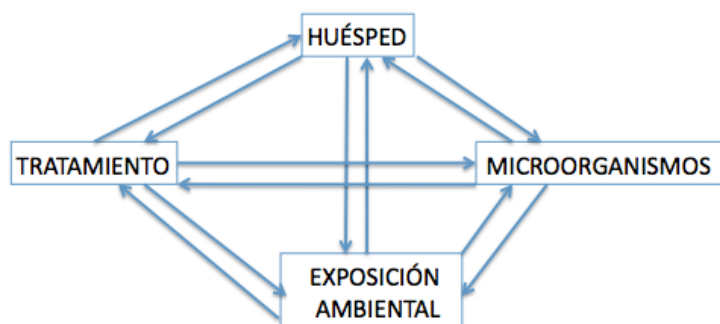


Fig 12. Factores relacionados con la susceptibilidad genética o epigenética, la exposición al ambiente, a los tratamientos y a las infecciones, interactúan confiriendo prioridad a la expresión de determinadas vías moleculares

5.2.5. El pasado de las concepciones patogénicas de la EPOC.

Primero, las definiciones son semiológicas, basadas en la observación e interpretación de signos y síntomas, lo cual dependía en muchos casos de la exhaustividad de la observación y habilidades exploratorias del clínico.

5.2.5.1. Concepciones semiológicas.

Con la **semiología clínica** surgen las primeras clasificaciones de fenotipos pulmonares diferenciados que persisten hoy en día, y se han corroborado con el desarrollo de las pruebas de imagen por Tomografía Axial Computerizada (TAC). En una etapa en que, ante la falta de desarrollo tecnológico de pruebas diagnósticas, la anamnesis, la exploración física, y la observación detallada de signos y síntomas presentes en los pacientes fumadores, hace posible la detección de los fenotipos más extremos, puros o diferenciados, es decir, aquellos con características más manifiestas.

Actualmente, con el desarrollo de las técnicas de imagen del TAC y genómicas, se han confirmado diferencias de estos 2 fenotipos más puros, como corroborando la importancia de la semiología y la exploración física, más valorada antaño, para la detección de los síndromes clínicos como herramienta fundamental del clínico, que quizá ahora se ha dejado más de lado, equivocadamente, ante la disponibilidad bastante inmediata de técnicas diagnósticas avanzadas de primera mano.

5.2.5.2. Fenotipos clásicos de la EPOC.

Se describieron entonces 2 grupos de pacientes entre algunos fumadores que presentan características concretas:

- **“Pink puffer” o “soplador rosado”:** Se trata de pacientes generalmente delgados, con espacios intercostales marcados, con tórax hiperinsuflado “en tonel” por atrapamiento aéreo que se corrobora por hipofonesis en la auscultación. Habitualmente con coloración rosácea de piel, sin cianosis, y que cursan clínicamente con tos seca no productiva o con escasa expectoración, disnea marcada, generalmente con taquipnea por trabajo respiratorio aumentado, que a veces, característicamente, hacen que el paciente respire realizando maniobras de Valsalva en espiración al fruncir los labios para conseguir vaciar mejor el aire de sus pulmones.

En necropsias de este tipo de pacientes se observaba de forma predominante en el pulmón **enfisema** (agrandamientos de los espacios aéreos distales al bronquiolo terminal, afectando o no también a los alveolos) que conferían al pulmón una morfología agujereada en “queso de Grullére”.

- **“Blue bloater” o “congestivo/abotargado azulado”:** Se trata de pacientes generalmente obesos, con cianosis marcada, a veces con congestión facial, tos con expectoración abundante, generalmente mucopurulenta o purulenta, hipoxemia e hipercapnia, con cierta tendencia a la somnolencia, y sin excesiva disnea ni taquipnea, al no observarse un trabajo ventilatorio exagerado, poliglobulia, tendencia a desarrollar insuficiencia cardíaca por cor pulmonale y patología cardiovascular sistémica.

Clínicamente, se relacionó este fenotipo con el concepto de **bronquitis crónica**, que definía a aquellos pacientes que presentaban expectoración crónica (generalmente matutina), durante al menos 3 meses seguidos, durante al menos 2 años consecutivos.

En necropsias de este tipo de pacientes se observaba infiltración inflamatoria peribronquial predominante de la vía aérea, con ocupación parcial de la luz por moco, hipertrofia e hiperplasia del músculo liso y de las glándulas mucosas, confirmadas por el aumento del índice de Reid (la relación entre el espesor de las glándulas submucosas bronquiales y el grosor de la pared bronquial).

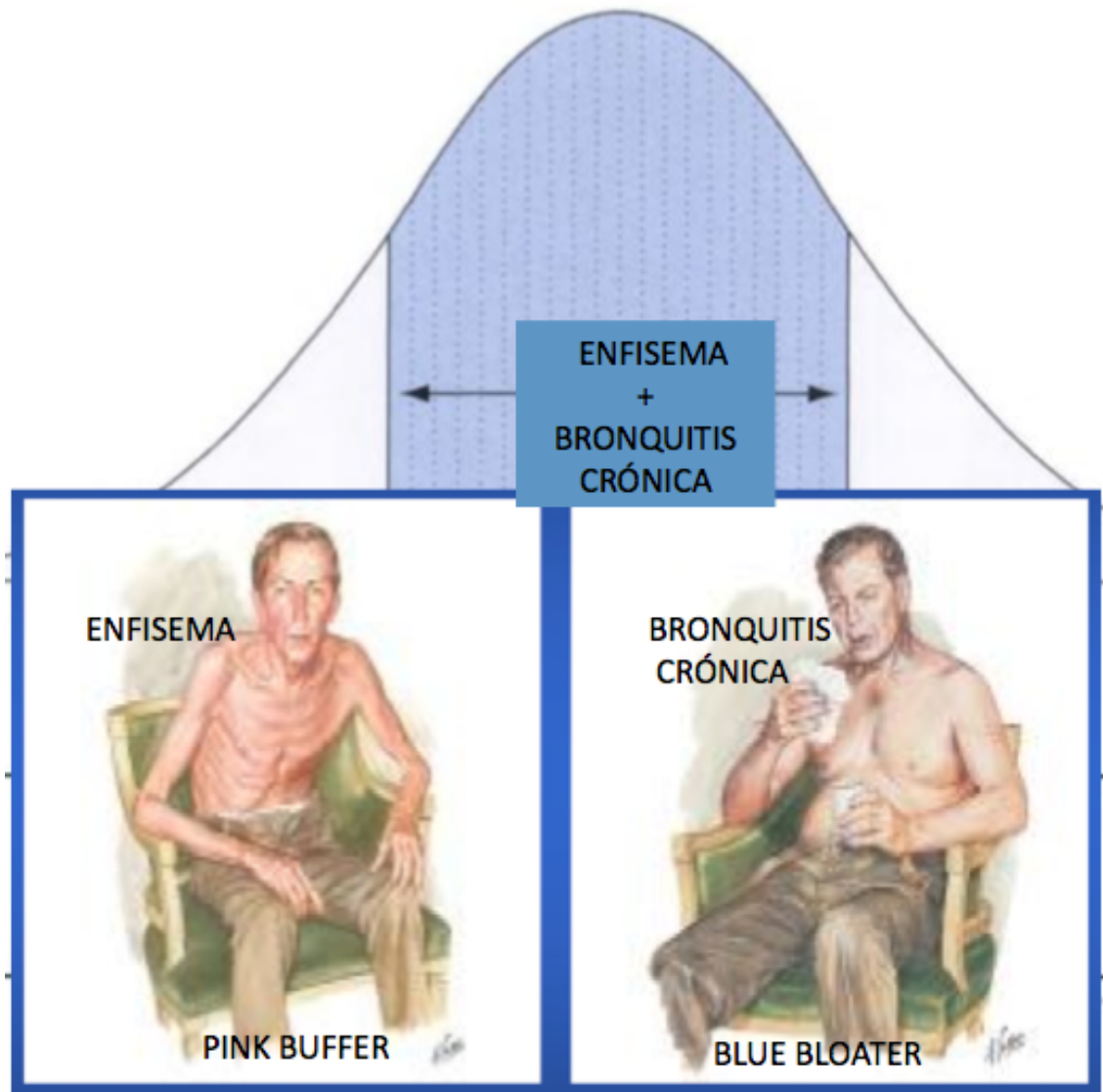


Fig 15. Fenotipos clínicos pulmonares clásicos de la EPOC: EPOC tipo A (enfisema) y EPOC tipo B (bronquitis crónica). Como vemos son fenotipos extremos de la campana de Gauss, mientras la mayor parte de pacientes presenta una mezcla de características de ambos fenotipos. Adaptado de Netter.

Los problemas que generaban estas clasificaciones, además de su subjetividad que hacía complicado establecer patrones comparativos universales en los estudios, eran que se trataran de fenotipos extremos puros, que no representaban a la mayoría de los pacientes fumadores con problemas pulmonares, puesto que éstos compartían características mixtas de uno y otro en mayor o menor proporción, al ser la parte central de la campana de Gauss (ved Fig 15).

5.2.5.3. Primeras hipótesis patogénicas de la EPOC.

Aparecieron entonces 2 hipótesis en los años 1960s, actualmente superadas y parcialmente rebatidas, que intentaban dar explicaciones plausibles a las enfermedades pulmonares obstructivas crónicas: las famosas hipótesis “holandesa” (“Dutch hypothesis”) y la “británica” (British hypothesis). Aunque las pruebas de imagen y las técnicas genómicas han suplantado dichas concepciones generalizadoras, demostrando que la realidad es más compleja, e inutilizándolas como explicación simplificada general, no obstante, todavía generan hoy en día un cierto debate:

5.2.5.3.1. La “hipótesis holandesa” (the “Dutch hipótesis”).

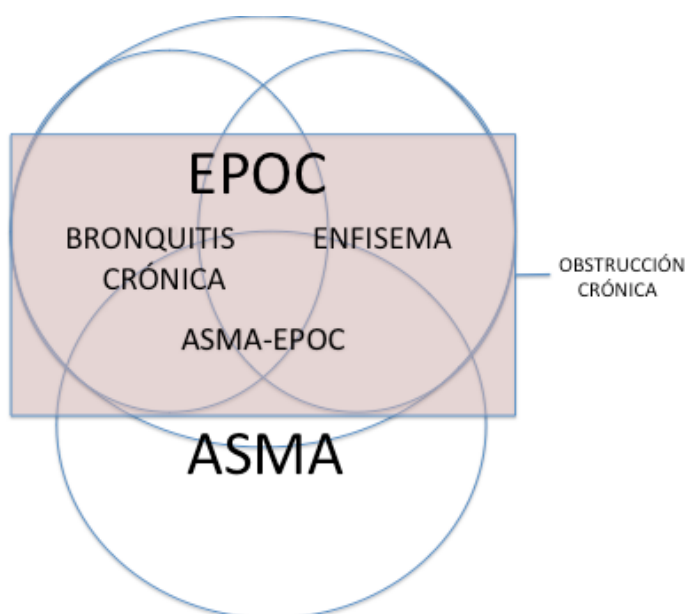


Fig 16. Desarrollo actual a partir de la “hipótesis holandesa” rebatida del probable origen común de las neumopatías crónicas obstructivas en una supuesta enfermedad común (“neumopatía obstructiva crónica inespecífica”) con supuestas vías moleculares y causas genéticas compartidas. Actualmente se reconocen como entidades distintas con mecanismos etiopatogénicos, vías moleculares de expresión génica, histología, imágenes radiológicas por TAC y comportamiento funcional pulmonar y evolutivo clínico diferentes. No obstante, persisten entidades que comparten características mixtas de varias de ellas con abanicos de tonalidades que varían de unas a otras, en un sistema más complejo de lo que a priori pudiera parecer.

En 1961 Orié et al de Gröningén (Holanda) (449) propusieron que todas las enfermedades obstructivas pulmonares que afectaban a la vía aérea (asma, enfisema y bronquitis crónica) debían ser consideradas una misma enfermedad (“neumopatía crónica pulmonar inespecífica”) con orígenes genéticos probablemente comunes relacionados con la clínica obstructiva y de hiperreactividad bronquial.

De hecho, sugerían que la atopia y la inflamación con Ig E elevada podrían ser subyacentes al desarrollo de la EPOC, siendo el asma y la EPOC extremos del mismo proceso básico.

No obstante, esta hipótesis fue rebatida por la literatura anglosajona al demostrar que el asma y la bronquitis crónica, entonces, eran enfermedades distintas con diferentes mecanismos causales.

Actualmente, los estudios de imagen, histología, inflamometría y estudios genéticos avalan que dichas entidades son diferentes, incluso la creencia actual de que la atopia predisponga al desarrollo de EPOC en fumadores, está todavía sustentada por una evidencia débil.

En cualquier caso, existen entidades mixtas con características intermedias y amalgamas de tonalidades entre las distintas patologías obstructivas crónicas que hacen que su diferenciación no sea tan precisa: asthma-COPD overlap (ACOS), asma fumador, asma crónica neutrofílica, etc. (por ejemplo: sólo entre EPOC y asma).

5.2.5.3.1.1. Desarrollo actual de la “hipótesis holandesa”: el fenotipo mixto asma-EPOC.

A partir de la hipótesis holandesa se constituyó a posteriori la definición de bronquitis asmática, de la cual se ha desarrollado en la actualidad la del fenotipo mixto asma-EPOC (Asthma-COPD overlap síndrome: ACOS) (450-452).

Tabla2. Características diferenciales entre asma, asma grave, EPOC bronquitis crónica y enfisema

	Asma	Asma crónica	EPOC bronquitis crónica	Enfisema
Células	Eosinófilos++ Macrófagos+ Linf.CD4(Th2)	Macrófagos+++ Neutrófilos + Linf CD4(Th2)++ Linf CD8+	Macrófagos+++ Neutrófilos++ Linf CD8(Tc1)	Linfocitos CD8 (Tc1)+++ Macrófagos++
Mediadores	Eotaxin IL4 IL5 IL13 NO++	IL8 IL5 IL13 NO++	IL8 TNFa IL1b IL6	IL8 TNFa IL1b IL6
Estrés oxidativo	+	+++	+++	+++
Afectación	vía aérea proximal sobre todo	vía aérea proximal y distal	vía aérea periférica sobre todo	parénquima pulmonar
Histología	Epitelio frágil Metaplasia mucosa Engrosamiento membrana basal	Engrosamiento membrana basal++	Metaplasia escamosa y mucosa Fibrosis pequeña vía aérea	Destrucción parénquima pulmonar Fibrosis pequeña vía aérea
Fx pulm	Obstrucción bronquial reversible	Obstrucción bronquial no totalmente reversible	Obstrucción bronquial generalmente no reversible	Atrapamiento aéreo

	Asma	Asma crónica	EPOC bronquitis crónica	Enfisema
Respuesta	PBD++	PBD+	PBD- generalmente	
tratamiento	Corticoides++	Corticoides±	escasa respuesta corticoides	

Linfs=linfocitos; IL=interleuquina; NO=óxido nítrico; Fx=función; PBD= prueba broncodilatadora.

Todavía no queda del todo claro el papel que puedan tener en la EPOC los genes implicados en la hiperreactividad bronquial en el asma, ni el de la regulación de una inflamación que presente posiblemente un componente más eosinofílico en las agudizaciones y en las fases más avanzadas de la enfermedad en EPOC multirreingresadores; y si este componente inflamatorio pudiera compartir en estos casos algunas características más asmáticas, sugiriendo un grado mayor de respuesta a los corticoides sistémicos e inhalados.

**Tabla 3. Criterios diagnósticos de ACOS:
2 criterios mayores o 1 mayor y 2 menores.**

Criterios mayores

PBD muy + (aumento FEV1 > 15% y 400 ml)
Eosinofilia en esputo
Antecedente de asma

Criterios menores

IgE elevada
Antecedente de atopia.
PBD + 2 ó más veces (aumento FEV1 > 12% y 200 ml)

Soler-Cataluña et al. Documento consenso EMEA. Arch Bronconeumol 2012 (452).

En el momento de la creación y puesta en marcha del biobanco de tejido pulmonar, en 2005 estas definiciones todavía no estaban consensuadas, y de hecho, no era un fenotipo de debate entre los definidos de la enfermedad.

En cualquier caso se registró en nuestra base de datos del biobanco de tejido pulmonar el fenotipo pulmonar “asmático” si había antecedentes de asma y si presentaba prueba broncodilatadora positiva puntual en el examen funcional preoperatorio.

Aunque actualmente es motivo de debate si estos criterios pudieran ser insuficientes, la cuestión era que la IgE y la eosinofilia en el esputo no eran pruebas rutinarias, y tampoco se preguntaba de manera fehaciente sobre los antecedentes de atopia de los pacientes.

Es aconsejable por lo tanto en un futuro tratar de definir cómo registrar este fenotipo, ateniéndonos a criterios de consenso, para incluir en las pruebas del preoperatorio de los pacientes de Cirugía Torácica aquellas que no se hacen de forma rutinaria y almacenar dichos resultados en las bases de datos del biobanco.

5.2.5.3.2. La “hipótesis británica” (“the British hypothesis”).

Fletcher et al proponían en 1959 (453) que el hecho de que algunos fumadores desarrollaran obstrucción crónica al flujo aéreo en la espirometría forzada a diferencia de aquellos que no lo hacían, podría estar relacionado con la interurrencia de infecciones de repetición, siendo estos últimos los que tendrían más susceptibilidad a desarrollarla.

No obstante, el mismo Fletcher realizó un estudio en 1976 (454) para corroborar dicha hipótesis, sin observar correlación entre la tos con expectoración crónica y las infecciones bronquiales recurrentes y la caída de la función pulmonar medido por la caída del volumen espiratorio forzado en el primer segundo (FEV1) como medida del grado de obstrucción bronquial. Y concedió que la bronquitis crónica y las infecciones bronquiales recurrentes eran un epifenómeno de la enfermedad.

5.2.5.3.2.1. Desarrollos actuales de la “hipótesis británica”: bronquiectasias, bronquitis crónica y EPOC agudizador.

Pese a ello, se ha demostrado una asociación de las infecciones respiratorias durante el primer año de vida con la EPOC en etapas posteriores de la vida (455-457).

Las infecciones en la infancia también podrían relacionarse con una mayor predisposición al desarrollo de EPOC en la edad adulta, se cree que al evitar que se llegue al desarrollo óptimo pulmonar.

Así mismo ciertas infecciones víricas (como el adenovirus) pueden amplificar la inflamación del enfisema y predisponer al desarrollo de EPOC (458-460).

Al igual que los fumadores seropositivos con el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) presentan una mayor susceptibilidad para el desarrollo de enfisema (461-465).

Estudios prospectivos como el ECLIPSE remarcan la importancia de las agudizaciones como factor pronóstico independiente de nuevas agudizaciones, de aceleración de la caída del FEV1, deterioro de la calidad de vida y aumento de los síntomas, de la inflamación sistémica y de la mortalidad. La valoración de síntomas por cuestionario, del grado de disnea y el número de agudizaciones se incorporaron dentro de la evaluación de la gravedad de la EPOC en las guías GOLD para ajuste del tratamiento de base e hicieron crecer el interés sobre los posibles fenotipos agudizador y de caída acelerada del FEV1 (466-468).



Fig 17. Importancia de las exacerbaciones de la EPOC y su impacto sobre los síntomas, calidad de vida, deterioro acelerado de la función pulmonar (caída del FEV1), desarrollo de nuevas agudizaciones y la mortalidad.

Las enfermedades del tracto respiratorio inferior predisponen a la reducción del FEV1 en fumadores y la frecuencia de exacerbaciones acelera también la tasa de disminución de la función pulmonar.

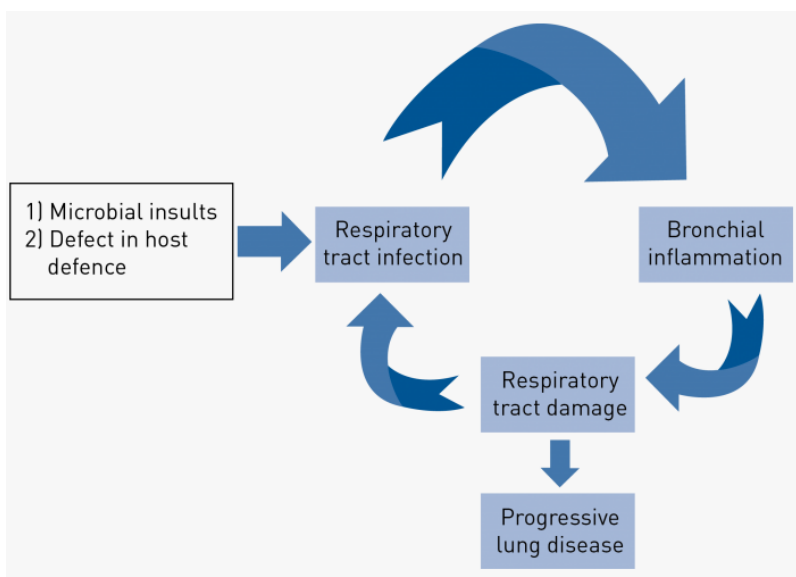


Fig 18. Círculo vicioso infección-inflamación-daño celular que predispone a la cronificación del proceso con deterioro progresivo de la función pulmonar.

Además, la colonización bronquial crónica de la vía aérea por microorganismos patógenos y por *Pseudomonas aeruginosa* y la presencia de bronquiectasias se ha relacionado con una caída acelerada del FEV1, empeoramiento de la calidad de vida y aumento de la frecuencia de agudizaciones.

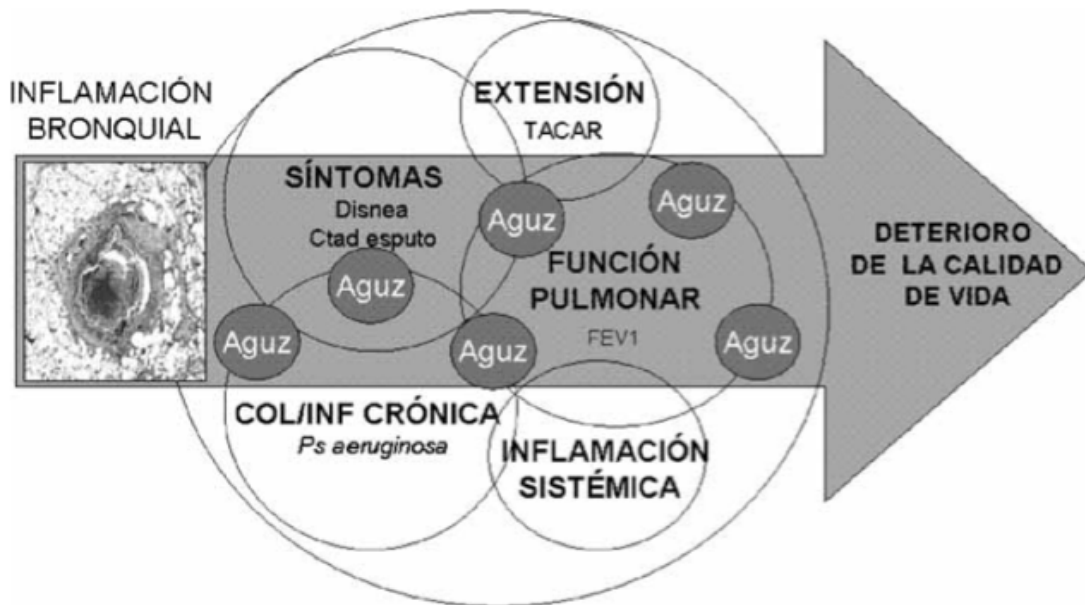


Fig. 19 Modelo de Miguel Ángel Martínez et al. donde muestra la progresión del daño estructural y funcional de las bronquiectasias en el contexto de la colonización o infección crónica bronquial especialmente por *Pseudomonas aeruginosa*, sus descompensaciones por agudizaciones y la inflamación subyacente (469).

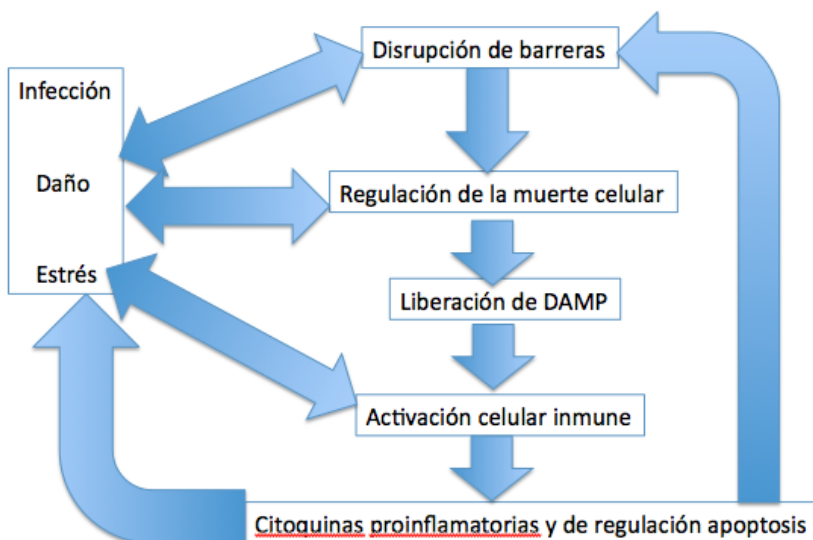


Fig.20 Otros modelos sugieren la desregulación de los equilibrios entre la proliferación y apoptosis celular en contexto de disrupción de barreras físicas de defensa, como el epitelio bronquial en contexto de infecciones, estrés (oxidativo o no) o daño por lesión directa, como perpetuadores de enfermedades pulmonares inflamatorias crónicas (470).

5.2.6. Presente de las concepciones patogénicas de la EPOC

5.2.6.1. Definición funcional espirométrica:

Se optó por la definición espirométrica actual para aunar criterios y evitar la confusión de términos subjetivos para definir la enfermedad. Ello permitió la difusión generalizada progresiva de la espirometría forzada para confirmar el diagnóstico.

En las bases de datos del biobanco pulmonar se optó por la definición más actual de la GOLD de obstrucción crónica poco reversible al flujo aéreo definida con el cociente postbroncodilatador entre el FEV1 y la FVC (postBD FEV1/FVC) < 0.7.

Afortunadamente el uso de las pruebas de función respiratoria estaba estandarizado y generalizado en todos los hospitales de las Islas Baleares, con protocolos de calibrado de la Sociedad Española de Neumología, y disponíamos en todos los casos de pruebas completas preoperatorios y de dicho cociente postbroncodilatador diagnóstico.

Así mismo, para evitar la variabilidad interhospital en el cálculo de porcentajes sobre los valores de referencia, se tomaron los resultados volumétricos en valores absolutos, calculándose de forma imparcial, independientemente del hospital, con las fórmulas de Roca introducidas en las bases de datos del biobanco, que se calcularon en su momento para población caucásica española en Barcelona como valores de referencia de la Sociedad Española de Pneumología y Cirugía Torácica.

Los pacientes utilizados para el estudio en 2005 y 2006 fueron casi todos españoles caucásicos, a excepción de 1 paciente mestizo sudamericano, por lo que las fórmulas del cálculo de porcentajes a partir de sus valores de referencia fueron en su mayoría válidas.

Como observación, cabría adaptar esas fórmulas para la Red de Biobancos de Tejido Pulmonar, ateniéndonos a la eminente globalización y cambios epidemiológicos poblacionales en España, con aumento de la población inmigrante en hasta un 10% de la misma con los años posteriores del boom de la construcción.

Para ello habría que incorporar otras fórmulas de cálculo de los porcentajes a partir de otros valores de referencia consensuados para otras poblaciones.

Los estudios longitudinales de seguimiento a largo plazo de fumadores, tanto en las curvas de Fletcher y Peto de la década de los 1970s, como en las cohortes de Framingham de riesgo cardiovascular, observaban que sólo un 20% de los fumadores desarrollaban obstrucción crónica de la vía aérea en el seguimiento, lo que sugería la existencia de factores de susceptibilidad innatos que inducían presumiblemente cierta predisposición genética.

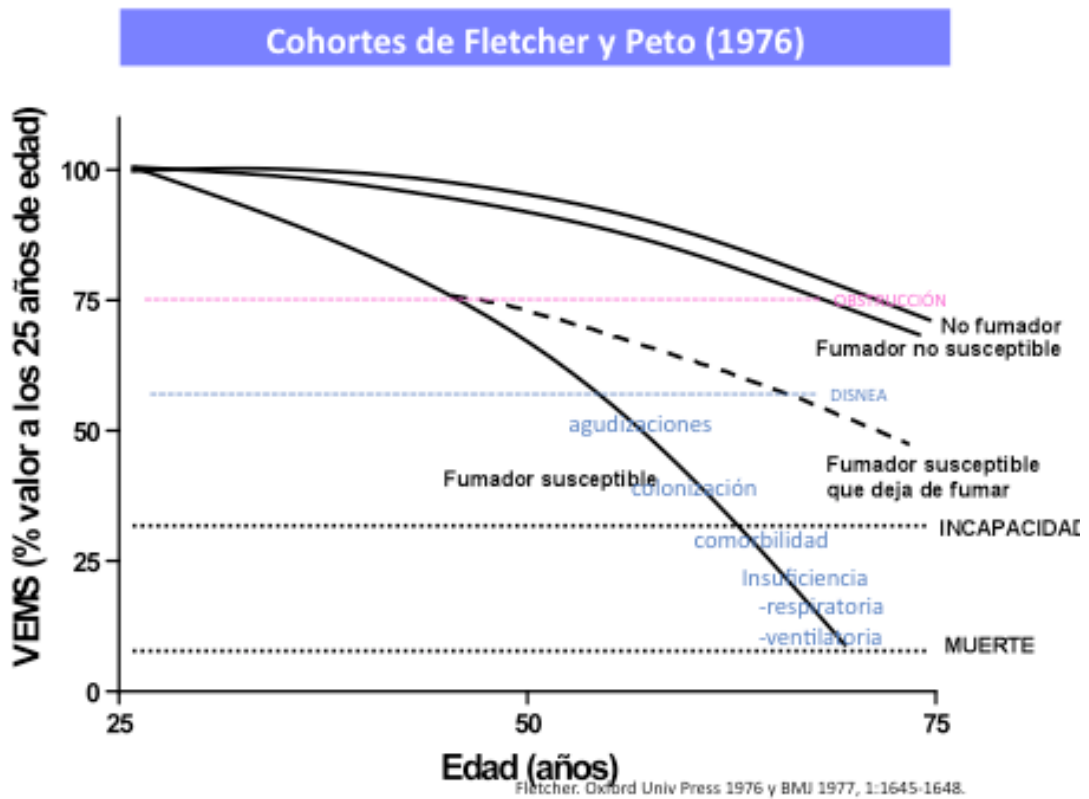


Fig 21. Cohortes de Fletcher y Peto con la caída del FEV1 en fumadores y no fumadores y con caída acelerada en EPOC, sugiriendo el concepto de EPOCs susceptibles a desarrollar obstrucción bronquial crónica.

De aquí que surgiera el concepto de un grupo dentro de los fumadores con una mayor **susceptibilidad** de desarrollar obstrucción crónica al flujo aéreo y de tener una caída más acelerada de la función pulmonar.

Esto lleva a un mayor interés por el estudio de la **inflamación** de la EPOC a partir de muestras de biopsias pulmonares y de lavado broncoalveolar de fibrobronoscopias, y más a posteriori, con otras técnicas inflamométricas (condensado de aire exhalado, óxido nítrico exhalado, etc).

Por otra parte, el desarrollo de escalas pronósticas de riesgo de mortalidad puso de manifiesto que la caída del FEV1 (la evolución de la obstrucción) no es el único parámetro que hay que tener presente, y que hay otros que tienen más peso incluso al respecto, como la capacidad de ejercicio, las agudizaciones, los síntomas (la disnea), etc.

5.2.6.2. Definición espirométrica ampliada actual.

Las guías de manejo clínico de la GOLD incorporaron entonces un abordaje más amplio con una valoración de la **gravedad** y ajuste acorde del tratamiento, no sólo con la **obstrucción**, sino también atendiendo a los **síntomas** (con cuestionarios específicos: **CAT**= COPD assessment test y grado de disnea por la **MRC**=Medical Research Council) y al **número de agudizaciones** en el último año. Y las tendencias actuales son las de evaluar también el grado de **inflamación** existente (lo que incluye también el momento de la **historia tabáquica**). La historia tabáquica quedó reflejada en todos los casos en las bases de datos del biobanco, pero los cuestionarios de síntomas CAT todavía no estaban en uso (y por tanto, tampoco protocolizados), y tampoco se pudo hacer constar en todos los casos el número de agudizaciones en el último año.

5.2.6.3. Definiciones fenotípicas (fenotipos clínicos).

Las tendencias iban poco a poco hacia un manejo diferencial más personalizado, atendiendo a fenotipos clínicos pulmonares de EPOC más específicos o grupos con valor pronóstico o terapéutico al precisar un manejo y tratamiento similar: **enfisema, bronquitis crónica (+/- bronquiectasias), asmático y multirreingresador**. Aunque en algunos casos se hayan intentado mezclar con sus repercusiones sistémicas, sobre todo **cardiovasculares**, y su mortalidad.

Nosotros, también, en 2005 y 2006 valoramos todos estos parámetros de forma exhaustiva en nuestras bases de datos del biobanco. Registramos los fenotipos pulmonares de **enfisema, bronquitis crónica (+/- bronquiectasias) y asmático**. No pudimos obtener de forma reglada el número de agudizaciones en el último año en todos los casos. Por entonces no se había realizado el estudio ECLIPSE que puso de manifiesto la importancia pronóstica de las mismas, y el amplio debate sobre la posibilidad de considerarlo un fenotipo clínico a parte.

Así mismo hicimos constar posibles fenotipos sistémicos atendiendo a índices de riesgo y eventos cardiovasculares, autoinmune y de inmunodeficiencia, hemoglobina, etc.

Correlacionamos la información clínica, microbiológica, funcional, radiológica e histológica, que intentamos que a su vez se pudiera asociar, como objetivo secundario, con los resultados de expresión genética.

Como ejemplo, el fenotipo enfisema, como corroboramos con algunos pacientes de nuestro estudio, puede presentarse en estadios más iniciales sin obstrucción bronquial significativa diagnóstica de EPOC. De hecho, la gravedad y extensión del enfisema en muchos casos no tiene correlación con el

grado de obstrucción bronquial (valorado por el FEV1), sino más bien con el grado de atrapamiento aéreo, asociándose inversamente a la capacidad inspiratoria que permite movilizar el aire atrapado (parámetro que no se medía de forma rutinaria en todos los hospitales en 2005 y 2006 cuando realizamos el estudio).

En aquel momento no disponíamos de software ni de los adelantos técnicos de imagen actuales para poder hacer cálculos de índices de atenuación y de distribución del enfisema, ni tampoco del grosor de la vía aérea bronquial por Tomografía Axial Computerizada (TAC). Dispusimos de TAC torácicos preoperatorios, en algunos casos también con TACs de alta resolución, revalorados por 2 radiólogos expertos, y de los cortes histológicos de las muestras.

5.2.7. Lesiones histológicas de la EPOC de muestras de biopsias pulmonares (512,513).

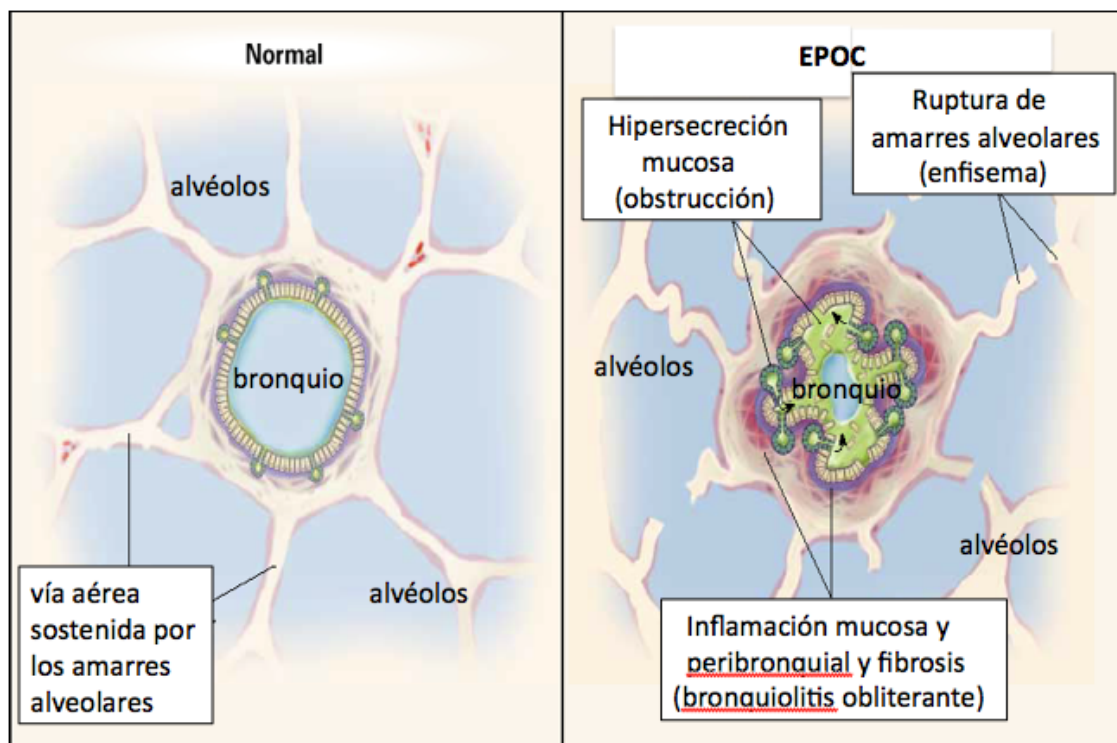
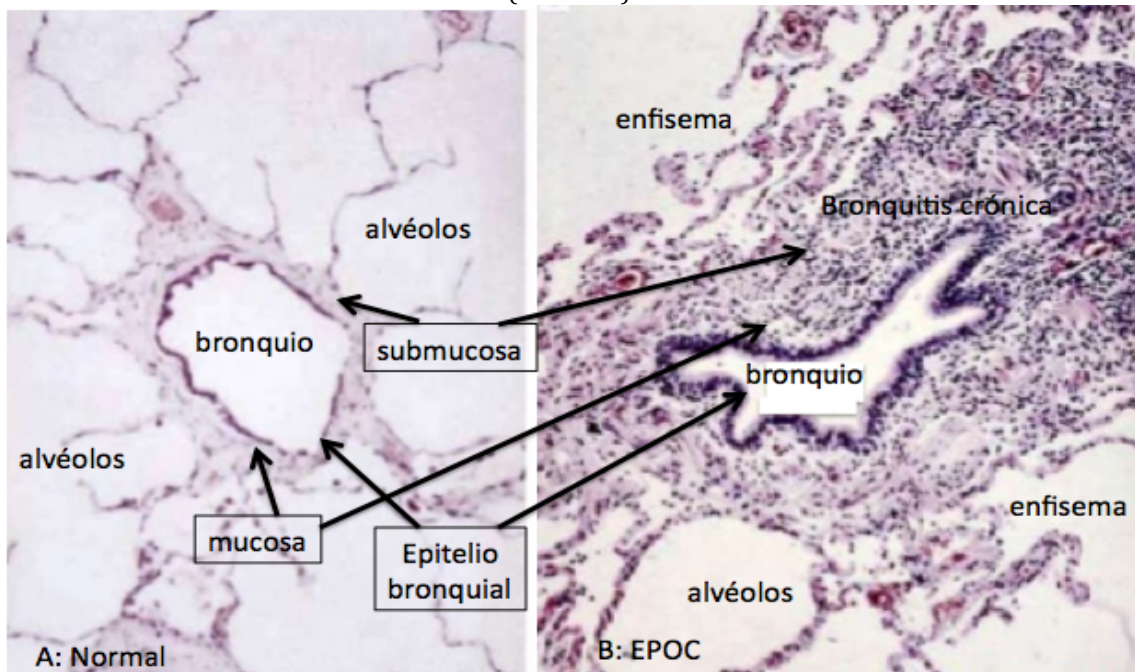


Fig 22. Representación gráfica de las 3 lesiones histológicas observadas en los pacientes con EPOC: la obstrucción bronquial por hipersecreción mucosa de la bronquitis crónica, la inflamación mucosa y peribronquial y fibrosis peribronquial de la bronquitis obliterante y de la bronquitis crónica (dependiendo de que nivel de ramificación bronquial hablemos), y la destrucción de las paredes alveolares, que a la vez son los amarres que mantienen la patencia de los bronquiolos más periféricos sin cartílago, impidiendo su colapso.

Fig 23. Comparación de cortes histológicos de pulmón no EPOC y EPOC. Se pueden observar estas mismas lesiones al microscopio óptico con cortes histológicos de pulmón humano teñidos con hematoxilina-eosina. Se observan lesiones características de bronquitis crónica y bronquiolitis obliterante, con infiltración inflamatoria de la mucosa y submucosa peribronquial, metaplasia escamosa epitelial por células caliciformes, hiperplasia de glándulas submucosas e hipertrofia del músculo liso peribronquial, que conducen a una obstrucción de la luz bronquial que se encuentra parcialmente ocluída por moco. A su vez, disrupción de los amarres o paredes alveolares con soluciones de continuidad entre los alvéolos (enfisema).



En las muestras de biopsias pulmonares se podían observar 3 tipos de lesiones:

- **Bronquitis crónica:** Afecta a los bronquios intermedios de 2 a 4 mm de diámetro. Presentan abundante moco intraluminal. Cambios epiteliales bronquiales con hiperplasia de las células caliciformes en relación con las ciliadas, atrofia epitelial, metaplasia escamosa y alteraciones filiares, pero con epitelio intacto. Sin engrosamiento de la membrana basal. Inflamación de la mucosa, músculo liso y glándulas submucosas con infiltrado de macrófagos, células T CD8+, células plasmáticas y moléculas de adhesión de superficie celular y fibrosis. Hipertrofia del músculo liso peribronquial y de las glándulas de la submucosa bronquial y degeneración del cartílago bronquial.

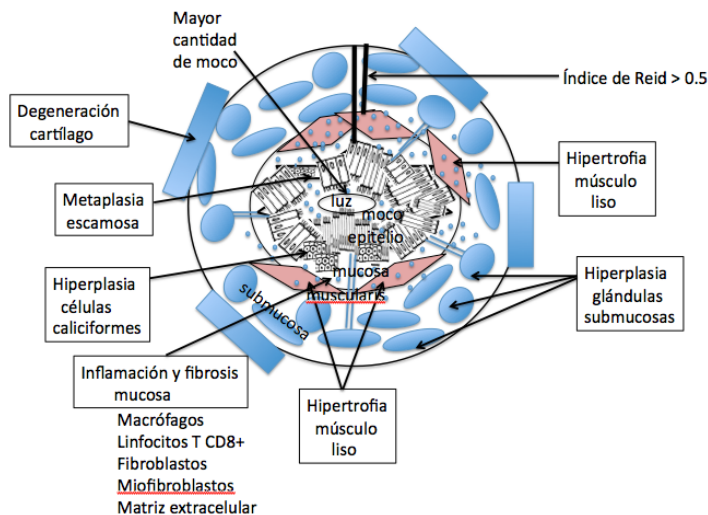


Fig 24. Representación esquemática de las lesiones previamente indicadas típicas de bronquitis crónica en los bronquios intermedios de 2 a 4 mm de diámetro, mostrando como característico el índice de Reid > 0.5

- **Bronquiolitis obstructiva:** Luz bronquial colapsada y con mayor cantidad de moco. Epitelio con metaplasia de células caliciformes que sustituyen a las células de Clara en las vías periféricas. Sustitución de la capa normal de surfactante por moco aumentando la tensión superficial y predisponiendo al cierre precoz de las vías aéreas durante la espiración. Infiltrado inflamatorio de células mononucleares, macrófagos, linfocitos T CD8+, más que de neutrófilos, con preponderancia de macrófagos en los pacientes con EPOC estable leve o moderada. En EPOC graves predominan los neutrófilos. En las agudizaciones leves de la EPOC abundan los eosinófilos, mientras que en las graves suelen predominar neutrófilos. Fibrosis con aumento de fibroblastos, miofibroblastos y de la matriz extracelular, con deposición de colágeno y estrechamiento de la luz bronquial produciendo una obstrucción fija al flujo aéreo. Hipertrofia del músculo liso y edema mural. Pérdida de la fijación alveolar.
- **Enfisema:** Agrandamiento permanente y destructivo de los espacios aéreos distales a los bronquiolos respiratorios y, en ocasiones, los alveolos. Agrandamiento de las ventanas de la pared interalveolar o poros de Kohn con disrupción de fibras elásticas y distorsión bronquial y alveolar secundaria. Infiltrado inflamatorio de la pared alveolar con predominio de linfocitos T, con algunos macrófagos y menos neutrófilos, enzimas proteolíticas y metaloproteasas. Apoptosis de los neumocitos tipo I de la pared alveolar y pérdida de los septos interacinarios y de las paredes alveolares con formación de agujeros. Incremento neto de la masa de colágeno con fibrosis de la pared alveolar.

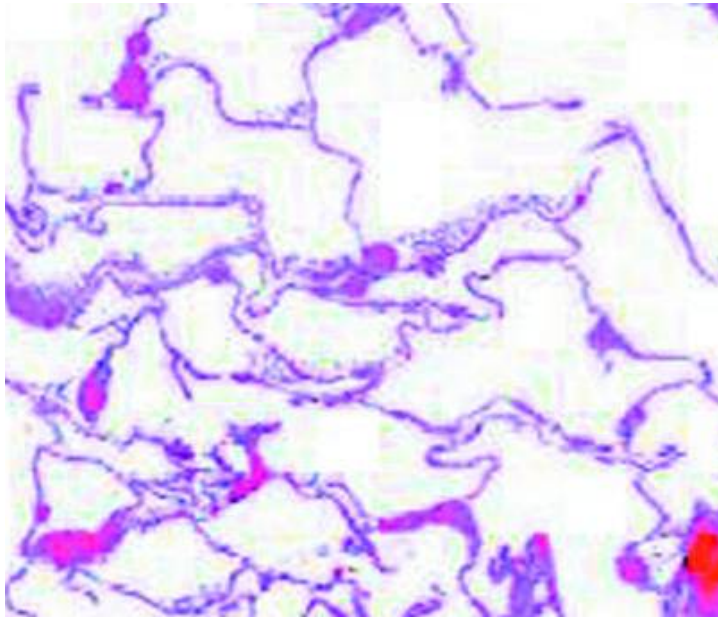


Fig 24. Cortes histológicos de enfisema pulmonar con agrandamiento y comunicación de los espacios alveolares.

Además existe una **afectación vascular pulmonar** progresiva: Disfunción endotelial. Engrosamiento por hiperplasia de la íntima. Hipertrofia del músculo liso. Infiltrado inflamatorio con linfocitos CD8+ y macrófagos. Fibrosis con deposición de proteoglicanos y colágeno. Vasoconstricción pulmonar hipóxica. Hipertensión pulmonar. Destrucción enfisematosa por disrupción del lecho capilar.

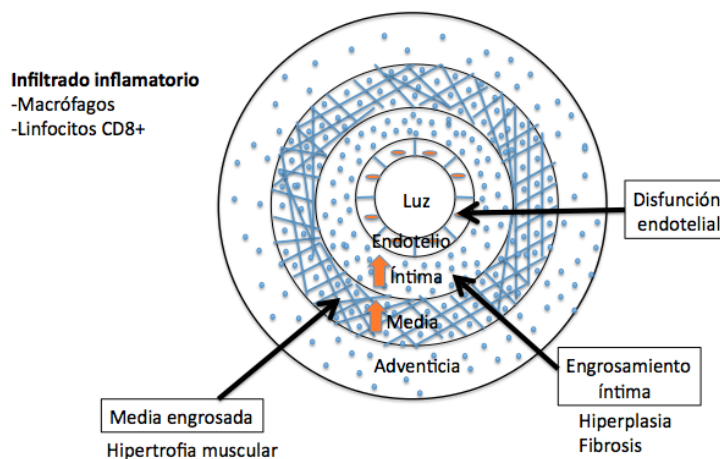


Fig 25. Representación esquemática de las lesiones vasculares producidas en la EPOC, con disfunción endotelial, engrosamiento de la íntima con hiperplasia y fibrosis, y de la media por hipertrofia muscular y con infiltrado inflamatorio con predominio de macrófagos y linfocitos T CD8+.

5.2.8. La inflamación en la EPOC.

Se cree que las sustancias nocivas del tabaco (existen más de 500 conocidas) y de su combustión, tanto por lesión de las barreras físicas de la inmunidad celular primaria, estrés (oxidativo o físicoelástico), disminución del aclaramiento mucociliar por disfunción epitelial bronquial ciliar o lesión epitelial o ciliar, e hipersecreción mucosa espesa, con probable susceptibilidad a infecciones víricas y bacterianas de repetición, con persistencia de epítomos de antígenos remanentes en las secreciones, inducen una inflamación crónica pulmonar, que persiste pese al abandono del hábito tabáquico y que se acompaña de inflamación sistémica larvada, mayor que en los fumadores sin EPOC, y que genera un riesgo cardiovascular aumentado; todavía más si existe colonización bronquial subyacente en estadíos más avanzados de la EPOC o agudizaciones repetidas.

En la inflamación crónica pulmonar de la EPOC estable observada en las biopsias bronquiales se observa:

La inflamación de la EPOC es diferente a la del asma, con aumento de células y mediadores característicos y con producción de proteasas que determinarán las lesiones anatomopatológicas más típicas: la hipersecreción bronquial, la fibrosis peribronquial y el enfisema.

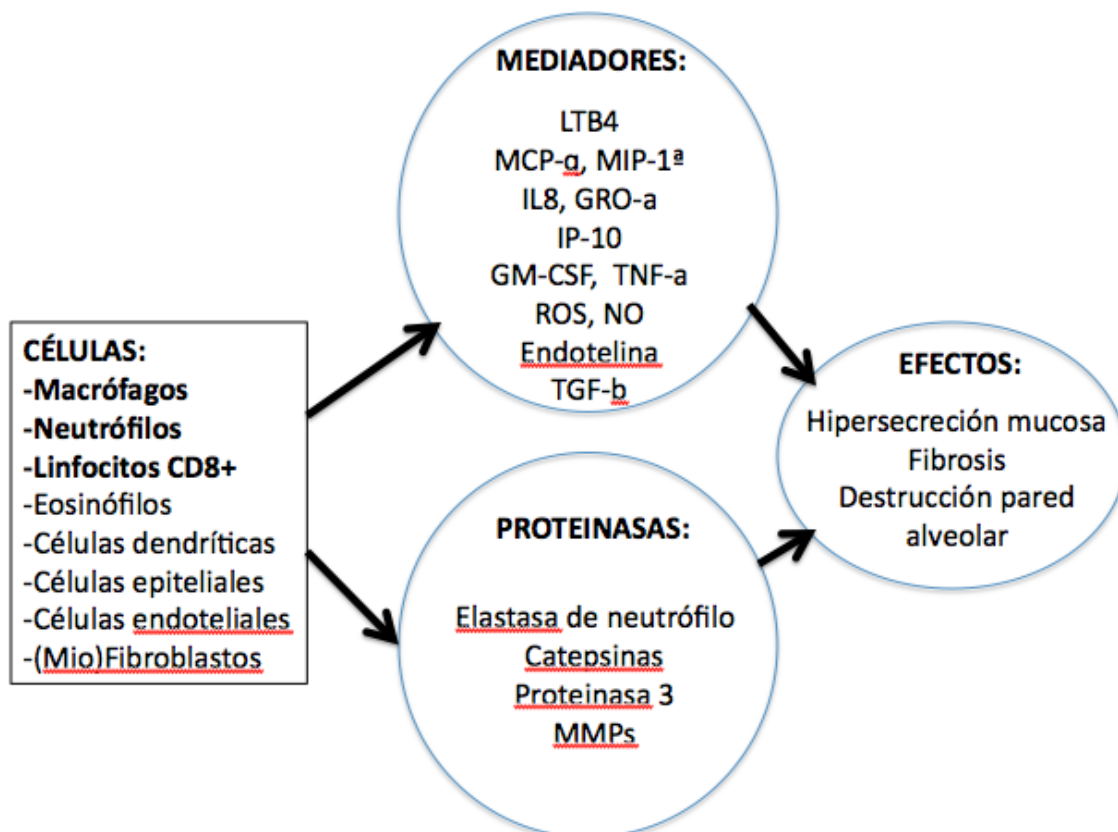


Fig 25. Células más abundantes en la EPOC que a través de la producción de mediadores y la liberación de proteasas causan los daños estructurales de la EPOC que conducen al remodelado y obstrucción crónica progresiva de la vía aérea.

5.2.8.1. Celularidad en la EPOC.

En un principio, debido a los resultados de lavados broncoalveolares, se creía que la inflamación celular de la EPOC se componía fundamentalmente por **macrófagos** y **neutrófilos** que eran responsables del paradigma del desbalance proteasas-antiproteasas. También se observó en las muestras de lavados broncoalveolares y biopsias la abundancia de **linfocitos T CD8+**. El papel central orquestador de la inflamación del macrófago se ha podido confirmar, así como la capacidad del macrófago de inducir por sí sólo las lesiones características de la EPOC y reclutar el resto de células implicadas. Pero la inflamación de la EPOC es más compleja, con una lesión continuada por radicales libres de oxígeno y sustancias tóxicas del tabaco, virus y posteriormente bacterias que causan disfunción de los mecanismos de barrera (**epitelio bronquial y alveolar, endotelio**) y disminución del aclaramiento mucociliar y macrofágico de detritus, antígenos y sustancias de la luz alveolar y bronquial. En ella también pueden jugar su papel las **células dendríticas** subepiteliales en la presentación de los antígenos con estimulación y proliferación de T CD8+. Y aunque todavía el papel de los **eosinófilos** no es del todo conocido en la EPOC, podría tener un mayor papel en las agudizaciones. Mientras que los neutrófilos aumentarían en fases más avanzadas con colonización bronquial.

En biopsias de pacientes EPOC con grado de obstrucción avanzado se puede observar la formación de folículos linfoides peribronquiales con acúmulo también de linfocitos B.

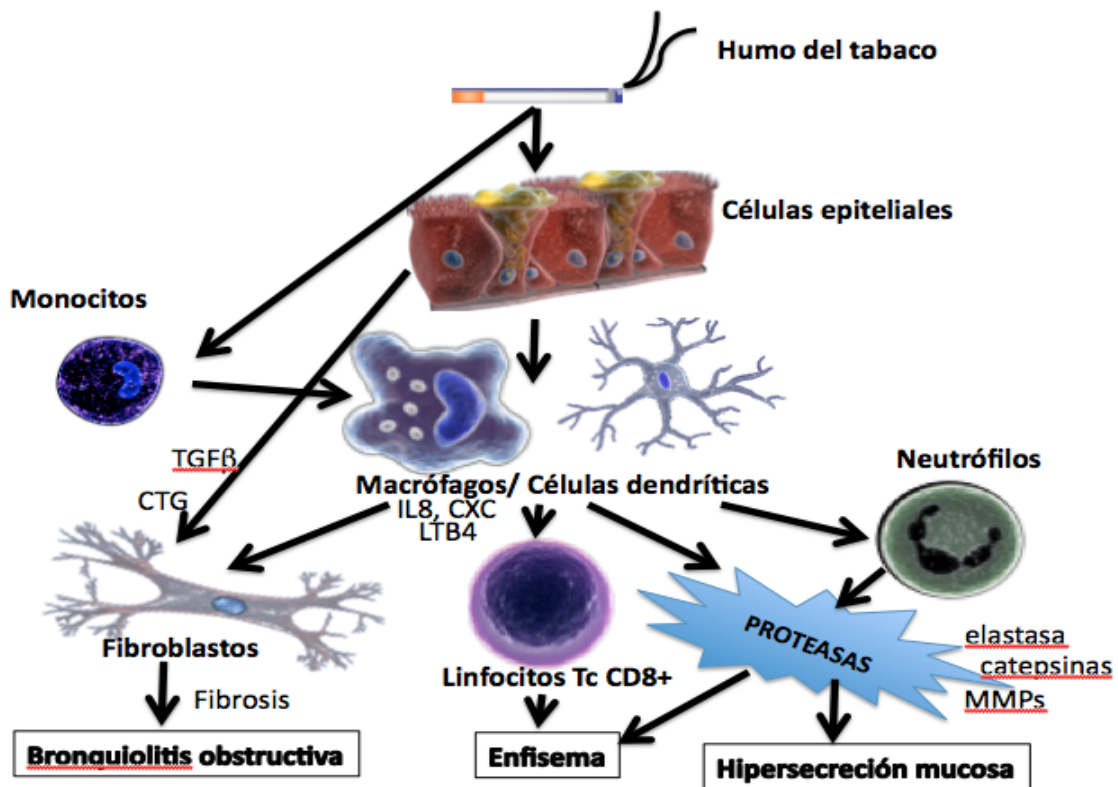


Fig 26. Principales células implicadas en las lesiones estructurales de la EPOC estable. Barnes. Lancet 2004 (471).

A su vez, la reparación celular epitelial y endotelial acabaría produciendo remodelado al atraer **miofibroblastos** que se activarían a **fibroblastos** induciendo fibrosis peribronquial y de la íntima vascular, favoreciendo el desarrollo de hipertensión pulmonar y cor pulmonale secundarios.

5.2.8.2. Celularidad en lavado broncoalveolar (LBA ó BAL) en EPOC (510,511).

En EPOC estable leve y moderado predominan los macrófagos, con aumento también de linfocitos T CD8+ y en menor grado de neutrófilos.

En EPOC grave predominan, no obstante, los neutrófilos.

Y en EPOC multirreingresadores pueden abundar eosinófilos o neutrófilos.

En las agudizaciones de EPOC leve abundan los eosinófilos, mientras que en las de los EPOC graves, lo que abundan son los neutrófilos.

5.2.8.3. Celularidad en biopsias endo y tansbronquiales (ver apartado 5.2.7 – pág. 131).

5.2.8.3.1. Los macrófagos en la EPOC.

Los macrófagos son las células más abundantes de los lavados broncoalveolares de los pacientes con EPOC estable de grados de obstrucción leve y moderada, y también se han observado junto con linfocitos T CD8+ infiltrando la mucosa peribronquial y en el espacio intersticial perialveolar.

La cantidad de macrófagos de la pared alveolar se ha relacionado directamente con la extensión del enfisema, y el número de macrófagos en las vías aéreas con la gravedad de la obstrucción bronquial.

Junto con el epitelio bronquial suelen ser las primeras células que contactan con los antígenos, virus, productos tóxicos y radicales libres de oxígeno del tabaco, actuando en estrecha relación y coordinación con el epitelio celular induciendo una **inflamación crónica de predominio Th1**: Reclutan linfocitos T para la presentación antigénica, en parte estimulados por interferon- γ (IFN- γ) segregado en parte por las células epiteliales, activando a estos linfocitos, convirtiéndolos en CD8+ citotóxicos.

Se activan con el humo del tabaco y otros irritantes y son centrales en todo el proceso de reclutamiento celular de la EPOC (sobre todo de neutrófilos, monocitos y linfocitos T CD8+), segregando mediadores inflamatorios (incluyendo el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), la interleucina 8 (IL-8), el leucotrieno B4 (LTB4) y especies reactivas de oxígeno), además de proteinasas (metaloproteasas de matriz y catepsinas).

Su supervivencia está aumentada en la EPOC por niveles aumentados de proteína antiapoptósica **Bcl-XL**. Los macrófagos inducen la proliferación de **neutrófilos**, inhibiendo su apoptosis y fagocitosis, y favoreciendo el reclutamiento celular bronquial y activación, mediante la secreción de leucotrienos B4 (**LTB4**), interleucina 8 (**IL-8**) y oncogen alfa relacionado con el crecimiento (**GRO- α**), que actúan sobre los receptores **CXCR2 del neutrófilo**, activándolos y favoreciendo la secreción de proteasas de neutrófilo (elastasa, proteinasa 3, catepsinas), que estimulan la hipersecreción bronquial y pueden contribuir también en la formación de enfisema.

Así mismo atraen **monocitos** de sangre periférica, como precursores macrofágicos, favoreciendo su diferenciación a macrófagos en el tejido pulmonar y vías aéreas, mediante la secreción de la proteína quimiotáctica para monocitos (**MCP-1**) y el oncogen relacionado con el crecimiento (**GRO- α**), actuando también sobre receptores **CXCR2 de los monocitos**.

Reclutan también **linfocitos T CD8+** para la presentación antigénica mediante la secreción de la proteína-g inducible de interferón-10 (**IP-10**) y el quimiotáctico alfa de células T inducible por interferón (**I-TAC**), estimulando los receptores **CXCR3 de los linfocitos T**, que tras su activación a células T citotóxicas producen perforinas y granzima B que favorecen la apoptosis de las células epiteliales alveolares de tipo I, contribuyendo a la formación de enfisema.

Los macrófagos producen también especies reactivas de oxígeno (**ROS**) y óxido nítrico (**NO**) que disminuyen los niveles de la deacetilasa de histonas 2 (HDAC2), siendo responsables de la **resistencia corticoidea en EPOC**.

También segregan **TGF- α** que activa el receptor del factor de crecimiento epitelial (**EGFR**) del **epitelio bronquial** favoreciendo la **hipersecreción mucosa** de células caliciformes y **TGF- β 1** que favorece el reclutamiento de miofibroblastos con formación de **fibrosis** peribronquial, responsable del remodelado de la obstrucción crónica al flujo de aire.

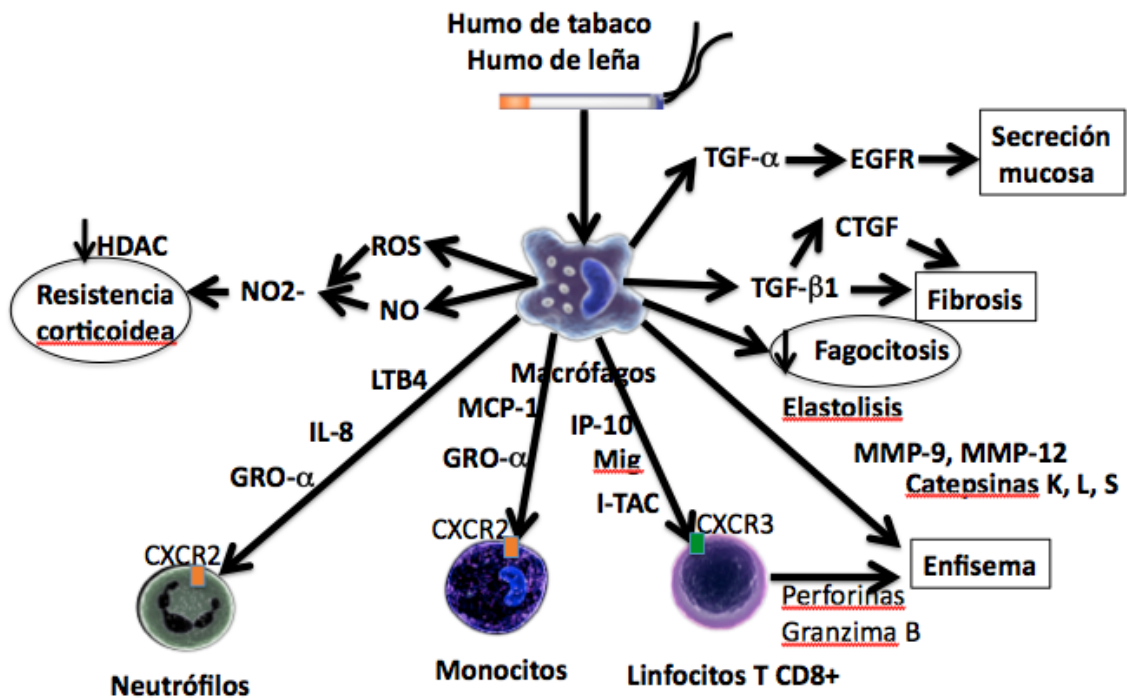


Fig 27. Papel central del macrófago en la patogénesis de la EPOC, favoreciendo la quimiotaxis celular, la secreción bronquial, fibrosis y destrucción del parénquima pulmonar y la resistencia corticoidea. Barnes. J COPD 2004; 1: 59-70 (472).

Otra de las funciones de los macrófagos es la fagocitosis de detritus celulares y neutrófilos apoptóticos o en forma de restos necróticos, así como del surfactante en el espacio alveolar. Dicha fagocitosis está reducida por efecto de los radicales libres de oxígeno en la EPOC, lo cual sustenta las bases de una posible hipótesis autoinmune del enfisema, en la cual autoantígenos y antígenos víricos y bacterianos remanentes en el espacio alveolar podrían generar autoanticuerpos contra los receptores de tipo 2 del factor de crecimiento vasculoendotelial (VEGFR2) endoteliales y de las células epiteliales alveolares (473).

Modelos animales demostraron la formación de enfisema por anticuerpos contra dichos receptores VEGFR2 de células endoteliales y alveolares (474)

Así mismo los macrófagos necesitan la activación de sus receptores propios VEGFR con VEGF para la fagocitosis de restos apoptóticos alveolares.

No se conoce del todo el efecto de los radicales libres de oxígeno del humo del tabaco y la inflamación de la EPOC sobre la producción, recaptación y metabolismo del surfactante pulmonar, aunque precise de una fase macrofágica alveolar en su fagocitosis y su catabolismo intracelular por lisosomas activados tras estimulación de receptores del factor estimulador de colonias granulomonocíticas (granulocyte-monocyte colony stimulating factor: GM-CSF). En otra enfermedad, la proteinosis alveolar, se produce un acúmulo exagerado de surfactante por inadecuado catabolismo intramacrofágico al no activarse los lisozimas, en la mayoría de casos considerados autoinmunes, por producción de anticuerpos contra el GM-CSF o su receptor

macrofágico; y una de las posibles causas son los tóxicos y radicales libres del tabaco. En EPOC no se produce acúmulo exagerado de surfactante, pero éste, además de ser disfuncionante, no se elimina adecuadamente por los macrófagos.

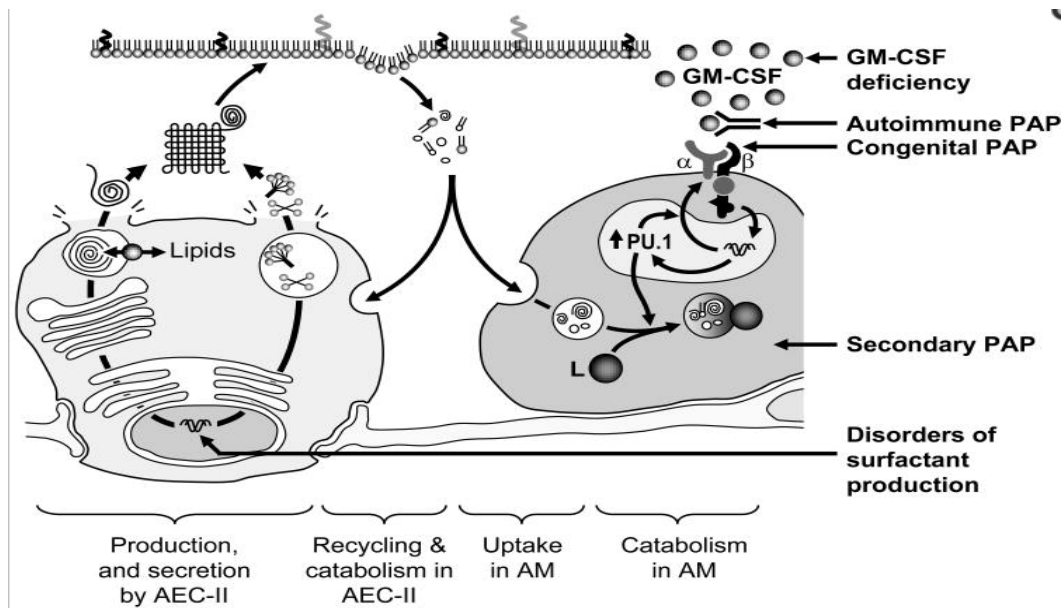


Fig 28. Producción por neumocitos tipo II, captación del espacio alveolar y catabolismo intramacrofágico del surfactante pulmonar. Se señalizan los trastornos que afectan a cada una de las fases.

Los macrófagos y el epitelio bronquial son responsables de la activación de inflamación crónica de tipo Th1, con reclutamiento de linfocitos T CD8+, inducidos por el estímulo del interferón gamma, predominantemente segregado por el epitelio bronquial lesionado por el humo del tabaco, el estrés ocasionado por especies reactivas de oxígeno y probablemente por infecciones latentes por virus.

El interferón gamma (IFN-g) tiene un papel central en esta activación específica que marca las diferencias de la inflamación de la EPOC, por ejemplo, en comparación con la del asma.

5.2.8.3.2. Los neutrófilos en la EPOC.

La activación de los neutrófilos con su proliferación inducida fundamentalmente por macrófagos, pero también por las células epiteliales bronquiales, células dendríticas y por los mismos neutrófilos, a través de distintos mediadores y factores de crecimiento, sobre todo quimiocinas **CXC**, y también por la interleucina 8 (**IL-8**), generalmente por unión a su receptor **CXCR2**, que también tienen monocitos y macrófagos, permite su quimiotaxis, adhesión y migración al tejido pulmonar y luz bronquial. La secreción por los neutrófilos de radicales libres de oxígeno, enzimas proteolíticas y mieloperoxidasa, hacía creer en un principio que los neutrófilos eran los principales y únicos responsables de la formación de enfisema. No obstante, llamaba la atención, tanto en lavados broncoalveolares y en biopsias pulmonares de pacientes la escasez de neutrófilos conforme

progresaba el enfisema, que se hacía inversamente proporcional al número de neutrófilo en los alveolos, mientras aumentaba el número de macrófagos y sobre todo de linfocitos **T CD8+**, que éstos, especialmente los linfocitos **T CD8+ -citotóxicos (Tc1)** sí que se correlacionaban con la gravedad y extensión del enfisema. Y no obstante, los neutrófilos sí que se correlacionaban con la hipersecreción bronquial, la purulencia del esputo y la colonización bronquial, haciéndose éstos más prominentes en los lavados broncoalveolares de los pacientes con EPOC más avanzado y de aquellos con colonización bronquial.

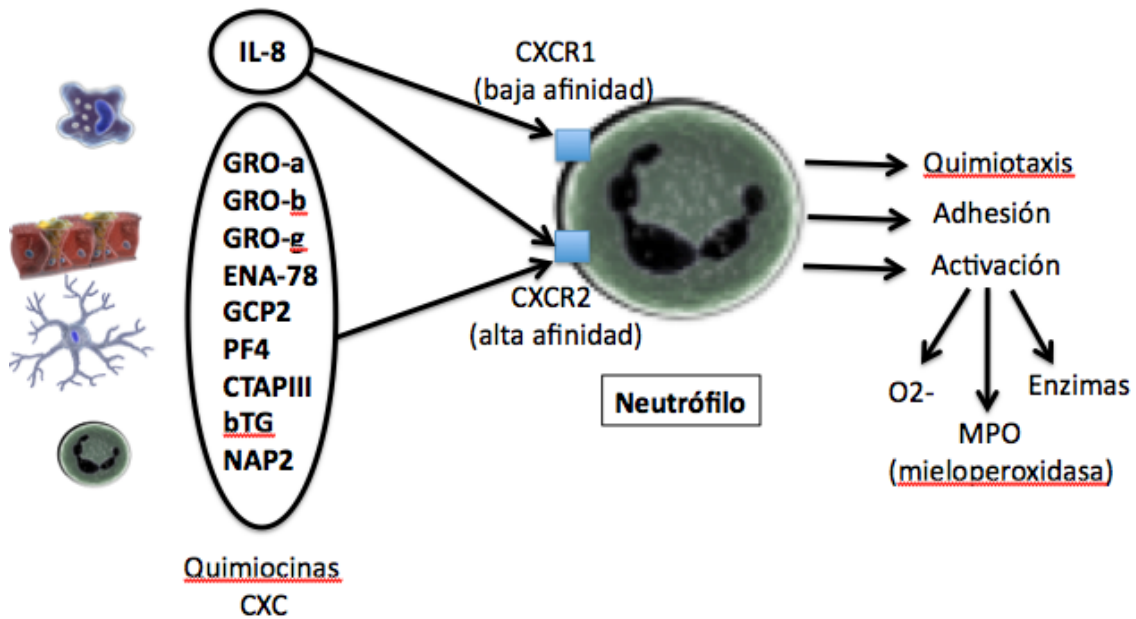


Fig 29. Estimulación de los neutrófilos por otras células en la EPOC, mediante mediadores que se unen fundamentalmente a su receptor CXCR2, favoreciendo su quimiotaxis, adhesión y activación con liberación de radicales libres de oxígeno, enzimas proteolíticos y mieloperoxidasa. Adaptado de Hansel TT and Barnes PJ. Atlas de la Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica.

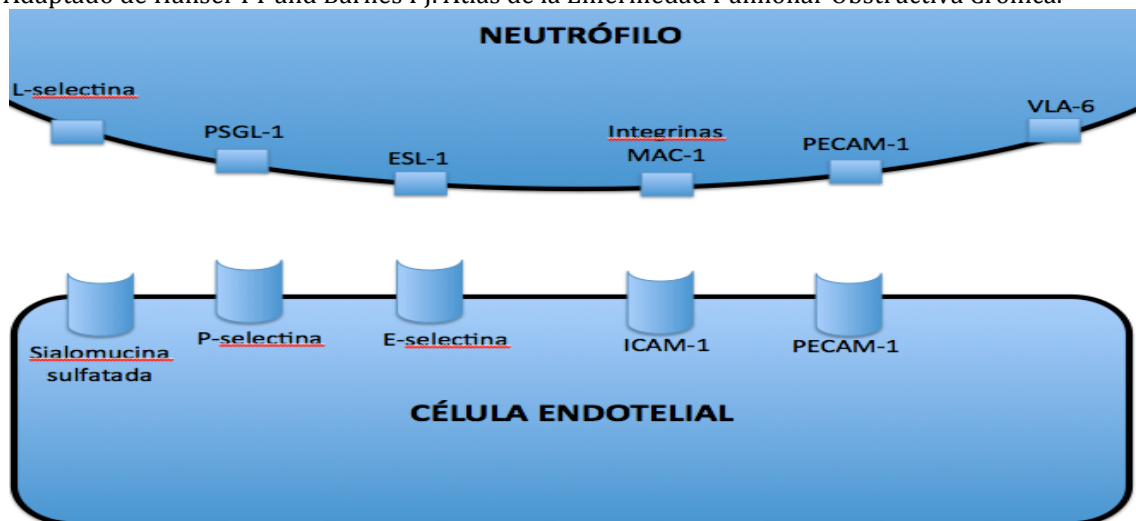


Fig 29. Moléculas de adhesión de neutrófilos y células endoteliales.

5.2.8.3.3. Los linfocitos T CD8+ en la EPOC.

Una de las características de la inflamación de la EPOC es el acúmulo de linfocitos T CD8+ en la luz y mucosa bronquiales y en la luz alveolar. Este último se ha relacionado directamente con la **gravedad y extensión del enfisema**.

Todo esto llevó a plantear la **hipótesis autoinmune de la EPOC**, por la cual las infecciones de repetición y exposiciones repetidas a productos tóxicos y estrés oxidativo del tabaco podrían alterar proteínas propias que podrían actuar como autoantígenos presentados a los linfocitos T, desencadenando respuestas inmunes adaptativas mediadas por linfocitos T.

La supervivencia y la apoptosis celular se regulan por señales de **receptores de adhesión** de la familia de las **integrinas** que continuamente valoran el estado del medio extracelular y por la pérdida de matriz extracelular.

La exposición al humo de tabaco condensado causa necrosis de células epiteliales y endoteliales con liberación del material intracelular que incluye autoantígenos y proteínas del shock de calor (heat-shock proteins: HSP). Estas últimas actúan como chaperones uniéndose a estos péptidos autoantígenos para su presentación de forma cruzada a las células dendríticas subepiteliales a las moléculas de histocompatibilidad de clase I (MHC I), en presencia de linfocitos CD4+ y CD8+, activándose los linfocitos cD8+ para su proliferación clonal.

Del mismo modo, existe todo un sistema de presentación antigénica y opsonización de antígenos y de adaptación de la respuesta inmune de acuerdo a patrones iniciados en cada una de las células (epiteliales, endoteliales, macrófagos y neutrófilos, fundamentalmente) mediante moléculas asociadas a patrones de reconocimiento (PAM) y toll-like receptors (TLRs).

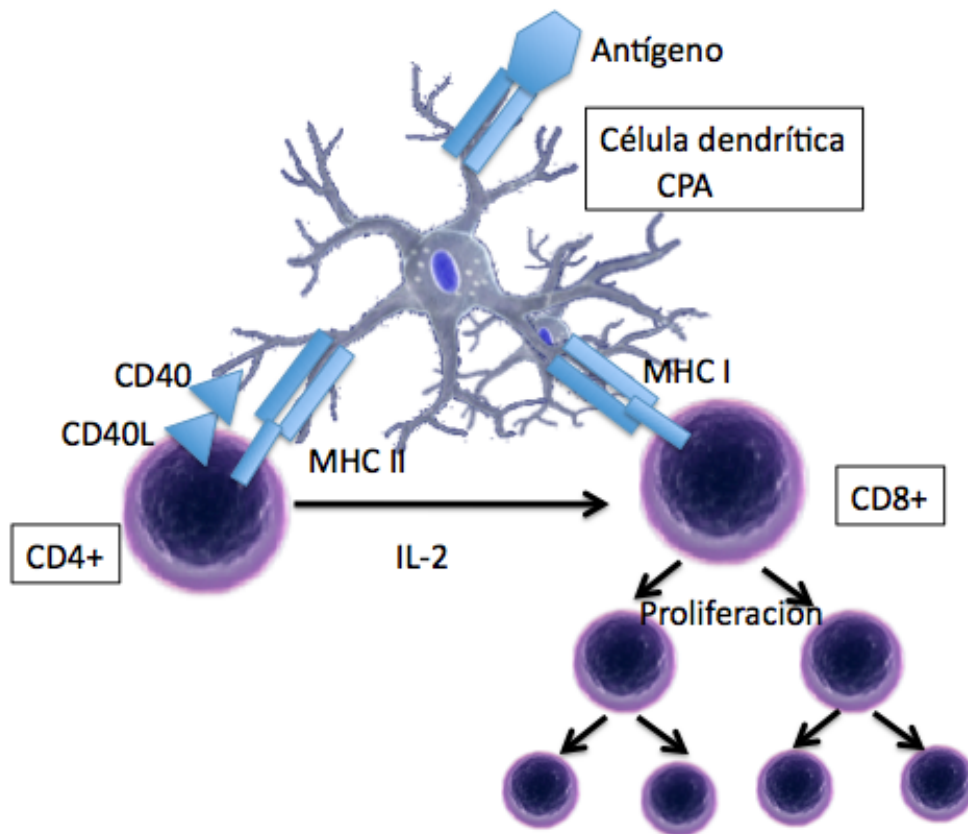


Fig 30. La lesión del epitelio bronquial permite el contacto con células dendríticas subepiteliales de autoantígenos intracelulares de las células epiteliales o endoteliales necróticas opsonizados por heat shock proteins (HSP), o antígenos víricos o de las sustancias del humo del tabaco y de su combustión, así como radicales libres de oxígeno, que se presentan de forma cruzada ante la presencia de linfocitos T CD4+ y T CD8+, favoreciendo la proliferación de linfocitos T CD8+ por preponderancia Th1 de la inflamación que estimulará el acúmulo de macrófagos, neutrófilos y linfocitos T CD8+ citotóxicos en la zona. Adaptado de Hansel TT and Barnes PJ. Atlas de la Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica.

En la EPOC los linfocitos T CD8+ se activan a T CD8+ citotóxicos (Tc1) por sustancias segregadas por macrófagos y células epiteliales fundamentalmente uniéndose a sus receptores CXCR2. Las células epiteliales y macrófagos se activan para la secreción de estas sustancias activadas a su vez por interferón gamma, que es liberado en parte por las células epiteliales bronquiales ante la presencia de virus y otros factores de estrés relacionados con el humo del tabaco y radicales libres de oxígeno generados en la combustión de tabaco.

Los linfocitos T CD8+ citotóxicos liberan granzyma B y perforinas que favorecen la apoptosis de los neumocitos de tipo I alveolares y la formación de enfisema.

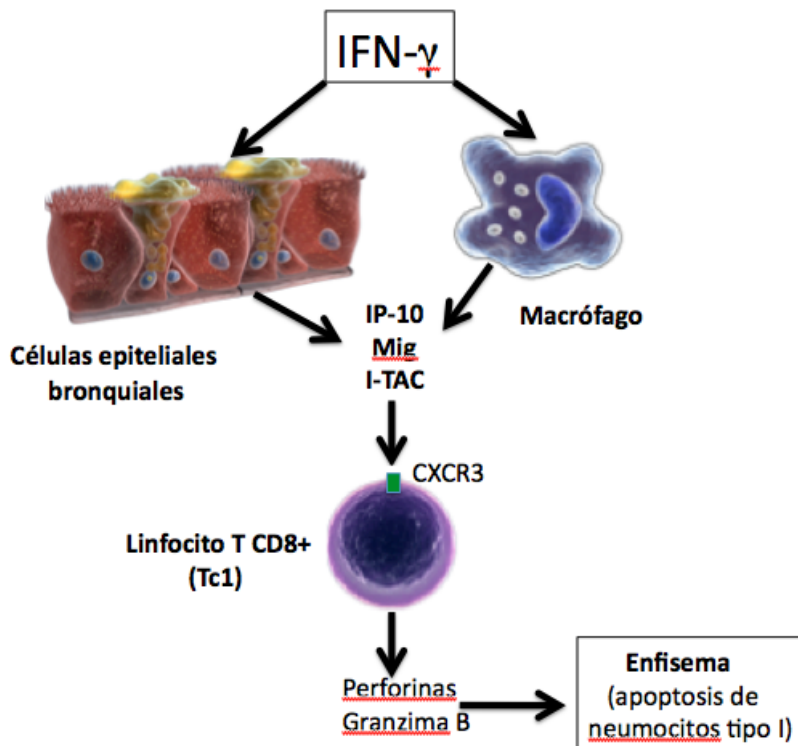


Fig 31. Quimiotaxis de Linfocitos T con diferenciación a CD8+ y activación del linfocito T CD8+ citotóxico (Tc1) en la patogénesis del enfisema.

5.2.8.3.4. El epitelio bronquial y alveolar en la EPOC:

Cada vez la EPOC se considera más, como el asma o la fibrosis pulmonar, no únicamente como una enfermedad inflamatoria crónica, sino también, y fundamentalmente como una enfermedad de afectación de las barreras celulares, con alteración de los mecanismos de reparación celular-cicatrización de las lesiones. Se cree que cursa con disfunción epitelial y endotelial secundarias a la exposición reiterada a tóxicos y radicales libres del humo y combustión del tabaco, y posteriormente infecciones latentes por virus o colonización bacteriana.

El epitelio bronquial, además de realizar funciones de barrera y de aclaramiento mucociliar, también realiza funciones de metabolización de tóxicos y radicales libres de oxígeno, y produce mediadores (interferón gamma (**IFN- γ**), tumor necrosis factor alfa (**TNF- α**), factor transformador del crecimiento beta (**TGF- β**), etc) iniciando complejas cascadas inflamatorias.

En la EPOC existe una disminución del número de células ciliadas con acortamiento de sus cilios y alteraciones en la velocidad y características de batido, con metaplasia esamosa por sustitución de éstas células ciliadas, sobre todo por células caliciformes secretoras de mucinas, que hacen el moco más espeso. Estas células caliciformes también sustituyen a células de Clara de secreciones más fluídas a nivel bronquiolar, lo que favorece el colapso de su luz y el atrapamiento aéreo a ese nivel, en ausencia de cartílago que mantenga la patencia.

Todo esto, unido al acúmulo de detritus celulares en la luz bronquial, favorece la colonización a largo plazo por virus y bacterias del moco bronquial espeso acumulado.

En la mayoría de casos en la EPOC se ve respetada la membrana basal, sin producirse engrosamiento de la misma, cosa que pasa característicamente en el asma; la excepción es un porcentaje de EPOC “asmatiformes” que también presentan engrosamiento de la membrana basal, una inflamación más eosinofílica y mayor producción de óxido nítrico.

La regeneración epitelial respiratoria se cree que se produce a partir de nichos de diferentes células más pluripotentes incluidas en la mucosa respiratoria:

En la tráquea y grandes bronquios a partir de las células ductales de las glándulas submucosas y de los cuerpos neuroendocrinos. A nivel de bronquios y bronquiolos periféricos a partir de células de Clara y en alvéolos a partir de células de la unión broncoalveolar y células madres provenientes de la circulación.

El grado de destrucción de la barrera epitelial y de las uniones intercelulares del citoesqueleto, así como la clase de noxa, marcarán el tipo y gravedad de la inflamación generada. Además se activan factores de crecimiento, como el epithelial growth factor (EGF) en caso del epitelio bronquial, o vascular endothelial growth factor (VEGF), Platelet-derived growth factor (PDGF) y TGF- β en caso del endotelio vascular que pueden fomentar la atracción de miofibroblastos y su activación a fibroblastos favoreciendo la fibrosis peribronquial.

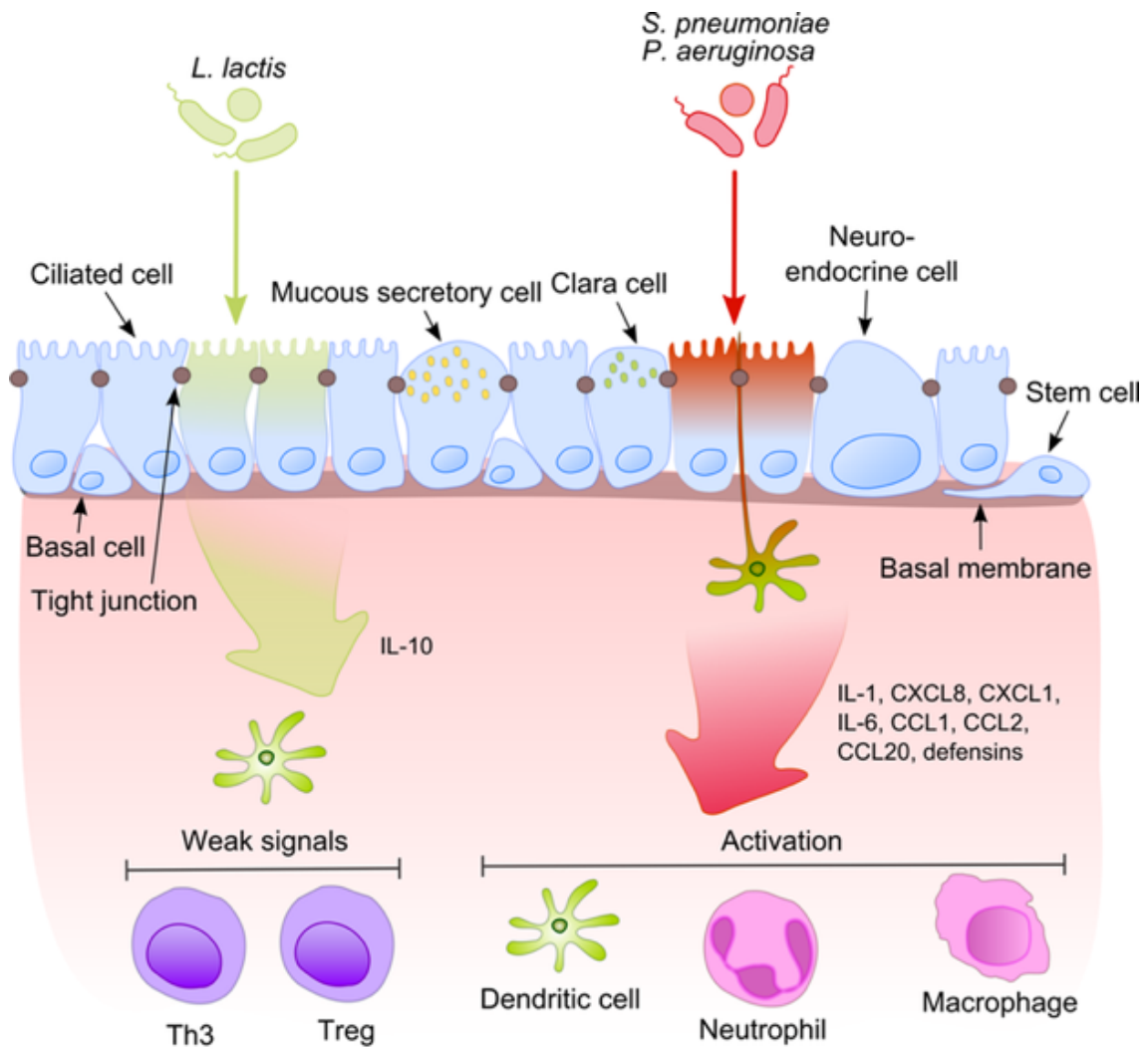


Fig 32. Modulación de la respuesta inflamatoria según la integridad del epitelio respiratorio y el predominio de la microbiota. Cuando abunda la propia flora orofaríngea simbiótica (*Lactobacillus* spp) el epitelio favorece la producción de reacciones antiinflamatorias, mientras que cuando ésta es desplazada por microorganismos potencialmente patógenos el epitelio desencadena reacciones inflamatorias que se cronifican en caso de colonización bronquial.

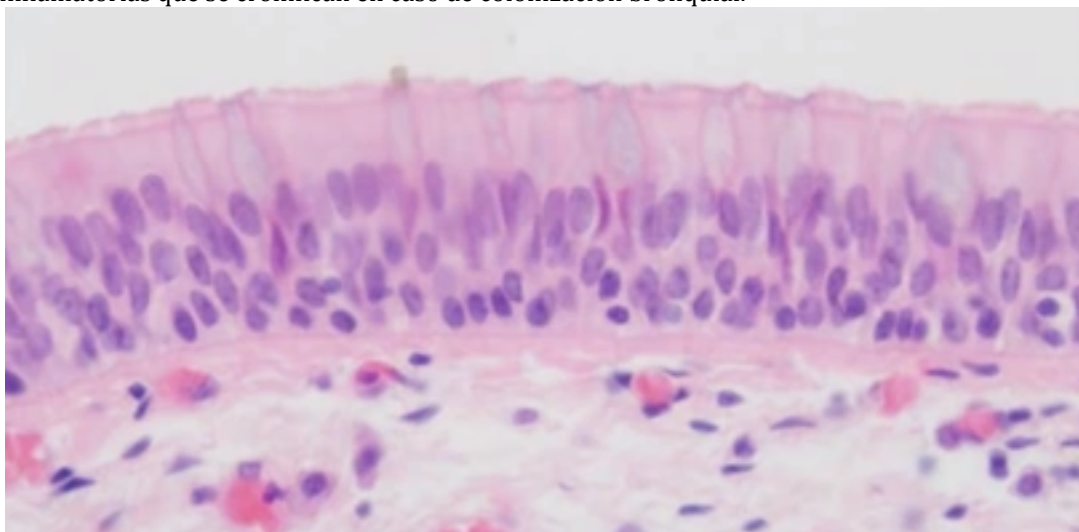


Fig. 33. Epitelio pseudoestratificado respiratorio normal a nivel de tráquea y bronquios principales, con predominio de células ciliadas, con algunas células caliciformes entre ellas y células

de Clara junto a la membrana basal. En EPOC existe una sustitución de las células ciliadas necróticas y lesionadas fundamentalmente por células caliciformes secretoras de mucina. También aumentan en número y tamaño las glándulas secretoras submucosas.

Cada vez se da más importancia a la integridad del citoesqueleto y de las uniones intercelulares como mecanismo de mantenimiento de la integridad de la barrera celular epitelial y de su polaridad eléctrica, lo que evita la permeabilidad y paso de sustancias entre las células. En ella juega un papel determinante la caderina (sobre todo la E-caderina).

Existen uniones intercelulares laterales apicales como las **uniones estrechas o zónula ocludens (tight junctions)**, otras las **uniones adherentes o zónula adherens (adherens junctions)** que se unen por filamentos de actina al citoesqueleto intracelular, los **desmosomas** y las **uniones GAP (GAP junctions)** de comunicación intercelular. Así mismo, a nivel basal las células se anclan a la membrana basal por medio de **hemidesmosomas**.

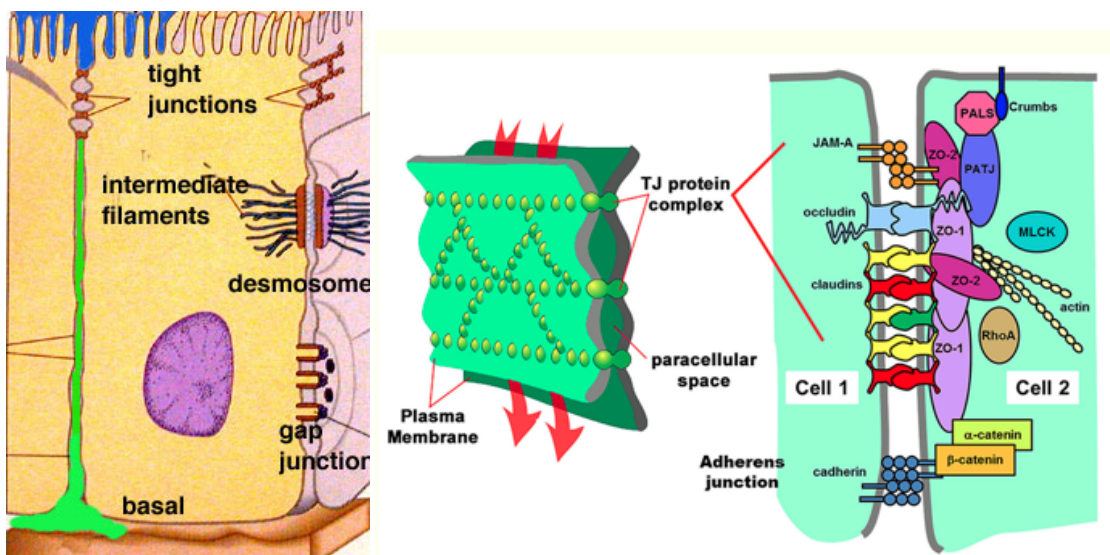
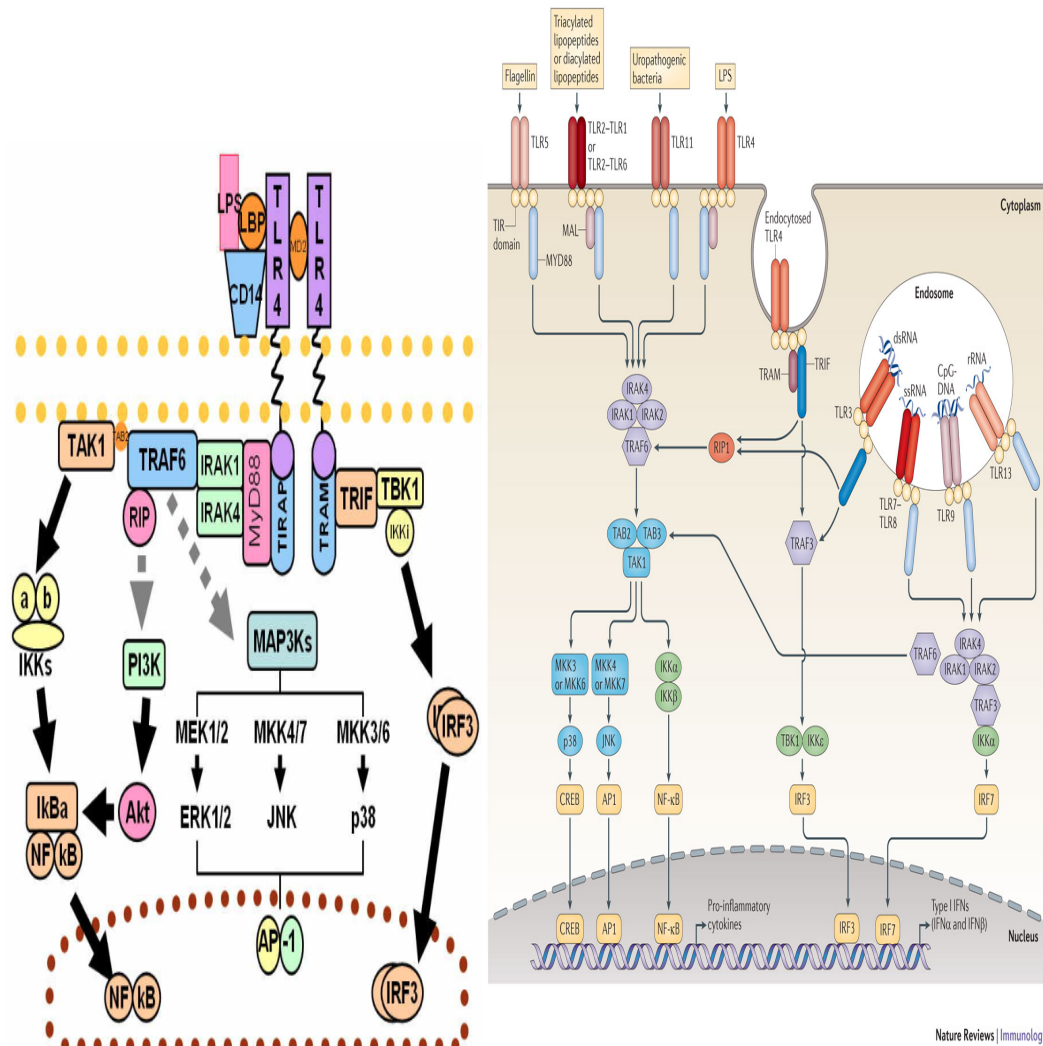


Fig 33. Representación gráfica de las principales uniones intercelulares: tight junctions, adherens junctions, desmosomas y GAP junctions. Esquema más detallado a la derecha de las adherens junctions, probablemente las más importantes para mantener el anclaje celular al citoesqueleto.

Alteraciones del citoesqueleto y de las uniones intercelulares permiten la permeabilidad intercelular de sustancias, virus y bacterias, que: o bien, al quedar expuestos receptores laterales de adhesión (ICAM) de las células epiteliales son internalizados o inducen respuestas inflamatorias mediadas por interferón gamma ($IFN-\gamma$); o bien, llegan a contactar con otras células a nivel de la membrana basal o espacio subepitelial si la lesión es muy grave, cosa que no suele ocurrir en EPOC, donde suele estar preservada la membrana basal.

Sustancias en suspensión en las vías aéreas que contactan con beta-defensinas y hot-shock proteins (HSP) o con receptores de reconocimiento de patrón (toll-like receptors) pueden activar reacciones inflamatorias desde el epitelio respiratorio mediadas por interferón o por otras citoquinas proinflamatorias (IL-8, IL-1b, TGF-b o TNF-a, etc).



Nature Reviews | Immunology

Fig 34. Activación de reacciones inflamatorias a partir del reconocimiento de patrones mediante los tol-like receptores en la membrana epitelial de la vía aérea.

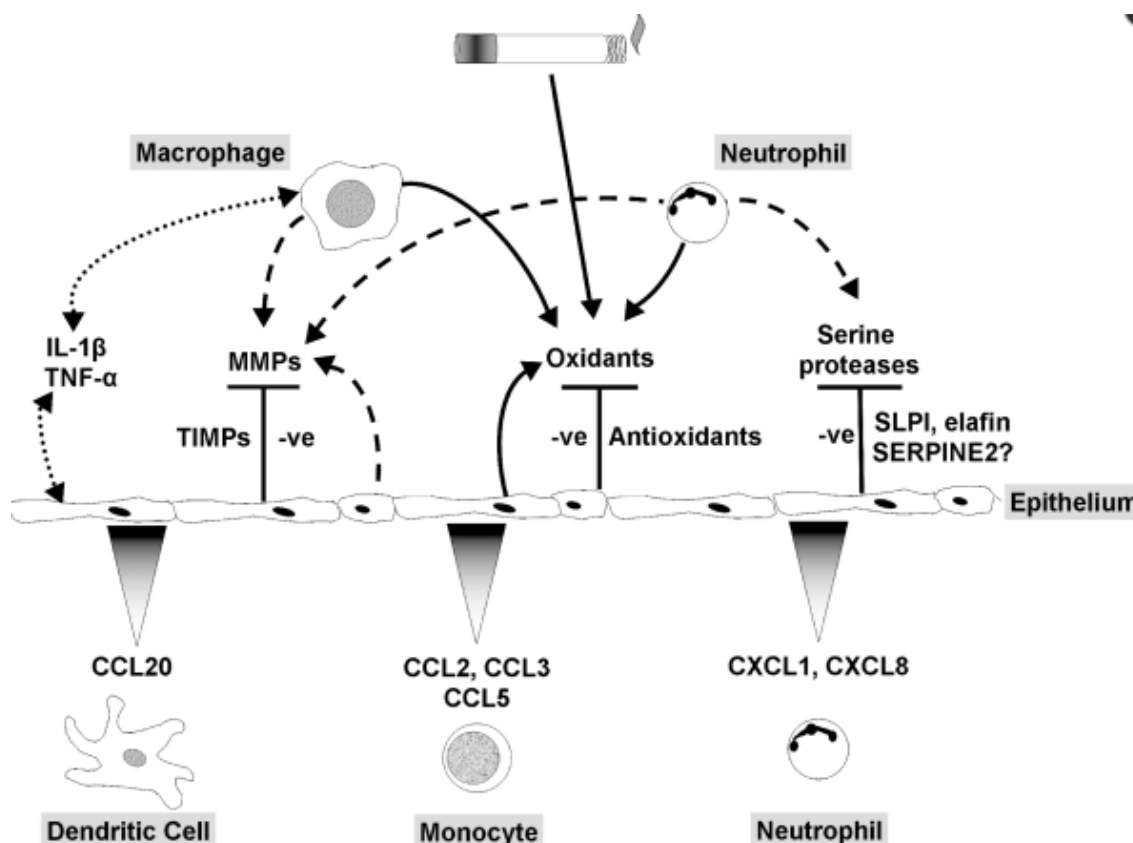


Fig 35. Desbalances proteasas-antiproteasas y oxidantes-antioxidantes en la activación inflamatoria a partir del epitelio de la vía aérea.

5.2.8.3.5. CCR3, y activación de Linfocitos T y de Eosinófilos en EPOC.

El CCR3 (gen del receptor 3 de las quimioquinas (C-C motif)), una de las vías moleculares sobreexpresadas en los pacientes con EPOC, codifica un tipo de receptor del grupo de los acoplados a proteínas G para las quimioquinas de tipo C-C. Se une y responde a diferentes quimioquinas, incluyendo eotaxina (CCL11), eotaxina-3 (CCL26), MCP-3 (CCL7), MCP-4 (CCL13) y RANTES (CCL5). Su expresión predomina en eosinófilos y basófilos, pero también se detecta en linfocitos Th1 y Th2, y en células epiteliales de la vía aérea, y contribuye también a la hiperreactividad bronquial, mediante la hiperplasia, hipertrofia e inducción de la supervivencia y migración hacia el epitelio del músculo liso peribronquial en asma crónico (475, 476). Fomenta la acumulación, por activación y aumento de la supervivencia de eosinófilos (477) mediadas por quimioquinas (IL-3, IL-5) y factores de crecimiento (GM-CSF), así como de otras células inflamatorias en la vía aérea alérgica. La protección contra la muerte celular por la activación de CCR3 depende de p42/44 MAPK sin afectar a la apoptosis mediada por caspasa 3 (478). En EPOC también se ha relacionado con el reclutamiento de linfocitos CD8+ en el pulmón mediante sus ligandos CCL5 y CCL11. De hecho, la presencia de una señalización alterada de la vía CCL5-CCR3 se ha relacionado con el acúmulo de tanto linfocitos CD8+ del tipo Th1 productores de interferón alfa, como de eosinófilos, en el pulmón de pacientes con EPOC.

Además es un co-receptor de entrada del virus del VIH de tipo 1. Forma parte con otros 7 genes más de un grupo (cluster) de genes del receptor de quimioquinas situado en la región cromosómica 3p21 con distintas variantes alternativas de transcripción por splicing.

De forma interesante, mientras en asma los corticoides inhalados siguen siendo la piedra angular del tratamiento, ante el predominio de la inflamación eosinofílica con buena respuesta a los mismos en la mayoría de los casos, en EPOC todavía existe cierto debate respecto a su papel en el tratamiento. De hecho, en asma la respuesta al tratamiento corticoideo inhalado ha sido confirmada incluso en biopsias endobronquiales con reducción del remodelado inflamatorio de la vía aérea.

En los pacientes con EPOC estable, a diferencia de lo que ocurría en asma, se había puesto en cuestión en el pasado la importancia de la inflamación eosinofílica. Esta suposición se basaba en la evidencia previa de inflamación con predominio macrofágico-neutrófilico y de linfocitos CD8+ en los lavados broncoalveolares y en las biopsias endobronquiales de pacientes con EPOC estable en estadios iniciales de obstrucción ligera-moderada, y ante la ausencia de respuesta de la misma al tratamiento con corticoides inhalados (tampoco en las biopsias). Por este motivo, las guías de manejo y tratamiento de la EPOC recomendaban en el pasado optimizar la broncodilatación, mediante la asociación progresiva de varios broncodilatadores a medida que progresaba el grado de obstrucción bronquial o persistían los síntomas, previamente a la adición de tratamientos antiinflamatorios corticoideos inhalados; que recomendaban ya en adición en los estadios avanzados o con múltiples agudizaciones y en caso de prueba broncodilatadora positiva. Esta estrategia se apoyaba también en la demostración de cierta resistencia al tratamiento corticoideo por la disminución de la deacetilación de histonas, en concreto mediante la reducción de los niveles de la hidroxacetilasa 2 (HDAC-2) en los pacientes con EPOC.

Sin embargo, a partir del ensayo clínico TORCH (towards a revolution in COPD treatment) y metanálisis de tratamientos combinados de corticoides inhalados y broncodilatadores beta2-adrenérgicos de larga duración (LABA), se demostraba con ellos la disminución de exacerbaciones, la mejoría del control de síntomas, y una tendencia no significativa hacia la disminución de la mortalidad en los pacientes con EPOC moderado o grave, y especialmente de los multirreingresadores.

Todo ello devolvió el interés en un más que probable mayor papel de la inflamación eosinofílica en la EPOC, que característicamente debería tener, generalmente, como en el asma, una buena respuesta al tratamiento corticoideo inhalado combinado con LABA. Pero también, en un subgrupo concreto de pacientes multirreingresadores, donde se creía, a priori, que podrían tener mayor inflamación eosinofílica.

De hecho, algunos estudios sugerían un cierto aumento proporcional del porcentaje de eosinófilos en lavado broncoalveolar y en sangre periférica en las agudizaciones, sobre la inflamación de

predominio macrofágico-neutrofílica de base (479). No obstante, los corticoides sistémicos son pieza angular en el tratamiento de las agudizaciones moderadas o graves con falta de respuesta al tratamiento inicial inhalado broncodilatador con beta-2 adrenérgicos (SABA) o antimuscarínicos (SAMA) de acción corta, ya que se creen detonadas en la mayoría de los casos por infecciones víricas y bacterianas que inducen un cierto aumento de la inflamación eosinofílica y de la inflamación macrofágico-neutrofílica basal.

La eotaxina (CCL11) y sus receptores CCR3 se han encontrado elevados en las agudizaciones de la EPOC y podrían estar involucrados en el reclutamiento de eosinófilos y linfocitos CD4+ a la vía aérea observado en dichas exacerbaciones

Así mismo, parece ser que esta inflamación se va apagando parcialmente con el tratamiento de la agudización, persistiendo elevada en menor grado, durante un tiempo después.

Parece que también la eosinofilia se ha correlacionado en asma con mayor grado de hiperreactividad bronquial, y con la positividad de la prueba broncodilatadora y de broncoprovocación con metacolina como marcadores de la misma, y de hecho con una mayor probabilidad de respuesta al tratamiento corticoideo inhalado. Sin embargo, la prueba broncodilatadora parece ser más variable en EPOC de lo que se creía a priori, tanto en un mismo paciente a lo largo del tiempo, como entre pacientes. Sobre esta variación de la prueba broncodilatadora en un mismo paciente con EPOC a lo largo del tiempo, no se ha podido establecer todavía de forma fehaciente si pudiera o no estar en relación con el grado de inflamación y de componente eosinofílico remanente, ni su correlación con el grado de control sintomático y número de agudizaciones. En cualquier caso, el uso únicamente de la prueba broncodilatadora de forma puntual como posible marcador exclusivo de un “fenotipo” de EPOC asmático con mayor respuesta al tratamiento corticoideo inhalado ha sido criticada por su variabilidad y ausencia de fiabilidad en el tiempo.

Las guías clínicas tienden a ajustar los tratamientos de la EPOC según fenotipos clínicos diferenciados con valor pronóstico y con respuesta más individualizada al tratamiento, y así, algunas de ellas, propugnan el uso precoz de corticoides inhalados en combinación con LABA en un fenotipo de EPOC “asmático” (ACOS: Asthma-COPD overlap syndrome) en que la prueba broncodilatadora se considera junto a otros criterios sugestivos.

El otro campo de interés es el papel de los eosinófilos en el EPOC multirreingresador

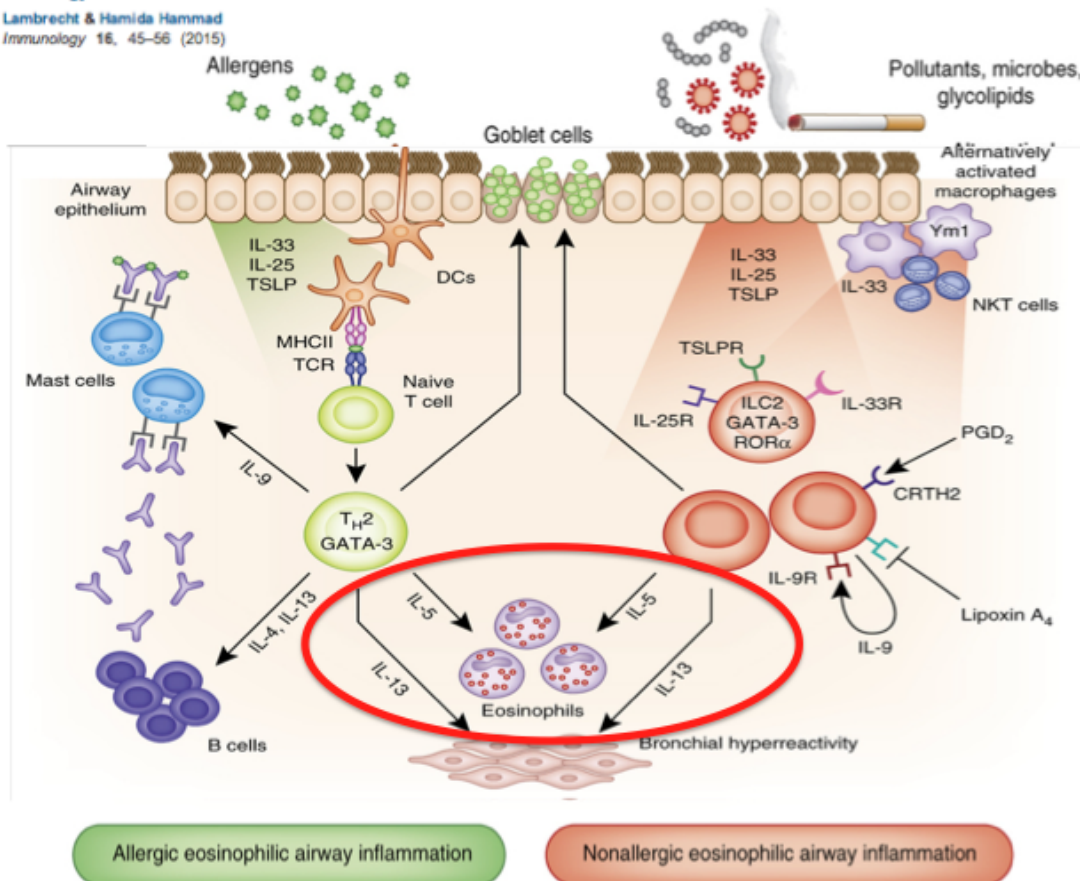


Fig 36. Vías alternativas a la alérgica del asma extrínseco de estimulación de la inflamación mediada por eosinófilos, frecuentemente desencadenadas, como en la hiperreactividad bronquial y asma intrínseco de inicio adulto, por infecciones víricas o bacterianas o por el humo del tabaco, favoreciendo la hiperreactividad bronquial y aumento de inflamación con componente eosinofilo-neutrófilico en las agudizaciones. Sería interesante estudiar su papel en las agudizaciones también de la EPOC.

5.2.8.4. Citocinas en la EPOC.

Overview of expression of chemokines in human lung

Nombres Antiguos	Nuevos nombres	Receptores principales	Expresión celular/tisular
CC			
6Ckine	CCL21	CCR7/CCR10	Ganglios, pulmón ratón
Eotaxina-1	CCL11	CCR3	Mφ, Eos, Epi, F, EC
Eotaxina-2	CCL24	CCR3	Epi, M, T
Eotaxina-3	CCL26	CCR3	Epi, EC
HCC-2	CCL15	CCR1/CCR3	Leucocitos pulmonares
I-309	CCL1	CCR8	T, MC
MCP-1	CCL2	CCR2	M, MC, Epi, EC, SM, F
MCP-2	CCL8	CCR2/CCR3	SM, F
MCP-3	CCL7	CCR1-3	SM, M, MC, F
MCP-4	CCL13	CCR2/CCR3	Epi, SM
MDC	CCL22	CCR4	Mφ, Epi, DC, T
MIP-1α	CCL3	CCR1/CCR5	Mφ, PMN, Epi, F, SM, T, Eos
MIP-1	CCL4	CCR5	Mφ, PMN, Epi, F, SM, T, MC
MIP-3	CCL20	CCR6	Mφ, T, EC; F
MIP-3	CCL19	CCR7/CCR11	Ganglios
PARC/DC-CK1	CCL18	?	Mφ, DC
RANTES	CCL5	CCR1/CCR3/CCR5	Mφ, T, Eos, Epi, F, SM
TARC	CCL17	CCR4	Epi
CXC			
ENA-78	CXCL5	CXCR2	Mφ, Epi, EC, SM
GCP-2	CXCL6	CXCR1/CXCR2	EC
GRO-α	CXCL1	CXCR2/CXCR1	Mφ, Epi, EC
GRO-β	CXCL2	CXCR2	Mφ, Epi, MC
GRO-γ	CXCL3	CXCR2	Mφ, Epi, MC
IL-8	CXCL8	CXCR1/CXCR2	T, PMN, Mφ, Epi, EC, F, SM, Eos
IP-10	CXCL10	CXCR3	Mφ, Epi, PMN, EC, F
I-TAC	CXCL11	CXCR3	Epi, Mφ, PMN
Mig	CXCL9	CXCR3	Epi, Mφ, PMN
SDF-1	CXCL12	CXCR4	Epi, F
C			
Linfotactina-	XCL1	XCR1	Lung, T
Linfotactina-	XCL2	XCR1	Lung, T
CX3C			
Fractalkina	CX3CL1	CX3CR1	EC, T, DC, Epi

*Las quimiocinas se muestran con sus nombres antiguos y nuevos, y se agrupan de acuerdo con sus secuencias de aminoácidos. Se indican sus receptores principales y las células que los expresan. Las quimiocinas y las células que las producen se muestran en **negrita**. T T cell; PMN neutrophil; M macrophage; MC mast cell; Eos eosinophil; Epi epithelial cell; EC endothelial cell; F fibroblast; SM smooth muscle; DC dendritic cell; ? unknown; RANTES regulated on activation, normal T-cell expressed and secreted; TARC thymus and activation regulated chemokine; MDC macrophage-derived chemokine; PARC pulmonary and activation regulated chemokine; I-TAC IFN- γ -inducible T-cell chemoattractant; IP-10

IFN-inducible protein 10; SDF-1 stromal cell derived factor 1; HCC-2 human cell cycle 2; ENA-78 epithelial neutrophil activating monokine induced by IFN-

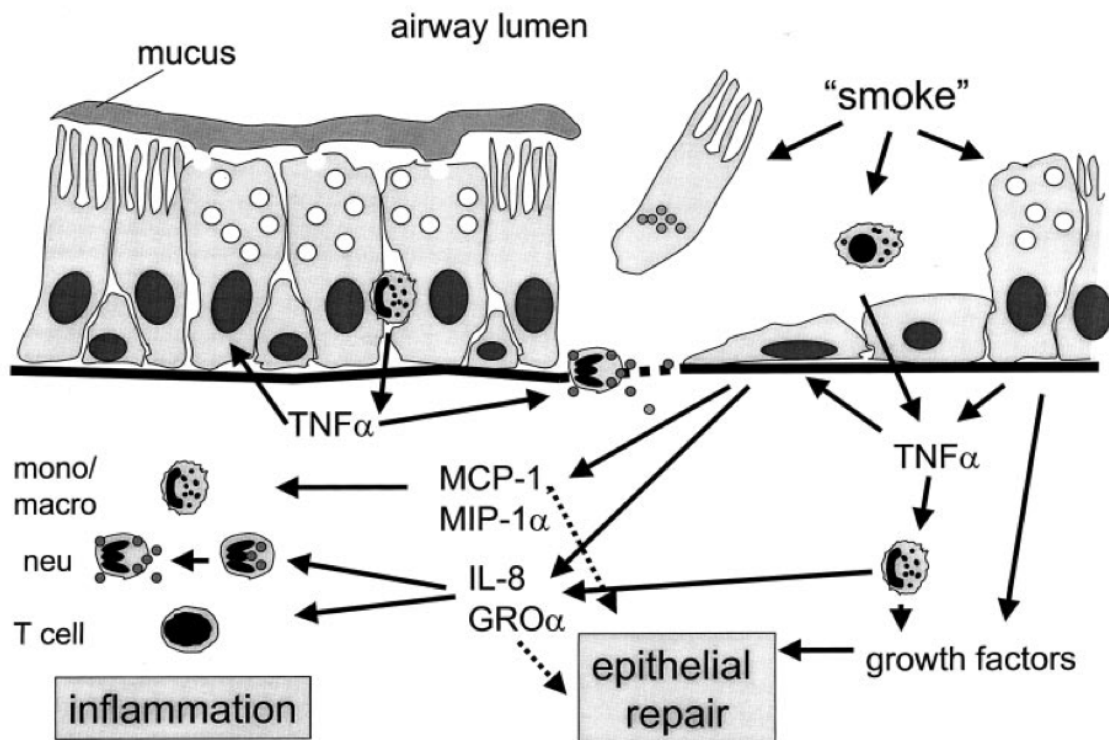


Fig. 37 Esquema simplificado de las acciones de las cito y quimiocinas en el pulmón. Tras estímulo, por ejemplo del humo del cigarrillo, las células epiteliales son dañadas, y el tejido o los macrófagos alveolares producen TNF-alfa que induce la producción de IL-8, GRO-alfa, MCP-1 y MIP-1. IL-8 y GRO-alfa también estimulan la migración de neutrófilos y linfocitos T al epitelio de la vía aérea. Ambos TNF-alfa e IL-8/GRO-alfa causan degranulación de neutrófilos y su explosión con producción y liberación de radicales libres de oxígeno que causan daño epitelial y a la matriz extracelular. MCP-1 y MIP-q estimulan el flujo de monocitos/macrófagos. Alternativamente TNF-alfa puede también causar daño epitelial y muerte celular, metaplasia de células glandulares y/o hipersecreción mucosa. TNF-alfa puede estimular también la expresión de el factor de crecimiento epidérmico (EGF) que orquesta la reparación epitelial. IL-8/GRO-alfa y MCP-1 pueden estar implicados directamente en la reparación epitelial. Mono: monocito; neu: neutrófilo; macro: macrófago (480).

5.2.9. Hipótesis de desbalances en la EPOC:

Durante más de 40 años prevaleció la hipótesis de que la EPOC era una enfermedad por desequilibrio en la producción de proteasas versus antiproteasas.

Otras hipótesis también han prevalecido sobre desbalances entre factores oxidantes y antioxidantes, proinflamatorios y antiinflamatorios, y apoptóticos y antiapoptóticos.

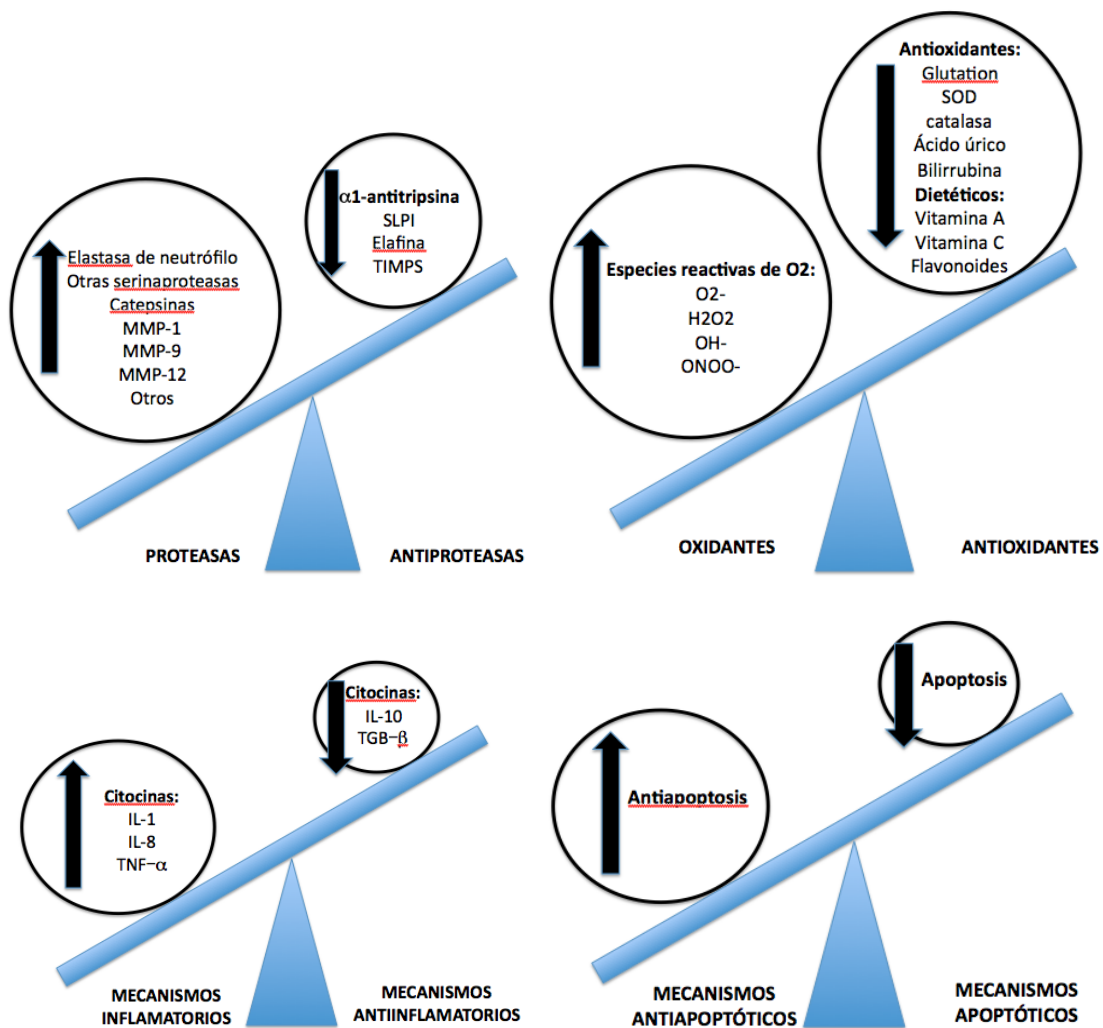


Fig 38. Representación de algunas de las hipótesis de desbalances en la EPOC (proteasas-antiproteasas, oxidantes-antioxidantes, inflamación-antiinflamación y apoptosis-antiapoptosis-proliferación celular).

5.3. Hipótesis de disfunciones fisiológicas en la EPOC:

La EPOC puede considerarse el resultado de lesiones estructurales con destrucción alveolar y predominio de atrapamiento aéreo (enfisema), alteraciones del aclaramiento mucociliar (bronquitis crónica) e inflamación pulmonar y de la vía aérea, que son responsables de la limitación al flujo aéreo. Otros, añadirían a esto, la hiperreactividad bronquial en algunos casos (EPOC asmátiforme?) y la enfermedad de la pequeña vía aérea (bronquiolitis). No obstante, todo ello se acompaña de inflamación sistémica asociada de bajo grado que favorece los posibles efectos sistémicos de la EPOC o empeora comorbilidades existentes: enfermedades y factores de riesgo cardiovasculares, riesgo de cáncer,

osteoporosis, depresión, caquexia y disfunción del músculo esquelético. En algunos casos se han llamado éstos como fenotipos sistémicos de la EPOC.

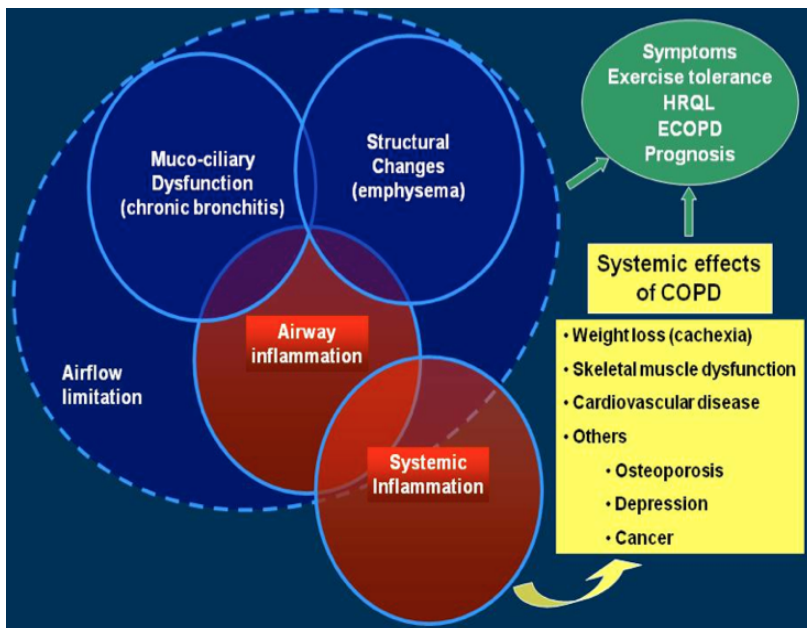


Fig 39. Hipótesis planteada por Álvaro Agustí sobre los efectos sistémicos de la EPOC (481).