

La investigación básica en neumología

Joaquim Gea

Servicio de Neumología-URMAR. Hospital del Mar-IMIM. Departament CEXS. Universitat Pompeu Fabra. Barcelona. CIBER de Enfermedades Respiratorias (CibeRes). Instituto de Salud Carlos III. Barcelona. España.

Se han revisado los artículos relacionados con las ciencias básicas que se han publicado recientemente en ARCHIVOS DE BRONCONEUMOLOGÍA. Respecto de la enfermedad pulmonar obstructiva crónica, destacan los relacionados con el estrés oxidativo y la inflamación extrapulmonar, y un estudio sobre la remodelación bronquial. Los artículos acerca del asma se centraron en revisiones sobre el uso de fármacos que bloquean la inmunoglobulina E libre y sobre las aportaciones de los modelos experimentales de la enfermedad. Respecto del cáncer de pulmón, cabe mencionar 2 trabajos centrados en la genoterapia y las resistencias ante la quimioterapia. También destacan 2 estudios sobre la lesión por isquemia-reperusión, que valoraron el tiempo de resistencia tisular ante esta noxa y el papel de la interleucina-8. En el campo de la fibrosis pulmonar se revisaron los potenciales biomarcadores de progresión y pronóstico, así como el papel de los modelos experimentales de la enfermedad, publicándose además un trabajo sobre el papel fibrogénico del factor transformador de crecimiento beta. Sobre el síndrome de apneas del sueño y las infecciones pulmonares se publicaron sendos estudios acerca del papel del estrés oxidativo. Finalmente, 2 trabajos de investigación analizaron el diagnóstico y tratamiento de la tuberculosis y otras infecciones pulmonares.

Palabras clave: Modelos experimentales. Investigación básica. Biología molecular. Enfermedades respiratorias.

Introducción

Las ciencias biomédicas avanzan gracias a la conjunción de la investigación clínica con la investigación en ciencias más básicas. Esta segunda actividad tiene como objetivo ahondar en los mecanismos y factores que se hallan implicados tanto en las enfermedades como en los procesos que, aun siendo fisiológicos, tienen consecuencias no deseables (p. ej., el envejecimiento). Idealmente, la investigación biomédica más básica debería tener un fuerte componente de transferencia, estando orientada al objetivo último de mejorar el diagnóstico, manejo y/o tratamiento de los pacientes. Ésta es la razón por la que la sociedad pone importantes recursos en

Basic Research in Pulmonology

This is a review of the articles dealing with basic science published in recent issues of *Archivos de Bronconeumología*.

Of particular interest with regard to chronic obstructive pulmonary disease were an article on extrapulmonary inflammation and oxidative stress and another on bronchial remodeling. The articles relating to asthma included a review on the use of drugs that block free immunoglobulin-E and an article about the contribution of experimental models to our knowledge of this disease. Two of the most interesting articles on the topic of lung cancer dealt with gene therapy and resistance to chemotherapy. Also notable were 2 studies that investigated ischemia-reperfusion injury. One evaluated tissue resistance to injury while the other analyzed the role played by interleukin-8 in this process. On the topic of pulmonary fibrosis, an article focused on potential biomarkers of progression and prognosis; others dealt with the contribution of experimental models to our understanding of this disorder and the fibrogenic role of transforming growth factor β . In the context of both sleep apnea syndrome and pulmonary infection, studies investigating the role of oxidative stress were published. Finally, 2 studies analyzed the diagnosis and treatment of tuberculosis and other pulmonary infections.

Key words: Experimental models. Basic research. Molecular biology. Respiratory diseases.

manos de los investigadores. Sin embargo, en ocasiones los resultados de la investigación básica pueden hallarse algo alejados de su aplicación práctica, o no estar orientados a ella, lo que conduce a controversias sobre su razón de ser y eficiencia. La presente revisión pretende recoger los artículos de investigación de índole más básica que se han publicado en el último período en ARCHIVOS DE BRONCONEUMOLOGÍA. Por las propias características y la línea editorial de la revista, todos ellos presentan un importante componente de transferencia. Se ha ordenado la revisión atendiendo a las diferentes entidades nosológicas que afectan al aparato respiratorio.

Enfermedad pulmonar obstructiva crónica y asma bronquial

La enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) es una enfermedad multidimensional, con aspectos que abarcan desde la lesión y remodelación de la vía aérea hasta la inflamación, mecanismos autoinmunitarios y

Correspondencia: Dr. J. Gea.
Servei de Pneumologia. Hospital del Mar-IMIM.
Pg. Marítim, 27. 08003 Barcelona. España.
Correo electrònic: jgea@imim.es

Recibido: 11-7-2008; aceptado para su publicación: 22-7-2008.

afectación extrapulmonar^{1,2}. En los últimos años viene dándose creciente importancia a sus aspectos sistémicos, entre los que destaca la disfunción muscular³, que recientemente se ha identificado como un factor predictor independiente de mortalidad⁴. Las causas de dicha disfunción muscular no están claras, pero parecen relacionadas con la pérdida de masa magra, y entre ellas figuran desde el desacondicionamiento por reducción de la actividad física hasta la presencia de inflamación sistémica y estrés oxidativo⁵. En un interesante trabajo, Morlà et al⁶ han explorado la modificación nitrosativa de una enzima clave en la función del músculo esquelético: la adenosintrifosfatasa de calcio, que se encuentra en el retículo sarcoplásmico (SERCA2). Para ello estudiaron muestras procedentes de los cuádriceps de pacientes con EPOC, tanto con peso conservado como con reducción ponderal. Las muestras se procesaron mediante la técnica de *Western-blot*, que permite una aproximación semicuantitativa a la concentración de determinadas proteínas en la muestra. La inmunoprecipitación con un anticuerpo contra la nitrotirosina permitió identificar proteínas que habían sido objeto de nitrificación. Los autores observaron que la concentración de SERCA2 se hallaba disminuida en los pacientes con peso bajo respecto de aquéllos con peso conservado, y que en los primeros se correlacionaba con la concentración correspondiente a la enzima óxido nítrico (NO) sintetasa inducible. Esta última participa directamente en la generación de óxido nítrico, un potente vasodilatador, mediador del crecimiento muscular y facilitador de la contracción⁷. Sin embargo, el NO es también capaz de reaccionar con el anión superóxido (una potente especie reactiva de oxígeno) y generar así peroxinitrito, que a su vez es también un poderoso oxidante e inductor de daño tisular. En esa misma dirección cabe incluir el segundo hallazgo de los autores, que observaron asimismo la nitrificación de SERCA2 en los pacientes con peso bajo, lo que indicaba la presencia de estrés nitrosativo.

También destaca un interesante artículo de Izquierdo et al⁸, expertos en la enfermedad respiratoria crónica⁹, en que se ha investigado la respuesta inflamatoria sistémica en los 2 fenotipos clásicos de EPOC: el enfisematoso y el predominantemente bronquítico. Para su diferenciación se utilizó el valor de la transferencia del monóxido de carbono, que es un marcador clásico de enfisema pulmonar. Los autores estudiaron 3 marcadores inflamatorios —la interleucina (IL) 8 (potente factor quimiotáctico de los neutrófilos, en los que induce la expresión de integrinas y la adherencia a otras células), el 8-isoprostano (marcador de peroxidación lipídica) y el leucotrieno B₄ (también agente quimiotáctico y estimulador de la adherencia leucocitaria)— en el aire exhalado, así como diversos marcadores séricos. Observaron que las concentraciones de los 2 primeros eran menores en los pacientes con fenotipo de predominio enfisematoso. En los análisis sanguíneos, aunque los pacientes con EPOC mostraban mayor número de neutrófilos que los controles, ambos fenotipos de la enfermedad eran similares entre sí. Por otra parte, se observó que los pacientes con enfisema mostraban concentraciones sanguíneas incrementadas de IL-8, mientras que en aquéllos con fenotipo bronquítico se evidenciaban valores mayores de fibrinó-

geno. Los autores concluyeron que tanto la inflamación como la intensidad del estrés oxidativo pulmonar son menos marcadas en los pacientes enfisematosos, lo que contrasta con su mayor afectación sistémica.

También en el campo de la génesis de la enfermedad pulmonar crónica destaca el trabajo de Avilés et al¹⁰ sobre los marcadores de remodelación bronquial en fumadores. Estos autores, con interesantes estudios previos sobre cultivos primarios de células bronquiales y análisis del perfil proteico en las secreciones respiratorias^{11,12}, inciden aquí en los primeros pasos de la enfermedad y en los cambios iniciales que induciría el hábito tabáquico. En concreto, exploran la celularidad y las concentraciones tanto de la metaloproteinasa (MMP) 9 como de su inhibidor (TIMP-1) en muestras de esputo de fumadores sin obstrucción crónica, pacientes con EPOC y personas sanas. La MMP-9 es una enzima de tipo colagenasa, que regula la homeostasis de la matriz extracelular¹³. Se ha apuntado que el desequilibrio entre proteasas y sus inhibidores en el pulmón estaría relacionado con la progresión y gravedad de la EPOC¹⁴. En el trabajo que se comenta, los autores hallaron que los valores de MMP-9 están ya aumentados en los fumadores, aunque el aumento fue todavía mayor en los pacientes con EPOC. Concluyeron que incluso en etapas iniciales se producen cambios en la vía aérea de los fumadores que llevarán a su posterior remodelación y que tendrán consecuencias funcionales en forma de EPOC.

Respecto del asma bronquial, es una entidad neumológica clásica, en la que tanto el conocimiento fisiopatológico como el campo terapéutico han experimentado importantes avances en las últimas décadas, lo cual ha facilitado el manejo clínico de los pacientes. En el terreno del tratamiento destaca una serie de trabajos de Cabrerá-Navarro¹⁵⁻¹⁷ en los que se revisan fundamentalmente las acciones del omalizumab, un anticuerpo monoclonal que actúa sobre la reacción alérgica bloqueando la inmunoglobulina E libre¹⁸. Así, ésta no puede unirse a sus receptores celulares y se inactiva la cascada inflamatoria, independientemente de cuál sea el alérgeno específico. Otras acciones interesantes del omalizumab son que interfiere en la expresión de receptores de membrana en los basófilos y que disminuye la infiltración eosinófila y la expresión de sus derivados humorales en la vía aérea^{19,20}. Su inconveniente fundamental es el alto precio del fármaco, por lo que es recomendable reservarlo para pacientes con asma grave y mala respuesta al tratamiento convencional.

En la bibliografía de ARCHIVOS DE BRONCONEUMOLOGÍA durante este período también destaca un interesante editorial de Ramos-Barbón²¹ dedicado a los avances que gracias a la investigación básica se han realizado en el conocimiento de la fisiopatología del asma. El autor subraya la importancia de esta entidad nosológica y las limitaciones de los datos obtenidos directamente de pacientes. Los modelos experimentales relacionados con el asma, fundamentalmente murinos, han permitido obviar alguna de estas limitaciones, ya que ha sido posible inducir en ellos tanto sensibilización alérgica como inflamación y remodelación bronquiales, respuesta alérgica temprana y tardía frente a la broncoprovocación aler-

génica, e hiperreactividad frente a agonistas colinérgicos^{22,23}. Además, como en tantas otras entidades, ha sido posible obtener animales transgénicos, lo que ha permitido estudiar el papel de determinadas sustancias proinflamatorias en la génesis y perpetuación del problema. Sin embargo, como siempre ocurre con estos modelos, presentan una serie de limitaciones para la extrapolación de sus resultados a los seres humanos. El reto actual es profundizar en el conocimiento tanto de la vertiente adaptativa del sistema inmunitario, y su papel en la génesis y perpetuación de la respuesta asmática, como de las bases del fenómeno de remodelación tisular, así como explorar los mecanismos del incremento de la prevalencia de la enfermedad. Sin duda los modelos experimentales pueden ayudar a la consecución de estos objetivos

Cáncer de pulmón

Ésta es una de las entidades respiratorias de más alta prevalencia y alto coste sanitario²⁴, con un fuerte impacto además en la visualización de la actividad de las especialidades de neumología y cirugía torácica. Lamentablemente, sólo el tratamiento quirúrgico resulta curativo y, a pesar de los recientes avances en quimioterapia, sólo se ha conseguido una mejora transitoria de la calidad de vida, con un retraso del deterioro y la muerte del paciente²⁵. Un tema especialmente preocupante es el de las resistencias a la quimioterapia, que pueden ser innatas o adquiridas²⁶. Uno de los mecanismos más frecuentes de resistencia es la reducción de la concentración del fármaco intracelular, ya sea por expulsión, secuestro en vesículas y/o alteraciones en el transporte celular. La expulsión a través de la membrana parece mediada por una serie de proteínas denominadas "resistentes a múltiples fármacos" o MDR (*multidrug resistant*)²⁷, algunas de las cuales se localizan en la propia membrana (p. ej., la proteína asociada a multiresistencia a fármacos o Mrp, y la glucoproteína-P o Pgp) y otras en el citoplasma (p. ej., la proteína relacionada con la resistencia en pulmón o Lrp), más en concreto, en las llamadas *vaults* citoplásmicas (partículas capsulares de forma ovoidea). Paredes et al²⁸ han explorado la expresión de diferentes proteínas MDR en muestras tumorales de pacientes afectados de carcinoma de pulmón, así como la relación entre dicha expresión y las eventuales resistencias clínicas. A tal efecto se tomaron muestras quirúrgicas y/o broncoscópicas de pacientes con cáncer de pulmón, las cuales se analizaron mediante inmunohistoquímica para la detección de Pgp (también llamada MDR1), Mrp1 y Lrp. La proteína más frecuentemente expresada fue Lrp, aunque la coexpresión fue asimismo un hallazgo común. Sólo pequeños grupos de pacientes no expresaban ninguna de las proteínas estudiadas. El grado de expresión no se correlacionó con la edad, el sexo ni las características del tumor, pero sí con la respuesta a la quimioterapia, sobre todo en el caso de la Pgp y de la coexpresión de varias proteínas. Los autores confirman que las MDR son proteínas presentes en un importante número de tumores y que pueden ayudar a entender la resistencia a la quimioterapia.

Por su parte, en un interesante artículo, Rodrigo-Garzón et al²⁹, cuyo campo de actuación se centra en el diagnóstico y tratamiento del cáncer de pulmón^{30,31}, han utilizado un modelo experimental de esta entidad para el ensayo del tratamiento génico con vectores (adenovirus recombinante defectivo) o estirpes celulares (células dendríticas singénicas y transducidas) portadores o bien del gen de la timidincinasa o bien del gen de la IL-12. En el modelo descrito, estos prometedores tratamientos fueron capaces en todos los casos de disminuir el tamaño del tumor.

Lesión por isquemia-reperfusión y trasplante pulmonar

La reducción o ausencia de flujo sanguíneo, seguida en muchas ocasiones por la reperfusión de la zona previamente isquémica, es una de las causas más frecuentes de lesión estructural y funcional en numerosos tejidos. Este tipo de lesión aparece en la isquemia miocárdica-infarto de miocardio³², la isquemia-infarto cerebrales³³, la embolia pulmonar³⁴ y los trasplantes de órganos. Además, la lesión por isquemia-reperfusión (LIR) es una causa importante de morbilidad y mortalidad precoces tras el trasplante de pulmón³⁵. Sin embargo, no se conoce con precisión cuál es el margen de tiempo que el tejido es capaz de superar sin una adecuada perfusión, aunque se conjetura que podría ser de unas 6-8 h^{35,36}. Santana-Rodríguez et al³⁷, en un excelente trabajo, investigan los efectos de la isquemia persistente y subsiguiente restauración del flujo sanguíneo en el trasplante pulmonar. Para ello utilizaron un modelo experimental murino de trasplante pulmonar unilateral, con inducción de isquemia durante tiempos variables (hasta 10 h) y sacrificio posterior de los animales. No se observaron diferencias entre los diferentes grupos respecto a los signos clínicos de rechazo precoz del órgano trasplantado. Tampoco se evidenciaron diferencias histológicas. Estos resultados indican que es probable que el tiempo de resistencia tisular a la LIR sea relativamente prolongado y superior al aceptado hasta ahora, al menos en el trasplante pulmonar unilateral.

En otro trabajo sobre el mismo tema de la reducción transitoria de flujo sanguíneo al tejido pulmonar, Matilla et al³⁸ analizan los mecanismos moleculares de la LIR, en cuya génesis se han implicado elementos inflamatorios, tanto celulares como moleculares³⁹. En concreto, Matilla et al analizan la expresión del transcriptoma (ácido nucleico mensajero o ARNm) de la IL-8 en el pulmón, así como su relación con las eventuales alteraciones histológicas, para lo cual utilizan un modelo experimental de LIR. En este modelo se produjo isquemia aislada o isquemia-reperfusión a diferentes tiempos y en diferentes lóbulos pulmonares. Cabe recordar nuevamente que la IL-8 es un potente facilitador de la atracción de polimorfonucleares sanguíneos hacia los tejidos, donde estas células liberan mediadores que facilitarían la aparición de daño. Además, la IL-8 favorece la desgranulación celular y el estrés oxidativo⁴⁰, que a su vez incrementa la expresión de la propia citocina. Mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) convencional, los autores hallaron que la ex-

presión de IL-8 aumentaba durante la primera hora de isquemia y posteriormente se mantenía elevada. Sus valores continuaron siendo elevados durante la posterior reperfusión, con un segundo pico a las 2 h. En esta fase se observó también un aumento precoz y mantenido de polimorfonucleares en el tejido pulmonar, acompañado de edema, congestión vascular y engrosamiento de los tabiques interalveolares. Los autores concluyen que debe de haber una relación entre el incremento de la IL-8 local durante la isquemia y la posterior aparición de leucocitos tisulares en la reperfusión, lo que induce a pensar que la determinación de sus concentraciones podría ser útil en la predicción de la evolución de los trasplantes pulmonares. Estos resultados también pueden abrir interesantes posibilidades terapéuticas con inhibidores de la IL-8.

Fibrosis pulmonar

Ésta es una entidad apasionante, de cuya patogenia y evolución conocemos cada vez más elementos⁴¹⁻⁴³. Sin embargo, el tratamiento continúa limitado fundamentalmente a los esteroides y, en determinados casos, a la quimioterapia. En fechas recientes han aparecido algunos resultados prometedores con fármacos antioxidantes o el trasplante de neumocitos⁴⁴ en modelos experimentales de la enfermedad.

En una interesante revisión, Acosta⁴⁵ repasa el sugerente tema de los biomarcadores pronósticos en esta entidad. La necesidad de dichos marcadores nace de la constatación de que pequeñas variaciones funcionales o clínicas son difíciles de interpretar, y de que los determinantes evolutivos más sólidos son histológicos y, por tanto, difíciles de obtener. Tanto la radiología en manos expertas como los marcadores de índole biológica podrían paliar este problema. Sin embargo, los segundos no están claramente definidos en la actualidad. Entre los propuestos destaca el KL-6, glucoproteína de alto peso molecular que producen los neumocitos dañados. Sus concentraciones pueden estar incrementadas en el lavado broncoalveolar de los pacientes con fibrosis intersticial idiopática⁴⁶, aunque no es totalmente específico y no parece correlacionarse de forma clara con el pronóstico. En segundo lugar se hallan las MMP (véanse párrafos anteriores), proteínas secretadas por diversas estirpes celulares a la matriz extracelular, donde regularían el recambio proteico. Como ya se ha visto, su actividad está a su vez regulada por inhibidores tisulares (TIMP). Se cree que las MMP intervienen en el inicio y ulterior progresión del proceso fibrótico a partir de sus interacciones con diversas citocinas —p. ej., el factor transformador de crecimiento beta (TGF- β) y el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α)—. También se ha conjeturado que los desequilibrios entre MMP y TIMP podrían desempeñar un papel en la enfermedad fibrótica⁴⁷. Un tercer candidato es la proteína quimiotáctica para monocitos (MCP-1), secretada por los macrófagos, células alveolares y endoteliales, que se halla elevada de forma relativamente específica en el lavado broncoalveolar de pacientes con fibrosis idiopática. Además, este marcador parece indicar la respuesta o falta de respuesta al tratamiento este-

roideo⁴⁸. También se han relacionado las proteínas A y D del surfactante pulmonar (conocidas, respectivamente, como SP-A y SP-D) con alteraciones en la matriz extracelular y la proliferación fibroblástica. Se ha descrito que valores plasmáticos elevados de SP-D son predictores de un deterioro acelerado de la enfermedad y menor supervivencia^{49,50}. Entre las queratinas celulares, la conocida con el acrónimo CYFRA 21-1 (o fragmento 19 de citoqueratina) se ha encontrado elevada en el plasma de pacientes con fibrosis idiopática. Este marcador podría ser útil en el pronóstico de la enfermedad⁵¹, pero, al indicar inespecíficamente fenómenos de lesión y remodelación alveolares, su elevación puede observarse también en otras entidades. Ya se ha mencionado el TGF- β . Esta citocina es fundamental en la reparación de los tejidos y su sobreexpresión puede conducir a la fibrosis^{52,53}. Además, se ha evidenciado que sus valores están incrementados en el suero de los pacientes afectados de fibrosis intersticial idiopática, con respuesta parcial evidenciable al tratamiento esteroideo⁵⁴. Finalmente, en un interesante trabajo publicado en ARCHIVOS DE BRONCO-NEUMOLOGÍA se valoró el papel que desempeña este importante mediador fibrogénico en la fibrosis. Tras determinar las concentraciones plasmáticas de TGF- β en pacientes con la enfermedad, se confirmó la elevación de dichos valores, aunque no fue posible establecer un valor pronóstico para este biomarcador⁵⁵.

En otra revisión también aparecida en nuestra revista, Molina-Molina et al⁵⁶ repasaron los diferentes modelos experimentales de fibrosis pulmonar, justificados por la similitud de la respuesta fibrótica entre las diferentes especies animales. Entre estos modelos destacan los que se centran en el estudio de la muerte celular, los centrados en la síntesis y regulación de elementos fibrogénicos y antifibrogénicos, y por último, aquellos en que se evalúan nuevos posibles tratamientos. La mayoría de los modelos utilizan, por su facilidad de implementación y bajo coste, roedores de pequeño tamaño, a los que se induce la reacción pulmonar fibrótica mediante la instilación por diversas vías de sustancias irritantes (bleomicina, amiodarona, etc.) o la irradiación del tejido pulmonar⁵⁷⁻⁵⁹. El modelo de bleomicina consigue reproducir muchos de los elementos histológicos de la fibrosis pulmonar intersticial, por lo que ha sido muy utilizado en la valoración de la lesión tanto celular como de la matriz extracelular⁶⁰, de los mecanismos de acción de diversas citocinas y factores de crecimiento⁶¹, y del sustrato genético que puede favorecer la aparición de la enfermedad⁶². La amiodarona, a su vez, también puede ser útil en la inducción de fibrosis⁶³, muy similar a la que aparece en los seres humanos ante este fármaco. Igualmente la inhalación de partículas como el sílice, asbesto, cobalto, cloruro de cadmio o paracuat es capaz de inducir inflamación y fibrosis pulmonares, que en algunos de estos modelos es de tipo granulomatoso, muy útil en el estudio del comportamiento de los macrófagos⁶⁴. Respecto a la irradiación, también es capaz de inducir fibrosis pulmonar, aunque el instrumental necesario para este modelo es más complejo y requiere precauciones específicas. Asimismo es de gran utilidad el uso de modelos con animales manipulados genética-

mente, lo que permite el estudio de patrones de susceptibilidad a la fibrogenia. Estos modelos pueden incluir modificaciones génicas combinadas, con cambios o ausencia de la expresión de diversas proteínas⁶⁵, lo que tiene especial interés porque parece que la fibrosis es una entidad poligénica en los seres humanos. También existen modelos *in vitro*, que permiten conocer mejor el comportamiento de los diversos agentes celulares implicados en la fibrosis, así como su respuesta ante determinadas sustancias⁶⁶. La información más relevante aportada recientemente por los modelos experimentales hace referencia tanto a la fisiopatología de la enfermedad (en concreto, el papel que desempeñan las células epiteliales junto a los más clásicos fibroblastos y miofibroblastos, y la implicación de los factores profibróticos)⁵² como a su respuesta ante determinados tratamientos (p. ej., interferón, pirfenidona, N-acetilcisteína y bosentán).

Trastornos respiratorios del sueño

El interés por estas entidades ha experimentado un desarrollo exponencial en la última década, al ser la sociedad cada vez más consciente de su prevalencia e impacto sociosanitario. Aunque las causas mecánicas del trastorno y muchas de sus consecuencias clínicas se conocen relativamente bien, todavía no están claros los mecanismos celulares que lo condicionan y se derivan de él. Entre los factores que se han implicado en la génesis de las alteraciones cardiovasculares que acompañan al síndrome de apneas-hipopneas durante el sueño (SAHS) se encuentra el estrés oxidativo. Éste se produce cuando hay un desequilibrio entre la producción de radicales libres y los mecanismos de defensa. Como consecuencia se pueden modificar proteínas (tanto estructurales como enzimas), lípidos y el propio ADN, lo que tiene importantes implicaciones tanto funcionales como de viabilidad celular^{67,68}. En este sentido, Hernández et al⁶⁹ publicaron un trabajo en el que se evaluó qué efecto tenía el tratamiento clásico del SAHS, esto es, la aplicación de presión positiva continua sobre la vía aérea (CPAP), en presencia de estrés oxidativo sistémico. Antes del tratamiento, los índices de estrés oxidativo, medido aquí por determinación de la concentración de malondialdehído (un indicador sobre todo de peroxidación lipídica), se hallaban aumentados en los pacientes con SAHS, lo que confirmaba hallazgos previos de otros grupos⁷⁰. El resultado más interesante del estudio fue la observación de un descenso significativo del estrés tras el tratamiento con CPAP durante 3 meses. Este hallazgo, confirmado recientemente por otros autores⁷¹, indica que la CPAP contrarresta alguno de los mecanismos implicados en el impacto cardiovascular del SAHS. Esto no sería necesariamente extrapolable a todos los efectos sistémicos de la enfermedad, ya que parece que el estrés oxidativo persiste en los músculos esqueléticos tras el tratamiento con CPAP⁷².

Infecciones respiratorias

La tuberculosis sigue siendo un importante problema de salud⁷³, reactivado en el Primer Mundo por aspectos

relacionados con la globalización. Debido a la incomodidad de los tratamientos, las políticas de erradicación de la infección no han sido efectivas. Esto ha conducido a la búsqueda de vacunas de tipo terapéutico que permitan sobre todo la erradicación de todas las micobacterias (incluidas las conocidas como "latentes" o capaces de sobrevivir sin desarrollar la enfermedad ni ser detectadas por el sistema inmunitario). En un interesante artículo, Cardona y Amat⁷⁴ repasan el origen y desarrollo de la vacuna conocida como RUTI. La premisa inicial era que fuera capaz de inmunizar al huésped frente a bacilos tanto en fase de multiplicación como de latencia. Otro elemento que debía tenerse en cuenta era que el tratamiento antibiótico de la infección latente tiene como objetivo eliminar los gérmenes en multiplicación activa o que intenten pasar a esa fase, además de eliminar la carga inflamatoria en la zona de la lesión. Sin embargo, también provoca una inmunoincompetencia relativa, ya que deja las concentraciones de población bacilar en un dintel tan bajo que no llega a estimular la respuesta inmunitaria⁷⁵. Por eso una vacuna de administración consecutiva a la quimioterapia tendría un alto interés, y todavía sería mejor que esa vacuna pudiera rebajar además el período de quimioterapia. Estos presupuestos se cumplen en la vacuna denominada RUTI, que está formada por fragmentos celulares del bacilo biotransformados y liposomados, lo cual permite administrarla tras un período acortado de quimioterapia, y que es capaz de destruir al bacilo latente⁷⁶. El mecanismo de actuación de la vacuna RUTI es la génesis de una potente respuesta poliantigénica, con equilibrio entre los tipos T *helper* 1, 2 y 3, y producción intensa de anticuerpos. Su eficacia en modelos murinos es alta⁷⁷, y ya se está desarrollando para su uso futuro en humanos.

Uno de los problemas frecuentes con las infecciones pulmonares es determinar el germen causal para instaurar el tratamiento más apropiado. Entre las técnicas diagnósticas más habituales se hallan el hemocultivo y el cultivo de las secreciones respiratorias. Sin embargo, estas técnicas presentan una serie de limitaciones, como el retraso diagnóstico y problemas de especificidad y/o sensibilidad, lo que ha llevado a la búsqueda de alternativas. Entre ellas destaca la detección de antígenos en muestras biológicas fáciles de recoger, como es el caso de la orina. Esta técnica, basada en la alta concentración antigénica en ese fluido y la ausencia de interferencias técnicas con otras sustancias, es útil en la identificación inmunológica de microorganismos como *Legionella pneumophila* y *Streptococcus pneumoniae*. En el trabajo publicado por Molinos⁷⁸ se repasa la utilidad de estos métodos de detección de antigenuria. En el caso del neumococo se suele utilizar la detección del polisacárido capsular y, tras el uso decepcionante de técnicas como la contraelectroforesis, la aglutinación de látex, la coaglutinación y el enzimoimmunoanálisis, se ha desarrollado la inmunocromatografía de membrana, que facilita enormemente la detección. Su sensibilidad es correcta y la especificidad, muy alta. Además, el resultado puede tenerse en tan sólo 15 min. Sin embargo, presenta algunos problemas, ya que la positividad no se modifica con el tratamiento exitoso y puede persistir un

mes tras la infección⁷⁹. Su utilización puede servir de ayuda a la hora de decidir tanto el antibiótico a administrar como el ingreso o no del paciente. Además, se debe tomar en consideración que la neumonía neumocócica bacteriémica, situación en que la detección del antígeno alcanza una sensibilidad del 85%, tiene unas tasas elevadas de morbimortalidad. Respecto a *L. pneumophila*, el diagnóstico habitual se basa en métodos tediosos y de relativa baja sensibilidad (p. ej., inmunofluorescencias directa e indirecta, cultivo de secreciones). En la actualidad también se ha avanzado notablemente en las técnicas de detección urinaria de antígenos de este microorganismo, como el enzoinmunoanálisis⁸⁰ y la ya mencionada inmunocromatografía de membrana. Aunque la rentabilidad de ambas técnicas es similar, la segunda ofrece un diagnóstico más rápido (tan sólo 15 min) y precisa con menor infraestructura instrumental. Al parecer, la sensibilidad prácticamente se duplica si se procede a la concentración previa de la orina, y la especificidad es también muy elevada⁸¹. La técnica de identificación antigénica para el neumococo estaría indicada en las neumonías adquiridas en la comunidad, con el fin de prescribir un tratamiento dirigido, mientras que la sospecha de *Legionella* o la presencia de una epidemia de legionelosis harían recomendable el uso del antígeno específico para este organismo.

Finalmente, en su excelente artículo original, Romero et al⁸² se centran en el papel del estrés oxidativo en la lesión y proceso inflamatorio que acompaña a las agresiones tisulares. En este caso se hace referencia específica a las infecciones pulmonares, concretamente a las bacterianas, para evaluar si los valores de estrés oxidativo en el aire exhalado pudieran reflejar la situación en el pulmón. Los autores determinan las concentraciones de nitrito y nitrato (NO₂ y NO₃, respectivamente, ambos derivados del NO, que es capaz de inducir el peroxinitrito, un potente radical), de mieloperoxidasa (convierte el peróxido de hidrógeno en un oxidante más poderoso: el ácido hipocloroso) y de 8-isoprostano (un buen marcador de las transformaciones moleculares por peroxidación lipídica) en muestras de aire exhalado. Estas muestras se recogieron de sujetos sanos y pacientes con diversas entidades relacionadas con la infección: neumonía multilobular sin ventilación mecánica, neumonía grave que requería ventilación mecánica y EPOC exacerbada por infección. Todos los grupos de pacientes mostraron elevación de los marcadores mencionados, sin que se observaran diferencias significativas entre las diversas entidades. Los autores concluyeron que es posible tener un reflejo del estado de estrés oxidativo pulmonar a partir de la muestra de aire exhalado, aunque faltan estudios que relacionen los hallazgos en este tipo de muestra y en el propio tejido pulmonar.

Conclusiones

Resumiendo, los artículos originales y de revisión relacionados con las ciencias más básicas y sus aspectos de transferencia a la clínica han tenido una importante presencia en ARCHIVOS DE BRONCONEUMOLOGÍA en el último período. Esto expresa una tendencia general en

el mundo de la literatura biomédica, que coincide con el fuerte desarrollo tecnológico y del conocimiento más básico en las últimas 2 décadas.

BIBLIOGRAFÍA

1. Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease. Estrategia global para diagnóstico, tratamiento y prevención de la enfermedad pulmonar obstructiva crónica. Reunión de trabajo NHLBI/WHO. Disponible en: www.goldcopd.com
2. Celli BR, MacNee W, and committee members. Standards for the diagnosis and treatment of patients with COPD: a summary of the ATS/ERS position paper. Eur Respir J. 2004;23:932-46.
3. American Thoracic Society. Skeletal muscle dysfunction in chronic obstructive pulmonary disease: a statement of the American Thoracic Society and European Respiratory Society. Am J Respir Crit Care Med. 1999;159:S1-S40.
4. Swallow E, Reyes D, Hopkinson N, Man W, Porcher R, Cetti E, et al. Quadriceps strength predicts mortality in patients with moderate to severe chronic obstructive pulmonary disease. Thorax. 2007;62:115-20.
5. Gea J, Barreiro E, Orozco-Levi M. Skeletal muscle adaptation to disease states. En: Bottinelli R, Reggiani C, editores. Skeletal muscle plasticity in health and disease: from genes to whole muscle. Doordrecht: Springer; 2006. p. 315-60.
6. Morlà M, Iglesias A, Saulea J, Cosio B, Agustí A, Busquets X. Disminución de la expresión de la bomba de calcio sarcoplásmica (SERCA2) en el músculo esquelético de pacientes con EPOC y bajo peso corporal. Arch Bronconeumol. 2007;43:4-8.
7. Gea J, Barreiro E, Orozco-Levi M. Free radicals, cytokines and respiratory muscles in COPD patients. Clin Pulm Med. 2007; 14:117-26.
8. Izquierdo JL, Almonacid C, Parra T, Pérez J. Inflamación pulmonar y sistémica en 2 fenotipos de EPOC. Arch Bronconeumol. 2006;42:332-7.
9. Peces-Barba G, Barberà JA, Agustí A, Casanova C, Casas A, Izquierdo JL, et al. Diagnóstico y manejo de la enfermedad pulmonar obstructiva crónica: guía conjunta de la Sociedad Española de Neumología y Cirugía Torácica (SEPAR) y la Sociedad Latinoamericana del Tórax (ALAT). Arch Bronconeumol. 2008;44:271-81.
10. Avilés B, Belda J, Margarit G, Bellido-Casado J, Martínez-Bru C, Casán P. Marcadores de remodelado bronquial en el esputo inducido de fumadores sanos. Arch Bronconeumol. 2006;42:235-40.
11. Margarit G, Belda J, Casan P, Sanchis J. Método para amplificar cultivos primarios de células epiteliales bronquiales. Arch Bronconeumol. 2005;41:524-7.
12. Belda J, Margarit G, Martínez C, Casan P, Rodríguez-Jerez F, Brufal M, et al. Exudado bronquial de proteínas séricas en las crisis de asma. Arch Bronconeumol. 2005;41:328-33.
13. Atkinson JJ, Señor RM. Matrix metalloproteinase-9 in lung remodeling. Am J Respir Cell Mol Biol. 2003;28:12-24.
14. Vignola AM, Riccobono L, Mirabella A, Profita M, Chánez P, Bellia V, et al. Sputum metalloproteinase-9/tissue inhibitor of metalloproteinase-1 ratio correlates with airflow obstruction in asthma and chronic bronchitis. Am J Respir Crit Care Med. 1998;158:1945-50.
15. Cabrera-Navarro P, Rodríguez-Gallego JC. Perfil farmacológico de omalizumab. Arch Bronconeumol. 2006;42 Supl 1:26-31.
16. Cabrera-Navarro P. Antiinmunoglobulina E, un anticuerpo monoclonal, en el tratamiento de las enfermedades respiratorias. Arch Bronconeumol. 2006;42:241-5.
17. Cabrera-Navarro P. Uso terapéutico de los anticuerpos monoclonales en neumología. Arch Bronconeumol. 2006;42 Supl 2:2-11.
18. Easthope S, Jarvis V. Omalizumab. Drugs. 2001;61:253-60.
19. Beck LA, Marcotte GV, MacGlashan D, Togias A, Saini S. Omalizumab-induced reductions in mast cell Fcε epsilon RI expression and function. J Allergy Clin Immunol. 2004;114:527-30.
20. Djukanović R, Wilson SJ, Kraft M, Jarjour NN, Steel M, Chung KF, et al. Effects of treatment with anti-immunoglobulin E antibody omalizumab on airway inflammation in allergic asthma. Am J Respir Crit Care Med. 2004;170:583-93.
21. Ramos-Barbón D. Investigación básica sobre asma: ¿hacia dónde nos dirigimos? Arch Bronconeumol. 2006;42:613-5.
22. Ramos-Barbón D. ¿Podemos modificar el remodelado bronquial en el asma? Arch Bronconeumol. 2005;41 Supl 5:3-9.

23. Cortijo J. Modelos experimentales de asma. Aportaciones y limitaciones. *Arch Bronconeumol.* 2003;39:54-6.
24. Boyle P, Gandini S, Gray N. Epidemiology of lung cancer: a century of great success and ignominious failure. En: Hansen HH, editor. *Textbook of lung cancer.* London: Martin Dunitz Ltd.; 2000: p. 13-25.
25. Dubey S, Powell CA. Update in lung cancer 2007. *Am J Respir Crit Care Med.* 2008;177:941-6.
26. Beck WT, Dalton WS. Mechanisms of drug resistance. En: DeVita VT, Hellman S, Rosenberg SA, editors. *Cancer principles and practice of oncology.* 6th ed. Filadelfia: JB Lippincott Company; 2001. p. 498-512.
27. Borst P, Evers R, Kool M, Wijnholds J. A family of drug transporters: the multidrug resistance-associated proteins. *J Natl Cancer Inst.* 2000;92:1295-302.
28. Paredes A, Blanco C, Echenique M, Lobo C. Expresión de proteínas relacionadas con resistencia a múltiples fármacos y resistencia a la quimioterapia en el cáncer de pulmón. *Arch Bronconeumol.* 2007;43:479-84.
29. Rodrigo-Garzón M, Tirapu I, Arina A, Centelles MN, Zulueta J. Aplicación de tratamiento génico a un modelo subcutáneo de cáncer de pulmón murino. *Arch Bronconeumol.* 2006;42:526-32.
30. Seijo LM, Bastarika G, Lozano MD, Zulueta JJ. Experiencia preliminar en el uso de la navegación electromagnética para el diagnóstico de nódulos pulmonares periféricos y adenopatías mediastínicas. *Arch Bronconeumol.* 2007;43:460-3.
31. Seijo L, Campo A, Alcaide AB, Lacunza MM, Armendáriz AC, Zulueta JJ. Manejo ambulatorio del derrame pleural maligno mediante colocación de un catéter de drenaje tunelizado. Experiencia preliminar. *Arch Bronconeumol.* 2006;42:660-2.
32. Galagudza MM, Blokhin IO, Shmonin AA, Mischenko KA. Reduction of myocardial ischemia-reperfusion injury with pre- and postconditioning: molecular mechanisms and therapeutic targets. *Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets.* 2008;8:47-65.
33. Castellanos M, Sobrino T, Castillo J. Evolving paradigms for neuroprotection: molecular identification of ischemic penumbra. *Cerebrovasc Dis.* 2006;21 Suppl 2:71-9.
34. Ovechkin AV, Lominadze D, Sedoris KC, Robinson TW, Tyagi SC, Roberts AM. Lung ischemia-reperfusion injury: implications of oxidative stress and platelet-arteriolar wall interactions. *Arch Physiol Biochem.* 2007;113:1-12.
35. Thabut G, Mal H, Cerrina J, Darteville P, Dromer C, Velly JF, et al. Graft ischemic time and outcome of lung transplantation: a multicenter analysis. *Am J Respir Crit Care Med.* 2005;171:786-91.
36. Novick RJ, Bennett LE, Meyer DM, Hosenpud JD. Influence of graft ischemic time and donor age on survival after lung transplantation. *J Heart Lung Transplant.* 1999;18:425-31.
37. Santana-Rodríguez N, Martín JL, Ponce MA, López A, Ruiz JA, Torres A, et al. Valoración de la lesión de isquemia-reperusión y del rechazo agudo precoz en el trasplante pulmonar experimental con tiempo de isquemia prolongado. *Arch Bronconeumol.* 2007;43:373-7.
38. Matilla JM, García M, Sánchez M, Gayoso MJ, Heras F, Jiménez M, et al. Estudio de la expresión de interleucina-8 en el tejido pulmonar durante la isquemia-reperusión. *Arch Bronconeumol.* 2007;43:542-8.
39. Mal H, Dehoux M, Sleiman C, Boczkowski J, Lesèche G, Pariente R, et al. Early release of proinflammatory cytokines after lung transplantation. *Chest.* 1998;113:645-51.
40. Schröder JM, Mrowietz U, Christophers E. Purification and partial biologic characterization of a human lymphocyte-derived peptide with potent neutrophil-stimulating activity. *J Immunol.* 1988;140:3534-40.
41. American Thoracic Society, European Respiratory Society. American Thoracic Society/European Respiratory Society International Multidisciplinary Consensus Classification of the Idiopathic Interstitial Pneumonias. *Am J Respir Crit Care Med.* 2002;165:277-304.
42. Xaubet A, Ancochea J, Blanquer R, Montero C, Morell F, Rodríguez Becerra E, et al; Grupo de Investigación en Enfermedades Pulmonares Intersticiales Difusas. Área de Técnicas y Trasplante. SEPAR. Diagnóstico y tratamiento de las enfermedades pulmonares intersticiales difusas. *Arch Bronconeumol.* 2003;39:580-600.
43. Serrano M, Molina-Molina M, Ramírez J, Sánchez M, Xaubet A. Fibrosis pulmonar intersticial centrada en las vías aéreas asociada a la inhalación de productos de limpieza. *Arch Bronconeumol.* 2006;42:557-9.
44. Serrano-Mollar A, Nacher M, Gay-Jordi G, Closa D, Xaubet A, Bulbena O. Intratracheal transplantation of alveolar type II cells reverses bleomycin-induced lung fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med.* 2007;176:1261-8.
45. Acosta O. Marcadores séricos en la fibrosis pulmonar idiopática. Implicación pronóstica. *Arch Bronconeumol.* 2006;42:377-9.
46. Kohno N, Awaya Y, Oyama T, Yamakido M, Akiyama M, Inoue Y, et al. KL-6, a mucin-like glycoprotein, in bronchoalveolar lavage fluid from patients with interstitial lung disease. *Am Rev Respir Dis.* 1993;148:637-42.
47. Winkler MK, Fowlkes JL. Metalloproteinase and growth factor interactions: do they play a role in pulmonary fibrosis? *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2002;283:L1-L11.
48. Suga M, Iyonaga K, Ichiyasu H, Saita N, Yamasaki H, Ando M. Clinical significance of MCP-1 levels in BALF and serum in patients with interstitial lung diseases. *Eur Respir J.* 1999;14:376-82.
49. Takahashi H, Fujishima T, Koba H, Murakami S, Kurokawa K, Shibuya Y, et al. Serum surfactant proteins A and D as prognostic factors in idiopathic pulmonary fibrosis and their relationship to disease extent. *Am J Respir Crit Care Med.* 2000;162:1109-14.
50. Ohnishi H, Yokoyama A, Kondo K, Hamada H, Abe M, Nishimura K, et al. Comparative study of KL-6, surfactant protein-A, surfactant protein-D, and monocyte chemoattractant protein-1 as serum markers for interstitial lung diseases. *Am J Respir Crit Care Med.* 2002;165:378-81.
51. Nakayama M, Satoh H, Ishikawa H, Fujiwara M, Kamma H, Ohtsuka M, et al. Cytokeratin 19 fragment in patients with nonmalignant respiratory diseases. *Chest.* 2003;123:2001-6.
52. Sime PJ, Marr RA, Gauldie D, Xing Z, Hewlett BR, Graham FL, et al. Transfer of tumor necrosis factor-alpha to rat lung induces severe pulmonary inflammation and patchy interstitial fibrogenesis with induction of transforming growth factor-beta1 and myofibroblasts. *Am J Pathol.* 1998;153:825-32.
53. Xaubet A, Marín-Arguedas A, Lario S, Ancochea J, Morell F, Ruiz-Manzano J, et al. Transforming growth factor-beta1 gene polymorphisms are associated with disease progression in idiopathic pulmonary fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med.* 2003;168:431-5.
54. Yong SJ, Adlakha A, Limper AH. Circulating transforming growth factor-beta(1): a potential marker of disease activity during idiopathic pulmonary fibrosis. *Chest.* 2001;120 1 Suppl:68-70.
55. Molina-Molina M, Lario S, Luburich P, Ramírez J, Carrión MT, Xaubet A. Determinación en plasma del factor transformador del crecimiento #b1 en la fibrosis pulmonar idiopática. *Arch Bronconeumol.* 2006;42:380-3.
56. Molina-Molina M, Pereda J, Xaubet A. Modelos experimentales para el estudio de la fibrosis pulmonar: utilidad práctica actual y futura. *Arch Bronconeumol.* 2007;43:501-7.
57. Phan SH, Thrall RS, Ward PA. Bleomycin-induced pulmonary fibrosis in rats: biochemical demonstration of increased rate of collagen synthesis. *Am Rev Respir Dis.* 1980;121:501-6.
58. Chua F, Gauldie J, Laurent GJ. Pulmonary fibrosis: searching for model answers. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2005;33:9-13.
59. Antonini JM, Starks K, Roberts JR, Millecchia L, Yang HM, Rao KM. Changes in F-actin organization induced by hard metal particle exposure in rat pulmonary epithelial cells using laser scanning confocal microscopy. *In Vitro Mol Toxicol.* 2000;13:5-16.
60. Li X, Zhang H, Soledad-Conrad V, Zhuang J, Uhal BD. Bleomycin-induced apoptosis of alveolar epithelial cells requires angiotensin synthesis de novo. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2003;284:L501-L7.
61. Molina-Molina M, Serrano-Mollar A, Bulbena O, Fernández-Zabalegui L, Closa D, Marín-Arguedas A, et al. Losartan attenuates bleomycin induced lung fibrosis by increasing prostaglandin E2 synthesis. *Thorax.* 2006;61:604-10.
62. Haston CK, Wang M, Dejournett RE, Zhou X, Ni D, Gu X, et al. Bleomycin hydrolase and a genetic locus within the MHC affect risk for pulmonary fibrosis in mice. *Hum Mol Genet.* 2002;11:1855-63.
63. Card JW, Racz WJ, Brien JF, Margolin SB, Massey TE. Differential effects of pirfenidone on acute pulmonary injury and ensuing fibrosis in the hamster model of amiodarone-induced pulmonary toxicity. *Toxicol Sci.* 2003;75:169-80.
64. Coin PG, Osornio-Vargas AR, Roggli VL, Brody AR. Pulmonary fibrogenesis after three consecutive inhalation exposures to chrysotile asbestos. *Am J Respir Crit Care Med.* 1996;154:1511-9.

65. Arras M, Louahed J, Simoen V, Barbarin V, Misson P, Van den Brûle S, et al. B lymphocytes are critical for lung fibrosis control and prostaglandin E₂ regulation in IL-9 transgenic mice. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2006;34:573-80.
66. Portnoy J, Pan T, Dinarello CA, Shannon JM, Westcott JY, Zhang L, et al. Alveolar type II cells inhibit fibroblast proliferation: role of IL-1-alpha. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2006;290: L307-L16.
67. Gea J, Barreiro E. Actualización en los mecanismos de disfunción muscular en la EPOC. *Arch Bronconeumol.* 2008;44:328-37.
68. Kontogianni K, Messini-Nikolaki N, Christou K, Gourgoulianis K, Tsilimigaki S, Piperakis SM. DNA damage and repair capacity in lymphocytes from obstructive sleep apnea patients. *Environ Mol Mutagen.* 2007;48:722-7.
69. Hernández C, Abreu J, Abreu P, Colino R, Jiménez A. Efectos del tratamiento con CPAP nasal en el estrés oxidativo en pacientes con síndrome de apnea del sueño. *Arch Bronconeumol.* 2006;42: 125-9.
70. Christou K, Moulas AN, Pastaka C, Gourgoulianis KI. Antioxidant capacity in obstructive sleep apnea patients. *Sleep Med.* 2003;4:225-8.
71. Christou K, Kostikas K, Pastaka C, Tanou K, Antoniadou I, Gourgoulianis KI. Nasal continuous positive airway pressure treatment reduces systemic oxidative stress in patients with severe obstructive sleep apnea syndrome. *Sleep Med.* Available online 20 February 2008.
72. Barreiro E, Nowinski A, Gea J, Sliwinski P. Oxidative stress in the external intercostal muscles of patients with obstructive sleep apnoea. *Thorax.* 2007;62:1095-101.
73. World Health Organization. Global tuberculosis control: surveillance, planning, financing. Ginebra: WHO Report; 2004.
74. Cardona PJ, Amat I. Origen y desarrollo de RUTI, una nueva vacuna terapéutica contra la infección por *Mycobacterium tuberculosis*. *Arch Bronconeumol.* 2006;42:25-32.
75. Cardona PJ, Julián E, Vallès X, Gordillo S, Muñoz M, Luquin M, et al. Production of antibodies against glycolipids from the *Mycobacterium tuberculosis* cell wall in aerosol murine models of tuberculosis. *Scand J Immunol.* 2002;55:639-45.
76. Cardona PJ. Vacunas terapéuticas contra la tuberculosis: un futuro brillante. *Arch Bronconeumol.* 2007;43:591-3.
77. Cardona PJ, Amat I, Gordillo S, Arcos V, Guirado E, Díaz J, et al. Immunotherapy with fragmented *Mycobacterium tuberculosis* cells increases the effectiveness of chemotherapy against a chronic infection in a murine model of tuberculosis. *Vaccine.* 2005; 23:1393-8.
78. Molinos L. Detección de antígenos en orina. *Arch Bronconeumol.* 2006;42:101-3.
79. Marcos MA, Jiménez de Anta MT, De la Bellacasa JP, González J, Martínez E, García E, et al. Rapid urinary antigen test for diagnosis of pneumococcal community-acquired pneumonia in adults. *Eur Respir J.* 2003;21:209-14.
80. Guerrero C, Toldos CM, Yagüe G, Ramírez C, Rodríguez T, Segovia M. Comparison of diagnostic sensitivities of three assays (Bartels enzyme immunoassay [EIA], Biotest EIA, and Binax NOW immunochromatographic test) for detection of *Legionella pneumophila* serogroup 1 antigen in urine. *J Clin Microbiol.* 2004; 42:467-8.
81. Domínguez J, Galí N, Matas L, Pedrosa P, Hernández A, Padilla E, et al. Evaluation of a rapid immunochromatographic assay for the detection of *Legionella* antigen in urine samples. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 1999;18:896-8.
82. Romero PV, Rodríguez B, Martínez S, Cañizares R, Sepúlveda D, Manresa F. Estrés oxidativo en el condensado exhalado de pacientes con infección pulmonar grave. *Arch Bronconeumol.* 2006; 42: 113-9.