

Título: BIOMARCADORES EN LAS ENFERMEDADES PULMONARES INTERSTICIALES DIFUSAS

Autor: E. Cabrera César.

Palabras clave: enfermedad pulmonar intersticial difusa, biomarcadores, antioxidantes, MMP-7, fibrosis pulmonar idiopática, AGE.

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades pulmonares intersticiales difusas (EPID) constituyen un grupo heterogéneo de más de 300 enfermedades con manifestaciones clínicas, radiológicas y pruebas funcionales respiratorias similares¹⁻³, caracterizadas por la inflamación y la fibrosis a nivel pulmonar, con una alteración anatomopatológica común que afecta a las estructuras alveolo intersticiales. El término EPID no describe en realidad el sustrato anatomopatológico de dichas entidades clínicas, puesto que éstas afectan también, en muchas ocasiones, las pequeñas vías respiratorias, así como la vasculatura pulmonar⁴. Las EPID representan un 15% de la patología pulmonar.

El consenso de la ATS/ERS⁵ para las EPID ha sido una herramienta que ha ayudado a clasificar con mayor precisión este tipo de patologías. Sin embargo, entre los desafíos que plantea el manejo de las EPID se incluye la superposición sustancial de las características clínicas, radiológicas e histológicas entre las diferentes entidades, la amplia variabilidad del curso clínico y las limitadas opciones terapéuticas^{6,7}.

Los datos clínicos, radiológicos, en concreto los obtenidos por tomografía computarizada de alta resolución (TACAR) y la histológica, son necesarios para alcanzar un diagnóstico definitivo, establecido por un equipo multidisciplinar compuesto por radiólogos, anatomopatólogos y neumólogos expertos en EPID. En al menos un 10% de los casos, a pesar de disponer de una biopsia pulmonar y un equipo multidisciplinar experimentado la enfermedad es inclasificable, con características superpuestas de diferentes tipos de EPID. Esto es particularmente relevante ahora que existen tratamientos específicos para los pacientes con fibrosis pulmonar idiopática (FPI)⁸, por lo que se plantean a menudo conflictos en el manejo de las EPID, con problemas diagnósticos y dilemas terapéuticos⁵.

La identificación de biomarcadores en suero que tengan valor diagnóstico y pronóstico en las EPID es de gran importancia, particularmente en los casos en que no se puede realizar una

biopsia pulmonar quirúrgica o este contraindicada y las imágenes de TACAR no sean totalmente concluyentes para la filiación de la enfermedad⁶⁻⁸.

En las últimas décadas, coincidiendo con el mayor conocimiento de la patogenia de la enfermedad y el desarrollo de nuevos fármacos se han examinado una gran variedad de biomarcadores^{9, 10}, analizándose moléculas en el tejido pulmonar, en el lavado broncoalveolar (BAL) y en sangre periférica como potenciales biomarcadores. Entre las moléculas más estudiadas se incluyen las implicadas en la formación y remodelación de la matriz, en el metabolismo del epitelio alveolar y en procesos inmunológicos⁹, marcadores genéticos como las telomerasas o la mucina 5B, biomarcadores del daño epitelial como la proteína KL6, las proteínas del surfactante A y D, entre otros marcadores como la periostina y la osteopontina, sin que se hayan podido incluir, actualmente, en la práctica clínica habitual de los pacientes con EPID.

Dado la multitud de biomarcadores en los que se está trabajando en este momento, el objetivo de este trabajo es hacer una revisión sólo sobre algunos de ellos: los productos séricos resultantes del impacto de las especies reactivas de oxígeno (AGEs y AOPP) junto con productos antioxidantes (SOD) y las metaloproteinasas.

AGEs

Los productos finales de la glicación avanzada(AGEs) comprenden un grupo heterogéneo que se forman por una combinación de glicación, oxidación y/o carbonilación¹⁴. La formación de AGEs se acumula en los tejidos de forma fisiológica con el envejecimiento, pero, además, tiende a aumentar en situaciones de estrés oxidativo y en enfermedades inflamatorias.

Los AGEs se han visto relacionados con diferentes patologías¹⁵⁻¹⁷ incluyendo su implicación a nivel pulmonar^{18, 19} ya que inducen la acumulación excesiva de la matriz extracelular y la expresión de citoquinas profibróticas tales como el TGF- β ²⁰. Se ha podido demostrar una acumulación de AGE en modelos murinos de fibrosis pulmonar inducidos por Bleomicina²¹.

Los AGEs causan daño tisular local al afectar a la estructura de las proteínas, mediante la formación de enlaces cruzados entre las moléculas o mediante la unión del receptor para el AGE (RAGE).

La unión AGE-RAGE desencadena respuestas inflamatorias, induce el estrés oxidativo y a su vez provoca la sobreexpresión del RAGE, esto puede, finalmente, conducir a un aumento de la

remodelación tisular²². RAGE se encuentra normalmente a niveles bajos en la mayoría de los tejidos de los adultos sanos, sin embargo, el tejido pulmonar muestra un nivel relativamente alto²³, expresándose en las células alveolares tipo I²⁴.

La unión RAGE y AGE ha demostrado iniciar la señalización celular proinflamatoria, la expresión de moléculas de adhesión celular, citoquinas, y la activación de diversos factores de transcripción²⁵. Además activan al factor de transcripción nuclear κ B que participa en la regulación de más de cien genes relacionados con la proliferación celular o la apoptosis²⁶. El papel de la activación del RAGE por el AGEs actualmente sujeto de investigación en múltiples patologías y estrategias farmacológicas. Se ha implicado en la patología pulmonar como en la enfermedad pulmonar obstructiva crónica, el síndrome de distrés respiratorio, el cáncer de pulmón^{27, 28} y la fibrosis pulmonar¹⁹.

Kyung et al.¹⁹ investigaron la expresión de AGEs y RAGE en una muestras de diez pacientes con FPI y diez pacientes con neumonía intersticial no específica (NINE) comparándolos con diez sujetos sanos y encontraron mediante inmunofluorescencia que los pacientes con FPI tenían a nivel pulmonar una fuerte expresión para ambos AGEs y RAGE en comparación con el resto de pacientes, al igual que sucedía con los niveles séricos de AGE, que también se encontraron significativamente aumentados en los pulmones de pacientes con FPI. Concluyendo que la interacción AGE-RAGE puede jugar un papel importante en la patogenia de la FPI.

Un trabajo más reciente de Machahua et al.²⁹ encontró datos similares en biopsias pulmonares de 16 pacientes con FPI y 9 sanos. Evaluaron los AGEs y la expresión de RAGE entre ambos grupos mediante RT-PCR, inmunotransferencia de tipo Western e inmunohistoquímica, mostrando un aumento de AGEs junto con una disminución de RAGE en pulmones con FPI, sugiriendo una aumentada proporción de AGEs-RAGE en pacientes con FPI.

Todos estos trabajos demuestran el papel del AGE y su receptor en la patogenia de la enfermedad y los posiciona como un posible biomarcador, necesitando más estudios con una muestra mayor, para valorarlos como marcadores diagnósticos y pronósticos de la enfermedad.

METALOPROTEASA 7

La importancia de las metaloproteinasas (MMP) en la fibrosis pulmonar surgió al publicarse trabajos que relacionaban la MMP-7 con la fibrosis en modelos animales y se vio que además estaba sobreexpresada en pulmones con FPI³⁰. Actualmente existe abundante evidencia que

confirma que el desequilibrio entre las metaloproteinasas contribuye a la patogenia de la fibrosis pulmonar.

La degradación de la matriz extracelular (MEC) y la remodelación está regulada por la actividad de enzimas metaloproteinasas de la matriz (MMP) y su inhibidor tisular homólogos (TIMP). Las MMPs son proteinasas que degradan la matriz, una familia relacionada estructural y funcionalmente con las proteasas dependientes del zinc implicadas en la degradación de los componentes de la MEC³¹.

Dentro de las MMPs, la MMP7 es el miembro más pequeño, capaz de degradar múltiples componente de la matriz extracelular. Se describe como una de las más firmemente relacionadas con la patogenia de la fibrosis pulmonar. Existen numerosos datos en modelos experimentales y humanos para apoyar que MMP7 juega un papel crítico en el desarrollo de fibrosis³².

MMP-7 puede promover una respuesta fibrótica a través de sus efectos reguladores sobre la reparación del epitelio y a través de la regulación de la liberación del TGF- β . El TGF- β a su vez podría promover el crecimiento de fibroblastos y su supervivencia. Por lo tanto, el papel de MMP-7 en la fibrosis pulmonar es probablemente pleiotrópico, debido a sus diversas funciones biológicas, estando implicado en la apoptosis, la inflamación, la fibroproliferación y la inmunidad innata. Se defiende que la MMP-7 puede ser utilizada como un potencial biomarcador.

Los niveles en el lavado broncoalveolar de MMP-7 en pacientes con FPI son más altos en comparación con los controles sanos, lo que sugiere que los niveles del BAL se pueden correlacionar con la actividad en el pulmón. Sin embargo, MMP-7 no parece ser específico para FPI, ya que su expresión en el BAL y en el tejido pulmonar no han sido significativamente diferentes en pacientes con FPI de otras enfermedades pulmonares intersticiales³² así el aumento de la expresión de MMP-7 no es específico de la FPI³².

En el estudio de Rosas y colaboradores se compararon los niveles sanguíneos de un panel de proteínas en pacientes con FPI³³. Documentaron un aumento en MMP7 y MMP1 y que los niveles de MMP7 se correlacionaron negativamente con la capacidad vital forzada (FVC) y la difusión de monóxido de carbono (DLCO).

En otros estudios realizados en pacientes con EPID se han propuesto a las MMP-7 y a las proteínas del surfactantes A (SP-A) como predictores significativos de la supervivencia junto

con la edad, FVC y anomalías en la TACAR³⁴. En 2015 Morais³⁵ presentó a MMP-7 como un posible biomarcador diagnóstico, encontrando la MMP-7 incrementada en FPI.

Estudios recientes demuestran que los niveles séricos de MMP-7 más altos se asocian con una FVC más baja, una mayor prevalencia de disnea y anomalías pulmonares intersticiales con una mayor tasa de mortalidad por todas las causas³⁶.

En general, todos estos trabajos apoyan la hipótesis de que los niveles séricos de MMP-7 son un biomarcador útil de la remodelación de la MEC en el pulmón, un precursor de la fibrosis pulmonar. La medición de los niveles séricos de MMP-7 puede ayudar potencialmente en el diagnóstico de las EPID y servir como un marcador de la respuesta terapéutica.

SUPERÓXIDO DISMUTASA

La superóxido dismutasa (SOD) es una enzima antioxidante que juega un papel protector en las células ante la desproporcionada cantidad de radicales libres³⁷.

En los mamíferos, hay tres isoformas de superóxido dismutasa que constituyen la principal defensa antioxidante enzimática contra la superoxidación. La isoforma extracelular (EC-SOD o SOD3), se expresa a altos niveles en el pulmón en comparación con otros tejidos^{38, 39}. Es expresada por las células epiteliales bronquiales, las células del endotelio vascular, células alveolares tipo II y los macrófagos alveolares⁴⁰.

La EC-SOD ha sido considerada como una de las más importantes enzimas antioxidantes del pulmón, implicada en un gran número de enfermedades pulmonares, donde modula la lesión oxidante, la inflamación y la fibrosis⁴⁰. Así la EC-SOD ejerce sus propiedades antifibróticas, en parte mediante la prevención de la degradación oxidativa de la MEC e impidiendo la liberación de productos de degradación de la MEC que pueden aumentar fibrosis por los efectos sobre el epitelio pulmonar, mesenquimal y sobre las células inflamatorias⁴¹.

Su capacidad de unirse directamente a varios componentes en la matriz extracelular le permite existir en altas concentraciones. Un mecanismo por el que se conoce que la EC-SOD ejerce su efecto protector en el pulmón es mediante la unión directa y la prevención de la fragmentación oxidativa⁴² del colágeno tipo I, del tipo IV, el hialurónico, y los proteoglicanos del heparán sulfato⁴³ (Tabla 1). Por lo tanto, la pérdida de EC-SOD de la matriz puede resultar en un aumento de la fragmentación oxidativa de sus componentes, la amplificación de la inflamación y la fibrosis.

EC-SOD contiene un dominio de unión heparán sulfato y heparina. Este dominio está formado por un grupo de residuos de arginina y lisina cargados positivamente que le confiere afinidad por la MEC. La unión de su dominio al heparán sulfato de la matriz es sensible a la proteólisis, por lo que las proteasas en una matriz alterada pueden actuar para liberar EC-SOD. La proteólisis del dominio de unión al heparán sulfato de EC-SOD se ha observado en los pacientes con enfermedad pulmonar dando como resultado el agotamiento de EC-SOD del parénquima pulmonar y la acumulación de EC-SOD proteolizada en el BAL de los sujetos enfermos⁴⁴.

Existen proteoglicanos del heparán sulfato, como el sindaceno-1, en las superficies celulares, que son el principal sustrato de la metaloproteinasade la matriz 7 (MMP-7). La escisión del sindecano-1 de las superficies celulares deja a ésta libre, contribuyendo a la inflamación pulmonar. Además, se ha comprobado el papel de los sindecanos en la fibrosis de ratones knockout para EC-SOD. En estos ratones se ha demostrado una acumulación de sindecanos en el fluido de revestimiento alveolar después de la fibrosis pulmonar inducida por Bleomicina, de este modo, la inhibición de la fragmentación oxidativa de los sindecanos puede ser todavía otro mecanismo en el que EC-SOD inhibe la fibrosis en el pulmón⁴⁰.

Por ultimo, en su función antioxidante y antifibrotica, la EC-SOD puede prevenir el daño pulmonar disminuyendo la activación de la MEC, a través de la activación de mecanismos protectores antioxidantes⁴⁰.

Mecanismos fibroprotectores de la SOD:
<ul style="list-style-type: none">-Reduce radicales de superóxido.- Mediante la unión directa a los proteoglicanos del heparán sulfato que le permiten unirse a la matriz y a las superficies celulares en los tejidos- Inhibe la fragmentación oxidativa del Syndecan-1.- Protege significativamente de la fragmentación oxidativa del colágeno tipo I y el colágeno de tipo IV.

Tabla 1. Mecanismos fibroprotectores de la SOD.

Se conoce que en los enfermos afectados de FPI se produce un agotamiento de EC-SOD del parénquima pulmonar, provocando una acumulación de EC-SOD proteolizada en el BAL⁴⁴.

En otros trabajos se ha puesto de manifiesto que la EC-SOD se encuentra a altos niveles en la matriz extracelular de los alvéolos pulmonares debido a su dominio de unión a la heparina. Esta

unión es especialmente sensible a la proteólisis, resultando en un aclaramiento de EC-SOD en la matriz. En animales de experimentación donde se ha provocado la fibrosis se ha observado la disminución de la proteína y la actividad de EC-SOD en el parénquima pulmonar, mientras que los niveles de EC-SOD estaban elevados en el BAL. La EC-SOD en el BAL fue predominantemente en la forma proteolizada, la cual carece del dominio de unión a heparina. Estos datos sugieren que ante una agresión pulmonar, las reacciones de estrés oxidativo, provocan una mayor proteólisis y el aclaramiento del EC-SOD del parénquima pulmonar a la vía aérea, así el agotamiento de EC-SOD de la matriz extracelular puede aumentar la susceptibilidad de los pulmones al estrés oxidativo⁴⁴.

Recientemente, en el 2016, Westergren-Thorsson⁴⁵ mostraron como en pacientes con FPI la cantidad y la estructura de los glicosaminoglicanos se alteran. Así el glucosaminoglucano heparan sulfato altera su composición con una proporción aumentada de disacáridos 2-O, 6-O, creando un paisaje de MEC profibrótico⁴⁵.

Queda demostrado el papel de la EC-SOD en las enfermedades intersticiales, sugiriendo que la determinación de niveles de EC-SOD podría ser otro biomarcador de utilidad a la vez que posible diana terapéutica, para lo cual aún son necesarios más trabajos.

AOPP

El estrés oxidativo induce alteraciones en la conformación o estructura de las proteínas siendo capaz de inducir la disfunción proteica o la inhibición de su degradación⁴⁶. Los productos de la oxidación avanzada de las proteínas (AOPPs) son sustancias originadas a partir de la oxidación proteica que se generan como resultado de las reacciones de oxidación. Ya que los AOPP suprimen la proliferación celular por la activación del factor de transcripción nuclear κ B e inducen muerte celular. Los AOPPs puede desencadenar reacciones oxidativas de los neutrófilos, monocitos y células fagocíticas, aumentar la generación de especies reactivas del oxígeno y promover la secreción de citocinas para acelerar la lesión de las células endoteliales.

Los niveles sistémicos de AOPPs se incrementan en numerosas enfermedades inflamatorias crónicas, con incremento del estrés oxidativo⁴⁷ por lo que se usan como biomarcadores de estrés oxidativo en el desarrollo y la progresión de numerosas enfermedades. Entre estas patologías se incluyen el síndrome metabólico, la obesidad, enfermedades inflamatorias, enfermedades neurodegenerativas y el cáncer⁴⁸.

La detección de sus niveles y la inhibición de la formación de AOPPs puede proporcionar un enfoque novedoso para controlar el progreso y mejorar el pronóstico de diferentes enfermedades⁴⁹. En el pulmón se han encontrado niveles séricos elevados de AOPP en diversas entidades patológicas incluyendo la fibrosis pulmonar⁵⁰⁻⁵² reflejando su relación con la fibrosis pulmonar y el estrés oxidativo.

Aunque existen menos datos en la literatura sobre los niveles de AOPP en EPID, se han encontrado niveles séricos aumentados de AOPP en pacientes con esclerosis sistémica con alteración pulmonar. Se apreció un incremento marcado de AOPP en pacientes con afectación pulmonar mayor que en aquellos sin afectación pulmonar⁵². Igualmente, y en pacientes afectados de poliangeítis microscópica con compromiso pulmonar se observó un incremento de AOPP, e igualmente se relaciono con el estrés oxidativo observándose una relación entre los niveles de AOPP, la producción de HOCl y la proliferación de fibroblastos, además esto solo ocurría en los pacientes con compromiso pulmonar.

Existen trabajos que hacen referencia a los niveles incrementados de AOPP en animales de experimentación en los que se les indujo una fibrosis pulmonar después de exponerlos a ROS (HOCl o OH·). En este caso se propone que el incremento de AOPP se debe al incremento de ROS, ya que sus niveles fueron más altos que los observados en la fibrosis pulmonar inducida por Bleomicina⁵².

Igualmente, y en modelos murinos de FPI producida por Bleomicina se ha comprobado un incremento sérico de AOPP. En este mismo modelo al administrar Leflunomida, un agente inmunomodulador antiproliferativo usado en el tratamiento de la artritis reumatoide (AR), se observo un descenso marcado de los niveles de AOPP, similares a los animales controles⁵³.

Es por tanto un posible biomarcador de las enfermedades intersticiales del que aún quedan múltiples trabajos que lo avalen.

CONCLUSIONES

Como conclusión, debe señalarse que existen múltiples marcadores séricos que están mostrando su utilidad en la identificación de la patogenia, el diagnóstico, incluso el curso clínico de la enfermedad. Sin embargo, a pesar de estos avances aún no se usan en la practica clínica, ya que se necesitan más estudios con muestras de pacientes más amplias. Dado la multitud de ensayos

clínicos en curso, probablemente dispongamos pronto dispongamos de esos marcadores que nos ayuden en la manejo de esta compleja enfermedad.

BIBLIOGRAFÍA

1. Deconinck B, Verschakelen J, Coolen J et al. Diagnostic workup for diffuse parenchymal lung disease: schematic flowchart, literature review, and pitfalls. *Lung*. 2013; 191(1): 19-25.
2. Antin-Ozerkis D. Interstitial Lung Disease: A Clinical Overview and General Approach. In: Grippi MA, Elias JA, Fishman JA et al., editores. *Fishman's Pulmonary Diseases and Disorders*. 5° ed. Nueva York: McGraw-Hill Education; 2015; 9-25.
3. Ryu JH, Daniels CE, Hartman TE et al. Diagnosis of interstitial lung diseases. *Mayo Clin Proc*. 2007 Aug; 82(8): 976-986.
4. Du Bois RM, Richeldi L. Introduction. In: Du Bois RM, Richeldi L.,editores. *European Respiratory Monograph 46: Interstitial Lung Diseases*. 1° ed. Plymouth: European Respiratory Society; 2009; 9-10.
5. Raghu G, Collard HR, Egan JJ et al. An Official ATS/ERS/JRS/ALAT Statement: Idiopathic Pulmonary Fibrosis: Evidence-based Guidelines for Diagnosis and Management. *Am J Respir Crit Care Med*. 2011; 183(6): 788–824.
6. de Lauretis A, Veeraraghavan S, Renzoni EA. Connective tissue disease-associated interstitial lung disease: How does it differ from IPF? How should the clinical approach differ? *Chron Respir Dis*. 2011; 8(1): 53-82.
7. De Lauretis A, Renzoni EA. Molecular biomarkers in interstitial lung diseases. *Mol Diagn Ther*. 2014; 18(5): 505–522.
8. White ES, Xia M, Murray S et al. Plasma Surfactant Protein-D, Matrix Metalloproteinase-7, and Osteopontin Index Distinguishes Idiopathic Pulmonary Fibrosis from Other Idiopathic Interstitial Pneumonias. *Am J Respir Crit Care Med*. 2016; 194(10): 1242–1251.
9. Nathan N, Corvol H, Amselem S et al. Biomarkers in Interstitial lung diseases. *Paediatr Respir Rev*. 2015; 16(4): 219–224.
10. Hamai K, Iwamoto H, Ishikawa N et al. Comparative Study of Circulating MMP-7, CCL18, KL-6, SP-A, and SP-D as Disease Markers of Idiopathic Pulmonary Fibrosis. *Dis Markers*. 2016; 2016: 4759040.
11. De Lauretis A, Renzoni EA. Molecular biomarkers in interstitial lung diseases. *Mol Diagn Ther*. 2014; 18(5):505–522.
12. Blackwell TS, Tager AM, Borok Z M et al. Future Directions in Idiopathic Pulmonary Fibrosis Research. *Am J Respir Crit Care Med*. 2014; 189(2): 214–222.
13. Herazo-Maya JD, Noth I, Duncan SR et al. Peripheral blood mononuclear cell gene expression profiles predict poor outcome in idiopathic pulmonary fibrosis. *Sci Transl Med*. 2013; 5(205): 205.

14. Singh VP, Bali A, Singh N et al. Advanced glycation end products and diabetic complications. *Korean J Physiol Pharmacol*. 2014; 18(1): 1-4.
15. Stitt AW. Advanced glycation: an important pathological event in diabetic and age related ocular disease. *Br J Ophthalmol*. 2001; 85(6): 746–753.
16. Tan KCB, Chow W-S, Lam JCM et al. Advanced glycation endproducts in nondiabetic patients with obstructive sleep apnea. *Sleep*. 2006; 29(3): 329–333.
17. Smit PJ, Guo WA, Davidson BA. Dietary advanced glycation end-products, its pulmonary receptor, and high mobility group box 1 in aspiration lung injury. *J Surg Res*. 2014; 191(1): 214–223.
18. Matsuse T, Ohga E, Teramoto S et al. Immunohistochemical localisation of advanced glycation end products in pulmonary fibrosis. *J Clin Pathol*. 1998; 51(7): 515–519.
19. Kyung SY, Byun KH, Yoon JY et al. Advanced glycation end-products and receptor for advanced glycation end-products expression in patients with idiopathic pulmonary fibrosis and NSIP. *Int J Clin Exp Pathol*. 2014; 7(1): 221–228.
20. Giardino I, Edelstein D, Brownlee M. Nonenzymatic glycosylation in vitro and in bovine endothelial cells alters basic fibroblast growth factor activity. A model for intracellular glycosylation in diabetes. *J Clin Invest*. 1994; 94(1): 110–117.
21. Chen L, Wang T, Wang X et al. Blockade of advanced glycation end product formation attenuates bleomycin-induced pulmonary fibrosis in rats. *Respir Res*. 2009; 10(1): 122–128.
22. Bierhaus A, Humpert PM, Morcos M et al. Understanding RAGE, the receptor for advanced glycation end products. *J Mol Med*. 2005; 83(11): 876–886.
23. Mukherjee TK, Mukhopadhyay S, Hoidal JR. Implication of receptor for advanced glycation end product (RAGE) in pulmonary health and pathophysiology. *Respir Physiol Neurobiol*. 2008; 162(3): 210–215.
24. Demling N, Ehrhardt C, Kasper M. Promotion of cell adherence and spreading: a novel function of RAGE, the highly selective differentiation marker of human alveolar epithelial type I cells. *Cell Tissue Res*. 2006; 323(3): 475–488.
25. Vetter SW. Glycated Serum Albumin and AGE Receptors. *Adv Clin Chem*. 2015; 72: 205-275.
26. Hou J, Zheng D, Fung G et al. Mangiferin suppressed advanced glycation end products (AGEs) through NF- κ B deactivation and displayed anti-inflammatory effects in streptozotocin and high fat diet-diabetic cardiomyopathy rats. *Can J Physiol Pharmacol*. 2016; 94(3): 332–340.
27. Uchida T, Shirasawa M, Ware LB et al. Receptor for Advanced Glycation End-Products Is a Marker of Type I Cell Injury in Acute Lung Injury. *Am J Respir Crit Care Med*. 2006; 173(9): 1008–1015.
28. Yonchuk JG, Silverman EK, Bowler RP et al. Circulating soluble receptor for advanced glycation end products (sRAGE) as a biomarker of emphysema and the RAGE axis in the lung. *Am J Respir Crit Care Med*. 2015; 192(7): 785–792.
29. Machahua C, Montes-Worboys A, Llatjos R et al. Increased AGE-RAGE ratio in

- idiopathic pulmonary fibrosis. *Respir Res.* 2016; 17(1): 144.
30. Zuo F, Kaminski N, Eugui E et al. Gene expression analysis reveals matrilysin as a key regulator of pulmonary fibrosis in mice and humans. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2002; 99(9): 6292–6297.
 31. Oikonomidi S, Kostikas K, Tsilioni I et al. Matrix metalloproteinases in respiratory diseases: from pathogenesis to potential clinical implications. *Curr Med Chem.* 2009; 16(10): 1214–1228.
 32. Huh JW, Kim DS, Oh Y-M et al. Is Metalloproteinase-7 Specific for Idiopathic Pulmonary Fibrosis? *Chest.* 2008; 133(5): 1101–1106.
 33. Rosas IO, Richards TJ, Konishi K et al. MMP1 and MMP7 as potential peripheral blood biomarkers in idiopathic pulmonary fibrosis. *PLoS Med.* 2008; 5(4): 93.
 34. Guilpain P, Chéreau C, Goulvestre C et al. The oxidation induced by antimyeloperoxidase antibodies triggers fibrosis in microscopic polyangiitis. *Eur Respir J.* 2011; 37(6): 1503-1513.
 35. Morais A, Beltrão M, Sokhatska O et al. Serum metalloproteinases 1 and 7 in the diagnosis of idiopathic pulmonary fibrosis and other interstitial pneumonias. *Respir Med.* 2015; 109(8): 1063-1068.
 36. Armstrong HF, Podolanczuk AJ, Barr RG et al. Serum Matrix Metalloproteinase-7, Respiratory Symptoms, and Mortality in Community-dwelling Adults: The Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *American journal of respiratory and critical care medicine.* 2017 Jun 1.
 37. Rahman T, Hosen I, Islam MMT et al. Oxidative stress and human health. *ABB.* 2012; 03(07): 997–1019.
 38. Ookawara T, Imazeki N, Matsubara O et al. Tissue distribution of immunoreactive mouse extracellular superoxide dismutase. *Am J Physiol.* 1998; 275(3): 840–847.
 39. Folz RJ, Guan J, Seldin MF et al. Mouse extracellular superoxide dismutase: primary structure, tissue-specific gene expression, chromosomal localization, and lung in situ hybridization. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 1997; 17(4): 393–403.
 40. Gao F, Kinnula VL, Myllärniemi M, Oury TD. Extracellular superoxide dismutase in pulmonary fibrosis. *Antioxid Redox Signal.* 2008; 10(2): 343-354.
 41. Kliment CR, Oury TD. Oxidative stress, extracellular matrix targets, and idiopathic pulmonary fibrosis. *Free Radic Biol Med.* 2010; 49(5): 707–717.
 42. Petersen SV, Oury TD, Ostergaard L et al. Extracellular superoxide dismutase (EC-SOD) binds to type I collagen and protects against oxidative fragmentation. *J Biol Chem.* 2004; 279(14): 13705–13710.
 43. Fattman CL, Chang L-Y, Termin TA et al. Enhanced bleomycin-induced pulmonary damage in mice lacking extracellular superoxide dismutase. *Free Radic Biol Med.* 2003; 35(7): 763–771.
 44. Tan RJ. Redistribution of pulmonary EC-SOD after exposure to asbestos. *J Appl Physiol.* 2004; 97(5): 2006–2013.

45. Westergren-Thorsson G, Hedström U, Nybom A et al. Increased deposition of Glycosaminoglycans and altered structure of Heparan Sulfate in Idiopathic Pulmonary Fibrosis. *Int J Biochem Cell Biol.* 2016; 83: 27-38.
46. Chow C-W, Herrera Abreu MT, Suzuki T et al. Oxidative Stress and Acute Lung Injury. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2003; 29(4): 427–431.
47. Ye W, Zhong Z, Zhu S et al. Advanced oxidation protein products induce catabolic effect through oxidant-dependent activation of NF- κ B pathway in human chondrocyte. *Int Immunopharmacol.* 2016 ; 39: 149–157.
48. Cao W, Hou FF, Nie J. AOPPs and the progression of kidney disease. *Kidney Int.* 2014; 4(1): 102–106.
49. Cristani M, Speciale A, Saija A et al. Circulating advanced oxidation protein products as oxidative stress biomarkers and progression mediators in pathological conditions related to inflammation and immune dysregulation. *Curr Med Chem.* 2016; 23(34): 3862-3882.
50. Du S, Ai J, Zeng X, Wan J et al. Plasma level of advanced oxidation protein products as a novel biomarker of acute lung injury following cardiac surgery. *Springerplus.* 2016; 5:231.
51. Korkmaz GG, Inal BB, Ortakoylu GM et al. Changes in oxidative stress parameters and antioxidant status in lung cancer: Western blot analysis of nitrotyrosine and protein carbonyls content. *Clin Lab.* 2014; 60(4): 599–607.
52. Servettaz A, Goulvestre C, Kavian N et al. Selective oxidation of DNA topoisomerase 1 induces systemic sclerosis in the mouse. *J Immunol.* 2009; 182(9): 5855–5864.
53. Kayhan S, Guzel A, Duran L et al. Effects of leflunomide on inflammation and fibrosis in bleomycine induced pulmonary fibrosis in wistar albino rats. *J Thorac Dis.* 2013; 5(5): 641–649.