



U. N. A. M.
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES CUAUTITLÁN



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO Departamento de
Exámenes Profesionales

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

“FACTOR DE NECROSIS TUMORAL- α (TNF- α) EN LA
INSUFICIENCIA CARDIACA”

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA

P R E S E N T A :

GUADALUPE OLGA SORIANO LÓPEZ

ASESORA:

M. EN C. LUISA MARTÍNEZ AGUILAR

CUAUTITLÁN IZCALLI, EDO. DE MÉX. 2004



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



ESTADOS UNIDOS MEXICANOS

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

U. N. A. M.
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES CUAUTITLAN



Departamento de
Exámenes Profesionales

DR. JUAN ANTONIO MONTARAZ CRESPO
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN
PRESENTE

ATN: Q. Ma. del Carmen García Mijares
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la FES Cuautitlán

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS:

"Factor de Necrosis Tumoral -alfa (TNF-alfa) en la
Insuficiencia Cardiaca".

que presenta la pasante: Guadalupe Olga Soriano López
con número de cuenta: 09303454-2 para obtener el título de :
Química Farmacéutica Bióloga

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 25 de Agosto de 2003.

PRESIDENTE M. en C. Luisa Martínez Aguilar
VOCAL M. en C. Francisco López Mejía
SECRETARIO Q.F.B. Salvador Zambrano Martínez
PRIMER SUPLENTE Dr. Víctor Manuel Zendejas Buitrón
SEGUNDO SUPLENTE Q.F.B. Leticia Badillo Solís

Handwritten signatures and initials, including 'L. y J. A.' and 'Badillo'.

**Fracasar es la oportunidad
de comenzar de nuevo
con más inteligencia.**

Anónimo.

**El único autógrafo digno de un hombre
es el que deja escrito con sus obras.**

José Martí.

**A veces sentimos que lo que hacemos
es solo una gota en el mar, pero el mar sería menos
si le faltara una gota.**

Madre Teresa de Calcuta.

**Nuestro conocimiento es una pequeña isla
en el enorme océano del desconocimiento.**

Isaac Bashevis Singer (Premio Nobel).

DEDICATORIAS

A MIS PADRES.

Bernardino Soriano L. y Martha López de S.
Gracias por haberme dado la vida; por toda la confianza y apoyo que siempre me han brindado, por que con sus sabios consejos y regaños he podido llegar hasta aquí. Sus sacrificios no han sido en vano, este triunfo también es suyo. ¡Muchas Gracias!.....LOS AMO!!!!

El problema con la familia es que los hijos abandonan un día la infancia,
pero los padres nunca dejan la paternidad.
Osho.

A MIS HERMANOS.

Sergio y Juan Carlos.
Gracias por el apoyo, cariño, confianza, peleas y paciencia que siempre me han dado, este logro hermanos también es de ustedes.....Los quiero mucho!!!!

A MIS ABUELITOS

Juan Soriano y Carmen Lima[†]
Salomón López[†] y Juana Morales.
Por su apoyo moral y cariño, brindado.... Gracias!!!!.

A LAS FAMILIAS.

Soriano Lima, López Morales, Ramírez[†] López, Soriano Medrano, Pérez López, Teresa López, Hernández López.....
¡Gracias! por su amistad, cariño y apoyo moral.

A SULTAN.

Gracias por ser mi mascota y tan buena compañía.

Una familia feliz no es sino un paraíso anticipado.
John Bowring.

AGRADECIMIENTOS

A DIOS.

Por permitir que siga viviendo, por todos los momentos buenos y malos que he vivido; por permitirme llegar hasta aquí y ver uno de mis grandes sueños hecho realidad, y principalmente por los padres, hermanos y familia que me diste....Gracias!

A LA UNAM.

En especial a la FES-CUAUTITLÁN y CCH-AZCAPOTZALCO; a ambos por ser mi segundo hogar, por haberme brindado la oportunidad de formar parte de ella y recibir una educación profesional.... ¡Muchas Gracias por que soy y siempre seré una orgullosa PUMA!

A LOS SINODALES.

M. en C. Luisa Martínez Aguilar, M. en C. Francisco López Mejía, Q.F.B. Salvador Zambrano Mtz, Dr. Víctor Manuel Zendejas Buitrón, Q.F.B. Leticia Badillo Solis.
Gracias a todos y cada uno de los profesores por su apoyo, tiempo y consejos.

A MI ASESORA.

M. en C. Luisa Martínez Aguilar.
Profesora gracias por su amistad, ayuda, tiempo y consejos; y sobre todo ¡Gracias! por confiar en mí para la elaboración de este trabajo.

AL DR. VICTOR ZENDEJAS.

Por que me ayudó a comprender que la Inmunología no es tan complicada como parece ser, ¡Gracias! por esa valiosa enseñanza, por su amistad y colaboración.

A MIS MAESTROS.

A cada uno de los maestros por sus enseñanzas; con profundo agradecimiento y eterna gratitud !!!!.

Sentir gratitud y no expresarla es como envolver un regalo y no darlo.
William Arthur Ward.

A LA GENERACIÓN DE QFB 24.

A los compañeros de la generación 24, y otras generaciones.
Especialmente para Vianey, Silvia, Sergio, Ambar, Toño, Alejandro, Edith, Fernando 19 (Hunter), Fernando 22, Ricardo 22, Agustín 23, Paty 22.....A todos y cada uno de ellos ¡Gracias! Por el apoyo, enseñanzas y amistad que me brindaron.

A LUCIA.

Por compartir conmigo momentos felices y tristes; durante nuestra vida universitaria, por su apoyo y por que juntas hemos logrado vencer obstáculos.....¡Gracias; muge vieja!

A KARLA.

Amiga; ¡Gracias! por tu sincera y larga amistad, por todas las locuras que juntas hemos vivido, por tu apoyo durante este tiempo.....TQM. (incluyendo a toda tu Familia); juntas hasta que seamos viejitas!!!!

AL DESPACHO CONTABLE.

En especial para Lupita, Roberto, Myriam, Rebe, Adrián..... Chicos; ¡Gracias! por su compañía, amistad y locuras.

A LA Sra. COLUMBA OLMOS.

Sra. ¡Gracias! Por su apoyo moral, cariño y amistad que me ha brindado.

AL Dr. CARLOS MACIAS.

Por su apoyo y amistad.....Gracias!!!

AL BIOL. ENRIQUE RAMÍREZ ROA.

Por su amistad, consejos y apoyo que me brindó.....Enrique donde quiera que te encuentres ¡Gracias!.

Amistad significa permanecer dispuestos a compartir y perdonar,
Amistad significa conocer la generosidad para servir y ayudar al otro,
especialmente al más necesitado.

Amistad significa participar en la creación de un mundo más amable
desde el lugar en el que nos encontremos.

Amistad significa aprender algo nuevo cada día
de cada ser que llega nuevo a nuestra vida.

Anónimo.

I N D I C E

	PAGINA
RESUMEN	3
JUSTIFICACIÓN	4
1.0 INTRODUCCIÓN	5
2.0 OBJETIVO GENERAL	7
2.1 Objetivos Particulares	7
3.0 GENERALIDADES	9
3.1 Sistema Inmunológico	9
3.1.1 Proceso de Inflamación	12
3.1.2 Mediadores químicos que participan en el proceso inflamatorio	14
3.1.3 Proceso inflamatorio agudo	16
3.1.5 Proceso inflamatorio crónico	17
3.2 Citocinas	19
3.2.1 Generalidades	19
3.2.2 Características de las citocinas	20
3.2.3 Principales citocinas	21
3.2.4 Actividad biológica de las citocinas	22
3.3 TNF-α/Caquectina	25
3.3.1 Células que producen TNF- α	27
3.3.2 Características de TNF- α	28
3.3.3 Actividades biológicas de TNF- α	32
3.3.4 El lipopolisacárido (LPS)	34
3.3.5 TNF- α a concentraciones diferentes	35
3.4 Anatomía del corazón	37
3.4.1 Músculo cardiaco	39

3.4.2	Proceso de contracción	40
3.4.3	Contractilidad	41
3.5	Insuficiencia cardiaca	42
3.5.1	Causas de insuficiencia cardiaca	43
3.5.2	Regulación de función ventricular	45
3.5.3	Clasificación de la Insuficiencia Cardiaca según la NYHA	47
4.0	Cambios de las citocinas neurohumorales	50
4.1	Citocinas proinflamatorias	54
4.2	TNF-α en el corazón	55
4.2.1	TNF- α es una citocina proinflamatoria	57
4.2.2	Producción de TNF- α miocárdico	58
4.2.3	TNF- α en la insuficiencia cardiaca	59
4.2.4	Estimulación relevante clínica de la producción del TNF- α miocárdico	59
4.2.5	Efectos sobre la disminución de la función contráctil del miocardio por TNF- α	60
4.2.6	Mecanismos de la disfunción contráctil inducido por el TNF- α	60
4.2.7	Apoptosis miocárdica inducida por TNF- α	64
4.2.8	Apoptosis del miocito cardiaco insuficiente	66
4.3	Producción de TNF-α	67
4.3.1	Proceso de postraducción del TNF- α	72
4.4	Estrategias terapéuticas	73
4.4.1	Inhibición de la transcripción de TNF- α	74
4.4.2	Inhibición de actividad de TNF- α	76
4.4.3	Proteínas de Choque Térmico (HSP)	78
4.4.4	Riesgo de la inhibición de las citocinas	80
5.0	CONCLUSIONES	83
6.0	REFERENCIAS	85

RESUMEN

El aumento de la expectativa de vida ha generado un incremento paralelo de la incidencia y prevalencia de enfermedades crónicas como la insuficiencia cardiaca. El desarrollo de nuevas técnicas introducidas en el diagnóstico y tratamiento de la hipertensión arterial y la enfermedad coronaria han contribuido al crecimiento de esta patología. Se calcula que entre el 0.5% y el 2% de la población adulta presenta alguna forma de insuficiencia cardiaca, detectándose 400,000 casos nuevos cada año. Diferentes hipótesis han intentado explicar la generación y progresión de este síndrome. En la década de 1990, los primeros trabajos sobre citocinas marcaron el comienzo de la teoría inflamatoria, que resulta complementaria a los demás modelos fisiopatológicos. Se ha demostrado una asociación entre el desarrollo de la inflamación y la insuficiencia cardiaca. No resulta claro de que manera actúa, tampoco se sabe si son causa o consecuencia de este complicado síndrome, pero una vez desencadenada la inflamación, ésta agrava y persiste aún más la insuficiencia cardiaca. Las citocinas pro-inflamatorias como el TNF- α , la IL-1, IL-6 e IFN- α y sus receptores solubles se hallan elevadas independientemente de la causa de insuficiencia cardiaca. Su concentración plasmática en algunos casos se correlaciona con la severidad de los síntomas y se las vincula con las alteraciones clásicas del síndrome: reducción de la contractilidad, disfunción endotelial, pérdida de masa muscular esquelética, alteraciones vasomotoras, entre otras. Según numerosos trabajos realizados el TNF- α sería el pilar fundamental de la cascada inflamatoria, a partir del cual se activarían las demás citocinas. Paralelamente a los avances logrados en la comprensión de los mecanismos fisiopatológicos de la insuficiencia cardiaca han surgido numerosas opciones terapéuticas en el campo experimental, abriéndose, de esta forma, una nueva perspectiva en el tratamiento de este complejo síndrome. Si bien todos estos hallazgos resultan alentadores, todavía existen múltiples interrogantes y su beneficio en la práctica clínica no es aún del todo claro. Será necesario realizar trabajos de investigación que nos ayuden a esclarecerlos.

JUSTIFICACIÓN

Se sabe que en la patogénesis de la insuficiencia cardiaca el TNF- α desempeña un papel importante ya que la evidencias clínicas y experimentales lo han sugerido. Se ha determinado que el TNF- α esta presente en el miocardio insuficiente y es inducido por sobre carga de presión y/o volumen cardiaco. Además sus receptores están aumentados en el miocardio insuficiente. Esta citocina no solo participa en la disminución de la función contráctil, sino que además promueve la apoptosis celular e hipertrofia ventricular, entre otras, lo que genera un fenotipo de miocardio insuficiente. Por lo que el conocimiento alcanzado al analizar el papel de esta citocina en la función cardiaca, dirige la atención a una serie de moléculas no reconocidas en el pasado como participantes potenciales en la patogénesis de esta enfermedad. Hasta la fecha no se ha encontrado un tratamiento eficaz para evitar los diferentes procesos que promueven al desarrollo de la insuficiencia cardiaca, sin embargo toda evidencia disponible abre una puerta hacia una nueva posibilidad terapéutica, que contribuya a disminuir el índice de mortalidad y aumentar la calidad de vida de estos pacientes.

1.0 INTRODUCCIÓN

El corazón es un órgano productor del Factor de Necrosis Tumoral - α (TNF- α). Tanto los miocitos cardiacos como los macrófagos adyacentes a estas células lo producen^{39,10}. Las evidencias indican que el TNF- α miocárdico contribuye de manera autocrina en la disfunción miocárdica y muerte celular en el daño por isquemia y reperfusión en el corazón, en la insuficiencia cardiaca crónica, miocarditis viral, sepsis, entre otras²⁹. Además el TNF- α producido localmente contribuye a la disfunción miocárdica postisquémica sobre la disminución de la contractilidad e inducción de la apoptosis del miocito^{44,45,46}. Tanto el lipopolisacárido (LPS) como la isquemia y reperfusión activan a la proteína p38 de la Proteín-cinasa Activada por Mitógeno (MAPK) y el Factor Nuclear Kappa B (FN κ B), el cual conduce a la producción de TNF- α ⁷². Esta citocina deprime la función miocárdica por los mecanismos dependientes de óxido nítrico (NO) e independiente de NO (dependiente de esfingosina). La activación del receptor 1 del TNF (TNFR1) o Fas pueden inducir apoptosis miocárdica^{59,63}. La evidencia clínica y experimental sugiere que el TNF- α desempeña un papel importante en la patogénesis de la insuficiencia cardiaca. El TNF- α es producido en el miocardio insuficiente pero no en el normal y es inducido en condiciones experimentales por sobre carga de presión o bien de volumen¹⁴³. Los receptores específicos para esta citocina se encuentran incrementados en el miocardio insuficiente. El TNF- α

induce disfunción contráctil, promueve fibrosis, induce cardiomiopatía en animales de experimentación y es un mediador de la apoptosis “in vivo” e “in vitro”^{44,55,112}. Dichos efectos generan un fenotipo de miocardio insuficiente.

Las MAPK y los Factores de transcripción del TNF- α son blancos característicos anti-TNF- α como uso de estrategias terapéuticas⁸⁸, por ejemplo: como efecto cardioprotector. Entonces la modulación del TNF- α en la enfermedad cardiovascular representa una meta real para la medicina clínica. Además de considerar los estudios e investigaciones acerca de la expresión del TNF- α en la insuficiencia cardíaca y el efecto de los agentes antihipertensivos (inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina II, bloqueadores adrenérgicos β , inhibidores de la vasopeptidasa, entre otros) sobre esta citocina.

Debido a que en nuestra Facultad se están llevando a cabo investigaciones básicas experimentales en el área de Farmacología Cardiovascular sobre posibles estrategias farmacológicas en diversos padecimientos cardiovasculares entre ellos la Insuficiencia Cardíaca decidimos llevar a cabo el objetivo siguiente:

2.0 OBJETIVO GENERAL

- ❖ Recopilar información bibliográfica del Factor de Necrosis Tumoral α (TNF- α), utilizando fuentes hemerográficas e internet; para proporcionar una fuente de información base de estudios experimentales y reconocer la importancia del TNF- α en la Insuficiencia Cardíaca.

2.1 Objetivos Particulares

- ❖ Obtener información del proceso inflamatorio, a través del funcionamiento del sistema inmunitario; para reconocer las bases bajo las cuales funciona este proceso.
- ❖ Recabar información de los componentes que participan en el proceso inflamatorio, mediante la colaboración de diversas moléculas como son las citocinas, para reconocer el papel que juegan en el proceso inflamatorio.
- ❖ Obtener información de la activación del TNF- α que promueve la activación de otras citocinas; entre ellas las Interleucinas, ubicando la bibliografía donde se establece la secuencia de reacciones en el proceso inflamatorio, para establecer la relación con estas.

- ❖ Establecer al TNF- α como un indicador en tejido o fluido biológico; mediante la identificación de esta citocina en las muestras, para diagnosticar el desarrollo de la insuficiencia cardiaca .

- ❖ Reconocer si la acción del TNF- α es vía receptor; mediante la identificación de los receptores para esta citocina en músculo cardiaco, y estar en condiciones de sugerir una alternativa para antagonizar a dichos receptores.

- ❖ Mencionar las funciones que genera la liberación del TNF- α en la insuficiencia cardiaca; estableciendo las vías que conducen a la hipertrofia y disfunción cardiaca, para reconocer a la citocina como un factor de disfunción en el músculo cardiaco.

- ❖ Actualizar la información de los avances logrados en la comprensión de un nuevo mecanismo fisiopatológico de la insuficiencia cardiaca, mediante el reconocimiento del papel que desempeña el TNF- α en esta patología, con la finalidad de considerar una alternativa terapéutica más; que amplíe el conocimiento en el tratamiento de esta enfermedad.

3.0 GENERALIDADES

3.1 Sistema Inmunológico

Sabemos que casi todos los animales son capaces de organizar una respuesta defensiva contra sustancias ajenas al organismo; esto es lo que se llama respuesta inmunitaria¹.

La respuesta se da por parte del sistema inmunológico, también llamado sistema inmunitario que es un conjunto de células, tejidos, moléculas (proteínas) que producimos para luchar contra las infecciones⁴.

Así el sistema inmunitario puede dividirse, desde el punto de vista funcional, en dos clases: el innato y el adquirido.

La inmunidad innata: Comprende mecanismos que funcionan desde el nacimiento²; es relativamente inespecífica¹⁵¹, aunque casi siempre discrimina con claridad entre lo propio y lo ajeno. Reacciona rápidamente y constituye una primera línea de defensa contra la invasión no deseada y la infección^{1,14}.

Puede ser dividida en tres niveles: tisular, molecular y celular¹⁵¹.

Mecanismos a nivel tisular: existe intervención de la piel y de las mucosas¹⁵¹, son varios fenómenos inmediatos; tales como²:

Barreras Físico - Químicas:

- ♦ Piel: mucha resistencia (debido a queratinización)
- ♦ Epitelios: menor resistencia
- ♦ Glándulas: Crean pH = 5.1, que dificulta la presencia de patógenos
- ♦ Lágrimas, que tienen lisozima

- ♦ Ácido del estómago, pH = 2 ó 3
- ♦ Cambio brusco de pH de estómago a intestino pH = 5
- ♦ Flora intestinal (comensales)

Mecanismos a nivel molecular¹⁵¹: el complemento; que es un conjunto de proteínas plasmáticas que se designan con la letra “C” y números progresivos, de (C1 a C9)¹⁵¹, con las siguientes funciones^{2,14}:

- ♦ Se une a superficie de patógenos y se activan unas enzimas de ataque a membrana
- ♦ Oponiza las bacterias, las recubre, para que luego pueda ser reconocida por fagocitos y se la comen
- ♦ Recluta células fagocíticas al lugar de infección y las activa

Mecanismos a nivel celular: en la que ocurren fenómenos inducidos²:

- ♦ Proteínas de fase aguda: El LPS (lipopolisacárido) es liberado por algunas bacterias y estimula macrófagos que producen interleucina 6 (IL-6) que es llevada al hígado y ahí son sintetizadas las proteínas de fase aguda
- ♦ Proteínas reguladoras de manosa
- ♦ Proteínas C reactivas
- ♦ Inflamación: Se atraen al sitio de infección células
- ♦ Vascularización más permeable. Las células se adhieren al sitio
- ♦ Vasodilatación
- ♦ Células Natural Killers: Destruyen células con virus o células tumorales

Si estas primeras defensas quedan superadas, se activa el sistema inmunitario adaptativo aunque no se detiene la inmunidad innata².

Inmunidad adquirida (específica o adaptativa): tiene la capacidad para responder específicamente frente a lo ajeno se adquiere por interacción con los antígenos (sustancias extrañas potencialmente peligrosas para el organismo) presentes en tales organismos^{1,14}.

La inmunidad adquirida se basa en la actividad de dos sistemas: humoral y de mediación celular^{1,10}. La inmunidad humoral está mediada por proteínas solubles llamadas inmunoglobulinas o anticuerpos. La inmunidad de mediación celular se canaliza a través de los linfocitos T¹.

El anticuerpo es el único arma soluble y libre. El anticuerpo es capaz también de activar el complemento³.

La respuesta inmunitaria adquirida complementa a la innata^{1,10} y estimula su función. El sistema inmunitario posee varias propiedades que son de importancia fundamental para su función normal. Éstas son: la especificidad por distintos antígenos, la diversidad del reconocimiento del antígeno, memoria de exposición al antígeno, respuestas especializadas para distintos microorganismos, limitación propia, y capacidad para discriminar entre lo propio y lo extraño¹⁰.

En el siguiente cuadro se resumen las características principales de ambas inmunidades.

Cuadro 1. CARACTERÍSTICAS DE LA INMUNIDAD INNATA Y ESPECÍFICA¹⁰.

Característica	Innata	Específica (adaptativa)
Características		
Especificidad por los microorganismos	Relativamente baja	Alta
Diversidad	Limitada	Amplia
Especialización	Relativamente estereotípica	Muy especializada
Memoria	No	Si
Componentes		
Barreras físicas y químicas	Piel, epitelios mucosos; productos químicos antimicrobianos	Sistemas inmunitarios cutáneos y mucosos; anticuerpos secretores
Proteínas sanguíneas	Complemento	Anticuerpos
Células	Fagocitos (macrófagos, neutrófilos), células citocidas naturales	Linfocitos

3.1.1 Proceso de Inflamación

Los organismos vivos responden frente a los estímulos que pueden causar daño tisular. Las respuestas pueden ser más de una. El primer evento que ocurre frente a una lesión es una inflamación aguda, esta inflamación puede seguir tres vías principales, figura 1. Si la lesión es mínima no se produce daño tisular finalmente tenemos una resolución, con la salvedad de que tiene que producirse una regeneración de células para regenerar "*ad-integrum*" las funciones del tejido. En el segundo caso cuando ocurre una lesión mayor que la anterior se va a producir una reparación del tejido a través del tejido de granulación. Y por último si la enfermedad es de gravedad y persistente se va a producir una inflamación crónica y por último se formará un absceso⁴.

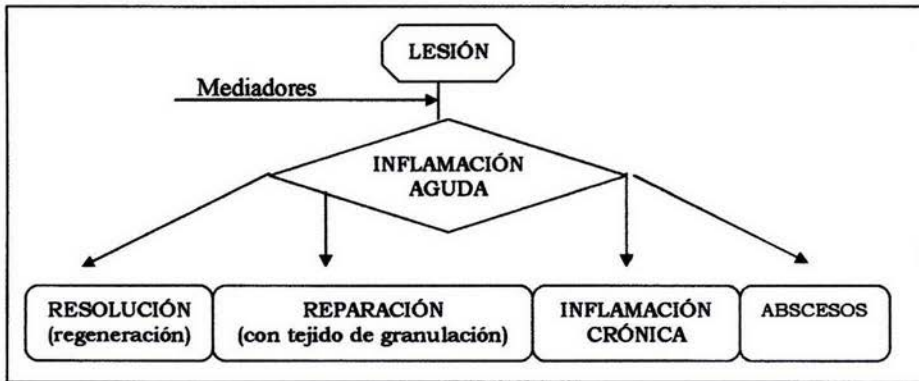


Figura 1. Proceso de inflamación. Evolución de la inflamación aguda⁴.

Ahora, una primera definición de inflamación es una reacción de los tejidos vivos vascularizados al daño local^{5,6,14}, frente a la invasión por parte de un agente infeccioso, frente a un estímulo antigénico o incluso simplemente frente a lesiones físicas^{5,153}. Con lo cual el cuerpo intenta regresar al estado previo a la lesión, o reparar la lesión después que ha sido producida^{3,153}.

Los signos clásicos de la inflamación son: enrojecimiento (rubor), calor, dolor, hinchazón (tumor) y función alterada^{6,8,14,153}.



Figura 2. Algunos componentes de la inflamación⁶.

- ♦ Rubor: aspecto de enrojecimiento, también por mayor aporte de sangre a la zona^{6,14}.
- ♦ Calor: se produce un aumento de la temperatura con respecto a las zonas próximas, por mayor aporte de sangre a la zona^{6,14}.
- ♦ Dolor: aparece en todo proceso inflamatorio, por la propia agresión que lesiona las terminaciones nerviosas de la zona^{6,14}.
- ♦ Tumor: aumento del volumen o hinchazón, por la extravasación de líquido de los capilares^{6,14}.
- ♦ Impotencia funcional: el órgano o tejido afectados no funciona con normalidad, pues las células nerviosas por falta de oxígeno (hipóxicas) no realizan bien su misión^{6,14}.

3.1.2 Mediadores químicos que participan en el proceso inflamatorio

Los procesos moleculares o celulares que se presentan durante una reacción inflamatoria son: 1) vasodilatación, 2) aumento en la permeabilidad vascular y 3) infiltración celular. Estos cambios se desencadenan de manera principal por mediadores químicos que están ampliamente distribuidos, pero secuestrados o inactivos en el cuerpo y se liberan o activan de modo local en el sitio de la inflamación⁷. Después de su liberación tienden a inactivarse con rapidez para asegurar el control del proceso inflamatorio, estos son ^{7,14,151}, figura 3:

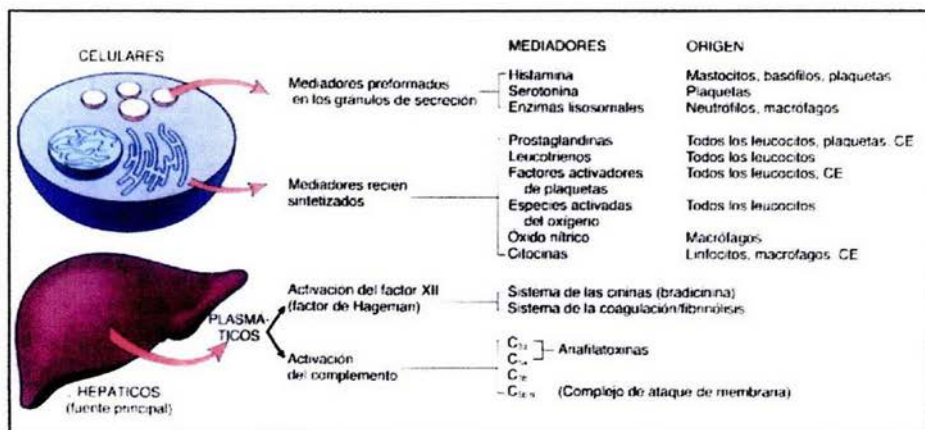


Figura 3. Mediadores químicos de la inflamación. CE, células endoteliales¹⁵³.

Estos mediadores se pueden clasificar en mediadores primarios y mediadores secundarios, figura 4¹⁴.

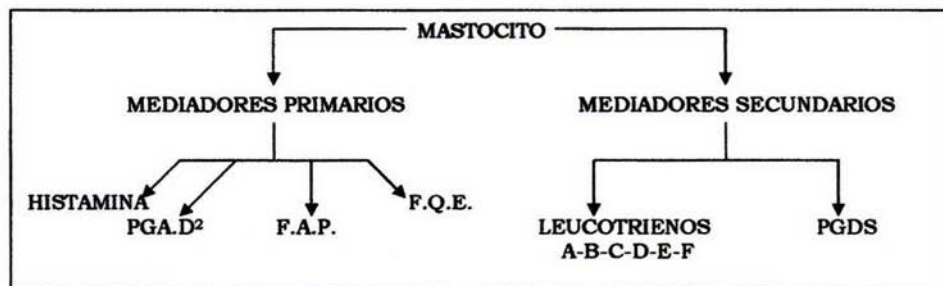


Figura 4. Mediadores de la inflamación. PGA.D² (Prostaglandina D), F.A.P. (Factor activador de plaquetas), F.Q.E. (Factor quimiotáctico de eosinófilos), PGDS (Prostaglandinas).

Uno de los mediadores es el FAP que induce la liberación de serotonina, prostaglandina y otros factores que aceleran el proceso de coagulación¹⁴.

La inflamación presenta dos fases bien diferenciadas, aguda y crónica. La inflamación aguda tiene una evolución relativamente breve, con una duración que oscila entre minutos, horas y pocos días; sus características principales son la exudación de líquido y de proteínas plasmáticas (edema), y la migración de leucocitos (predominantemente neutrófilos). La inflamación crónica tiene una duración mayor y se caracteriza histológicamente por la presencia de linfocitos y macrófagos, la proliferación de vasos sanguíneos, fibrosis y necrosis tisular¹⁵³.

La respuesta vascular y celular de las formas aguda y crónica de la inflamación están medidas por factores químicos que son activados por el propio estímulo inflamatorio¹⁵³.

3.1.3 Proceso inflamatorio agudo

La inflamación aguda es la respuesta inmediata que se produce frente al agente lesivo. La inflamación aguda presenta tres componentes principales: 1) las modificaciones en el calibre de los vasos, que dan lugar al aumento del flujo de sangre, 2) las alteraciones en la estructura de la microvasculatura, que permiten la salida de las proteínas plasmáticas y los leucocitos, y 3) la emigración de los leucocitos desde el punto en el que abandonan la microcirculación hasta el foco de lesión en el que se acumulan, figura 5¹⁵³.

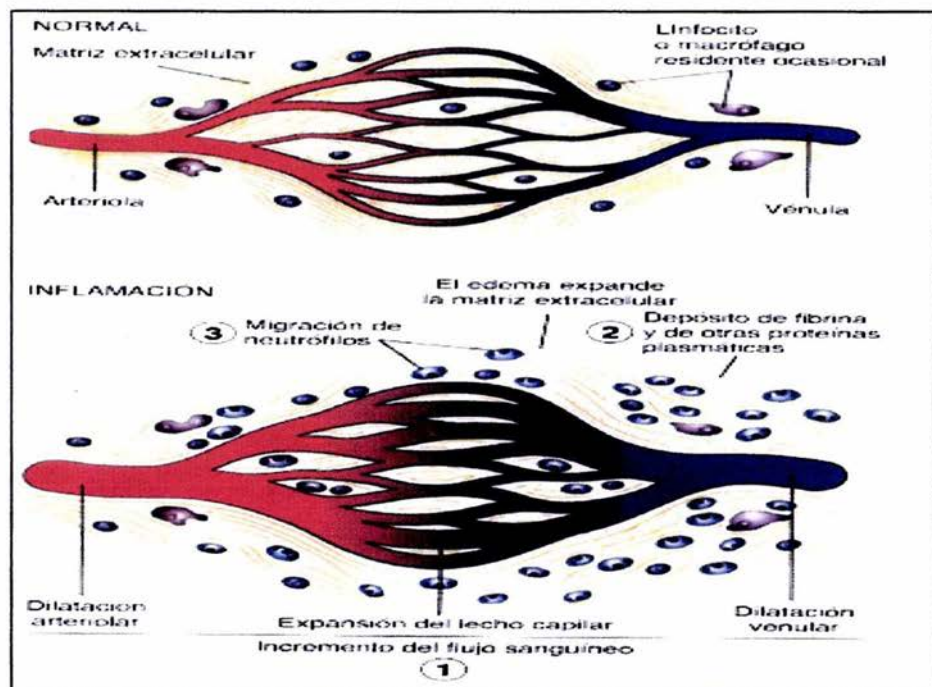


Figura 5. Las principales manifestaciones de la inflamación aguda, en comparación con la normalidad. 1) dilatación vascular (con eritema y calor), 2) extravasación de plasma y proteínas (edema) y 3) migración de leucocitos con acumulación de los mismos en la zona de lesión¹⁵³.

3.1.4 Proceso inflamatorio crónico

Si la respuesta inflamatoria no tiene éxito completo restableciendo el tejido lesionado hasta su forma original, o si no puede lograrse la reparación tisular, los acontecimientos pueden progresar hacia un estado de inflamación crónica¹⁴.

La inflamación crónica se considera que es una inflamación de duración prolongada (semanas o meses), en la que se pueden observar

simultáneamente signos de inflamación activa, de destrucción tisular y de intentos de curación¹⁵³.

Al contrario de lo que ocurre en la inflamación aguda, la inflamación crónica se caracteriza por¹⁵³:

- ♦ Infiltración por células mononucleares, como macrófagos, linfocitos y células plasmáticas, lo que refleja una reacción persistente a la lesión.
- ♦ Destrucción tisular, inducida principalmente por las células inflamatorias.
- ♦ Intentos de reparación mediante sustitución por tejido conjuntivo del tejido lesionado, con proliferación de vasos de pequeño calibre y , en especial una fibrosis.

Así el desarrollo de las reacciones inflamatorias está controlado por las quimiocinas, por producto de los sistemas enzimáticos plasmáticos y por mediadores vasoactivos que liberan los leucocitos⁵.

De esta forma las citocinas son importantes en la transmisión de señales entre las células durante la respuesta inflamatoria^{5,153}. En las fases iniciales las células tisulares en las que se está produciendo la reacción inflamatoria pueden liberar citocinas como Interleucina-1 e Interleucina-6 (IL-1 e IL-6). Una vez que los linfocitos, las células mononucleares acuden a la región inflamada, pueden ser activados por los antígenos y liberar citocinas propias (IL-1, TNF, Interleucina-4 (IL-4), Interferón- γ (IFN γ)), que

estimulan aún más la migración celular mediante sus efectos sobre el endotelio local⁵.

Hasta aquí hemos conocido como se lleva a cabo el proceso inflamatorio, todas las células, enzimas y mediadores que intervienen en éste; también se mencionan a las citocinas y para comprender mejor este proceso hablaremos un poco más sobre las citocinas.

3.2 Citocinas

3.2.1 Generalidades

La terminología usada para describir a las citocinas puede ser confusa, porque las citocinas individuales frecuentemente tuvieron múltiples nombres basados el origen de la célula, efectos biológicos o tamaño de la molécula⁹. Las fases efectoras de ambos tipos de inmunidad están mediadas en gran medida por las citocinas¹⁰.

En la inmunidad innata, las citocinas efectoras son producidas principalmente por los fagocitos mononucleares, y pueden ser llamadas monocinas. La mayoría de las citocinas de la inmunidad específica son producidas por linfocitos T activados, y tales moléculas se llaman generalmente linfocinas¹⁰. De cualquier modo monocinas y linfocinas pueden ser producidas por una variedad de células, incluyendo células endoteliales, fibroblastos y células epiteliales, y por lo tanto es más preciso utilizar el término citocina^{9,153}.

Las citocinas son proteínas pequeñas solubles de bajo peso molecular (8-80 kDa de peso molecular) y algunas llevan adosados azúcares (glucoproteínas) que transmiten señales de una célula emisora a otra célula receptora, la cual por lo general está cercana de la primera, pero no necesariamente unida a ella. El efecto de las citocinas generalmente es local, salvo el caso de IL-1, IL-6 y TNF- α que pueden actuar a distancia cuando son producidas en grandes cantidades por células no linfoides⁵.

3.2.2 Características de las citocinas^{2,3}.

Considerando las diversas citocinas, éstas pueden exhibir una o varias de las siguientes cualidades:

- ♦ Bajo peso molecular (> 80 kDa)
- ♦ Generalmente glucosiladas
- ♦ Producción local y transitoria
- ♦ Activas a concentraciones de picomoles
- ♦ Interaccionan con un receptor específico
- ♦ Actividades biológicas pleiotrópicas
- ♦ Comparten sus actividades con otras citocinas

Las citocinas son sintetizadas por una gran variedad de células del cuerpo principalmente del sistema inmunitario (entre ellas los linfocitos y los macrófagos) y ejercen funciones muy importantes para el desarrollo y la respuesta del sistema inmunitario⁵. La producción de las citocinas suele

ser breve (transitoria), limitada al tiempo que dura el estímulo (es decir, el agente extraño).

Las diferentes clases de células productoras de citocinas requieren distintas formas de estimulación a través de receptores de membrana diferentes⁵.

Las citocinas pueden ser clasificadas en varias formas, según las características de las moléculas o sus principales actividades biológicas².

3.2.3 Principales citocinas:

Aunque muchas citocinas presentan funciones múltiples, se pueden agrupar en cinco clases, según cual sea su función principal o cual sea la naturaleza de la célula diana¹⁵⁴.

- ♦ Citocinas que regulan la función leucocitaria. Estas citocinas regulan la activación, crecimiento y diferenciación de los linfocitos. En esta categoría se incluyen Interleucinas (IL) IL-2 y IL-4, que estimulan el crecimiento linfocitario, así como IL-10 y el Factor de Crecimiento Transformante β (TGF- β), que son reguladores negativos de las respuestas inmunitarias.
- ♦ Citocinas implicadas en la inmunidad natural. Este grupo incluye dos citocinas inflamatorias, factor de necrosis tumoral α (TNF- α), e IL-1 β , los interferones de tipo 1 (IFN- α y INF- β), e IL-6.

- ♦ Citocinas que activan las células inflamatorias. Estas citocinas activan los macrófagos durante las respuestas inmunitarias mediadas por células y son: IFN- γ , TNF- α , TNF- β , IL-5, IL-10, IL-12.
- ♦ Quimiocinas. Este grupo se caracteriza por inducir actividad quimiotáctica en diversos leucocitos.
- ♦ Citocinas que estimulan la hematopoyesis. Estas citocinas actúan como mediadores del crecimiento y diferenciación de los leucocitos inmaduros.

Todas ellas son mensajeros químicos solubles que permiten una comunicación entre diferentes clases de células y que transmiten mensajes para iniciar o suprimir funciones distintas. La comunicación intercelular sirve para amplificar la respuesta del sistema inmunitario, modula (positiva o negativamente) su desarrollo y mantiene la homeostasis del organismo².

3.2.4 Actividad biológica de las citocinas⁶.

Las principales funciones de las citocinas se relacionan con el crecimiento y la diferenciación celular, las reacciones inflamatorias y la modulación de la respuesta del sistema inmunitario.

Los efectos biológicos de las citocinas suelen presentarse al final de una serie de reacciones, que están relacionadas mediante los siguientes mecanismos :

1. La síntesis y la liberación de las citocinas dependen de una primera señal, inductora.
2. Una vez producidas, algunas citocinas pueden estimular otras células e inducir la síntesis de nuevas citocinas, diferentes a las primeras.
3. Algunas citocinas modulan la expresión de los receptores específicos para otras, en la superficie de sus respectivas células blanco.
4. Casi todas las citocinas pueden estimular las funciones celulares de una manera sinérgica, aditiva o antagónica.

Las citocinas se unen a receptores específicos de la membrana de las células donde van a ejercer su función, iniciando una cascada de transducción intracelular de señal que altera el patrón de expresión génica, de modo que esas células diana producen una determinada respuesta biológica.

La mayor parte de los receptores de las citocinas son glucoproteínas de membrana de tipo I, con un único dominio transmembranal, y sus dominios extracelulares se unen a la citocina, proporcionando el medio para la detección de la señal extracelular¹⁰, figura 6. Con frecuencia las citocinas se ligan con una subunidad privada muy específica y con otra pública, compartida con otras citocinas relacionadas⁵.

La función principal de los receptores de las citocinas es transformar una señal extracelular, concretamente la unión específica de una citocina a una célula diana, en una señal intracelular, y la expresión de los

receptores puede estar regulada por diferentes señales exógenas y endógenas^{10,153}.

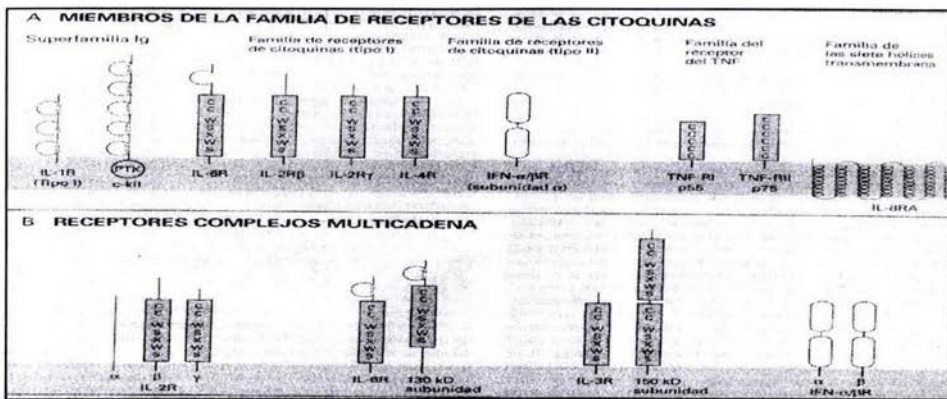


Figura 6. Familia de receptores de las citocinas¹⁰.

Un aspecto interesante en la biología de estos receptores es la unión proteolítica de los mismos en la superficie celular ante diversos estímulos, liberando una porción soluble del receptor de TNF- α (sTNF- α R) al torrente sanguíneo el cual conservaría su capacidad de ligar al TNF- α e inhibir su bioactividad³.

Las señales transmitidas por las citocinas originan una serie de eventos que son necesarios para limitar, rechazar o reparar, inmunológicamente, cualquier clase de daño tisular. La producción y la liberación al exterior de las citocinas es una parte importante de la respuestas inflamatoria e inmunitaria. En este último caso, destacan sus efectos reguladores sobre

la proliferación y la activación de las células fagocíticas y de los linfocitos T y B.

Las citocinas frecuentemente exhiben actividad pleiotrópica, esta acción sobre varios tipos de células estimula numerosas funciones. Al mismo tiempo, más de una citocina puede inducir una actividad biológica particular; las funciones de citocinas individuales pueden ser redundantes⁹ (muchas de las acciones que originalmente se atribuyeron a una citocina son compartidas por varias citocinas diferentes⁸). Las funciones de IL-1 y TNF- α son ejemplos excelentes de redundancia funcional de citocinas⁹.

3.3 Factor de Necrosis Tumoral- α (TNF- α) / Caquetina.

TNF se puede dividir en dos grupos:

- TNF α o TNF a secas
- TNF β o LT (linfotoxinas).

La linfotoxina (LT) fue descrita originalmente en la década de 1960 como un mediador de la lesión tisular producido por las células T, y el Factor de Necrosis Tumoral (TNF) fue descrito en la década de 1970 como el mediador endógeno de la necrosis hemorrágica de tumores inducida por el LPS. La purificación y clonación por separado de estas dos moléculas al principio de la década de 1980 revelaron que la LT y el TNF- α son estructuralmente homólogos entre si en un 30%, y compiten por la unión a

los mismos receptores de la superficie celular, actualmente se denominan TNF-R1 y TNF-R2¹⁰.

El TNF- α o "caquectina" (Cachexia del kakos griego, significando malo, y hexis, un estado de ser)¹¹ es una proteína transmembranal no glucosilada que está formada por 157 aminoácidos. El TNF- α tiene un solo puente disulfuro, el cual es necesario para mantener la estructura de la molécula. La secuencia de sus aminoácidos está codificada en un gene que está localizado en la región III del Complejo Mayor de Histocompatibilidad (MHC), en el cromosoma 6 humano y en el cromosoma 17 de los ratones. El TNF- α comparte muchas de las actividades biológicas de las IL-1 e IL-6. Los macrófagos son las principales células que lo producen pero también es sintetizado por los linfocitos B y las células NK, así como por otras células que no pertenecen al sistema inmunitario. El TNF- α constituye la principal respuesta del cuerpo a una agresión por las endotoxinas de las bacterias Gram negativas. El es el responsable de todas las alteraciones bioquímicas y los síntomas que expresan los pacientes con choque endotóxico, lo cual significa que tiene un espectro muy amplio de actividades biológicas. Los macrófagos y los monocitos también producen TNF- α como una respuesta a los aumentos en la formación de radicales libres y, a su vez, el TNF- α contribuye a elevar los niveles de oxígeno reactivo, ya que aumenta la actividad de los fagocitos y la respiración celular².

3.3.1 Células que producen TNF- α

En el siguiente cuadro se muestra el origen y papel del TNF- α en el proceso de inflamación¹².

Cuadro 2. ORIGEN Y PAPEL DEL TNF- α EN LA INFLAMACIÓN.

Células de origen	Macrófagos, monocitos, astrocitos, células B, miocitos cardiacos, eosinófilos, fibroblastos, células glial, células de la granulosa, keratinocitos, neuronas, neutrófilos células Natural Killer (NK), células T, osteoblastos, células del músculo liso, células del sistema fagocitario mononuclear, algunas células tumorales
Estimulación	Endotoxina bacteriana (LPS), inóforos de calcio, C5a, CD44, CD45, enterotoxina, hipoxia, IL-1, irradiación, leucotrienos, lipoarabinomannano micobacteriana, óxido nítrico, radicales del oxígeno, parásitos, virus.
Papeles Biológicos en el Sistema Nervioso Central	Fiebre, anorexia, altera la secreción de la hormona pituitaria.
Inflamación	Activación de células citotóxicas, aumenta la función de células NK, mediación de IL-2 toxicidad del tumor.
Cardiovascular	choque, síndrome de goteo de capilar, lesión del tejido

De esta manera, el TNF- α actúa como mediador tanto de la inmunidad innata como de la específica, y es un importante nexo de unión entre las respuestas inmunitarias específicas y la inflamación aguda¹⁰. Siendo también una citocina con actividad pleiotrópica⁹.

3.3.2 Características de TNF- α

En el suero, el TNF- α se encuentra en forma de un trímero. Produce fiebre y anorexia por estimulación del hipotálamo y altera el metabolismo de las grasas ocasionando trigliceridemia y una pérdida de peso que puede llegar a la caquexia. La molécula activa del TNF- α está compuesta por tres subunidades enlazadas entre sí en una forma no covalente. Cada subunidad de TNF- α está formada por un péptido de 17 kDa (157 aminoácidos) que se dobla en un solo plano para adoptar una conformación de hoja beta plegada. Para que el TNF- α pueda ejercer sus actividades biológicas necesita unirse a su receptor específico (TNFR) sobre la membrana de una célula¹¹. El punto de unión a su receptor se encuentra en el segmento amino-terminal de la molécula. En cambio, en el segmento carboxilo-terminal del TNF- α están las secuencias de aminoácidos de las cuales dependen sus actividades biológicas. La molécula humana no está glucosilada. El análisis estructural de los TNFR ha revelado que son heterogéneos, ya que tienen pesos moleculares que varían entre 55 y 80 kDa¹⁵². Así mismo, sus afinidades están entre 10^{-9} (TNFR1) y 10^{-12} M (TNFR2)^{11,10}. Es probable que, como los TNFR se expresan sobre la membrana de una gran cantidad de células, la heterogeneidad que ha sido encontrada dependa de la diferenciación de las células y no signifique una señal diferente. El receptor TNFR1 de 55 kDa posee una porción extracelular con una cantidad elevada de residuos cisteína y tiene una homología significativa con el receptor del factor de

crecimiento de los nervios. Una forma soluble del TNFR (sTNFR) es un monómero que ha sido encontrado en la sangre y en la orina de las personas sanas y también en pacientes con enfermedades autoinmunes. A pesar de que tienen una afinidad baja, parece probable que el sTNFR represente un inhibidor fisiológico que puede bloquear las actividades biológicas del TNF- α en algunas situaciones clínicas o en algunos tejidos. El TNFR2 puede mediar preferentemente respuestas al TNF- α de membrana. También puede servir para unir y transformar el sTNF en TNFR1^{10,11,152}.

Se han encontrado varias sustancias que pueden acelerar la transcripción del gene del TNF- α . Los inductores más conocidos son los LPS o endotoxinas de las bacterias Gram negativas^{10,29,68}. En los experimentos realizados "in vitro", el forbol diester y los ionóforos de calcio también son buenos estimulantes de la síntesis del TNF- α . El IFN- γ aumenta la respuesta de TNF- α cuando los macrófagos son estimulados con LPS²⁹, mientras que el Factor de Crecimiento Transformante beta (TGF- β) inhibe su biosíntesis por las mismas células que reciben el mismo estímulo. El TNF- α puede estimular y/o deprimir las funciones de numerosas células. Probablemente su función más importante es que puede inducir la apoptosis de las células blanco que tienen receptores de membrana capaces de unirse a la molécula^{10,44}. Una de las primeras actividades biológicas del TNF- α que fue descrita (provocar la necrosis hemorrágica de ciertos tumores) ha sido relacionada con sus efectos sobre los vasos

sanguíneos¹⁰. El TNF- α estimula la fagocitosis así como la adherencia de los neutrófilos a la superficie de las células endoteliales y su migración fuera de los vasos. Además, desorganiza las monocapas de células endoteliales y las estimula para que produzcan IL-1. También modula la expresión de varios antígenos de las células endoteliales y promueve la coagulación intravascular que caracteriza el estado de choque endotóxico. El TNF- α es el responsable de las principales alteraciones clínicas y bioquímicas del choque endotóxico. La inyección endovenosa de LPS es seguida por un aumento rápido de la concentración de esa citocina en el suero^{29,31,68}. Cuando el TNF- α es inyectado en ratas les provoca las principales manifestaciones del choque endotóxico y los animales tienen hipotensión, fiebre, taquipnea, diarrea, hematuria, coagulación intravascular, hemoconcentración, acidosis metabólica, anorexia y una fase inicial de hiperglucemia seguida de hipoglucemia^{10,152}.

La familia de receptores de TNF- α fue definida inicialmente por la presencia de motivos estructurales extracelulares. Estudios recientes han revelado también algunos motivos estructurales conservados dentro de las <<regiones de señalización>> intracelulares. TNF-R1 y Fas comparten un motivo secuencial conservado que se ha llamado el <<motivo de la muerte>>, ya que la mutación o delección de esta región evita que las moléculas de TNFR1 o Fas liberen las señales que inducen la apoptosis, figura 7. El dominio de la muerte es realmente un dominio de interacción proteína-proteína para ensamblar proteínas interactuantes con las

regiones intracelulares de las moléculas agrupadas de TNFR1 o Fas. TNFR2, LT β R y CD40 comparten un dominio de asociación proteína-proteína distinto, que, actualmente, define una nueva familia proteínica de moléculas adaptadoras citoplasmáticas llamada Factores Asociados al Receptor de TNF (TRAF, del inglés, TNF-receptor associated factors). Hasta la fecha se han identificado al menos seis TRAF. Los TRAF 1 y 2 interactúan con TNF-R2, quizás como heterodímeros. La sobre expresión de TRAF, especialmente TRAF2, activa el factor de transcripción llamado Factor Nuclear kappa B (NF κ B). El TNFR1 no tiene ningún dominio TRAF, pero sí interactúa como una proteína que contiene el dominio de la muerte llamada TRADD, que contiene así mismo un dominio TRAF. La TRADD puede interactuar, a través de su dominio TRAF, con TRAF2, conectando así el TNFR1 con la activación de NF κ B¹⁰, figura 7.

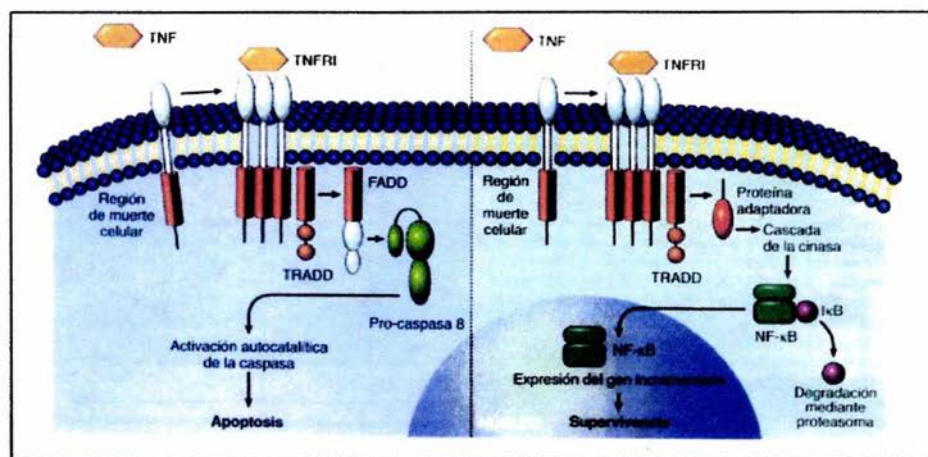


Figura 7. Apoptosis frente a supervivencia inducida por TNF. Modelo de señalización mediada por el receptor de TNF e inducción de la apoptosis (izquierda), o activación de NF κ B y señales de supervivencia celular (derecha)¹⁵³.

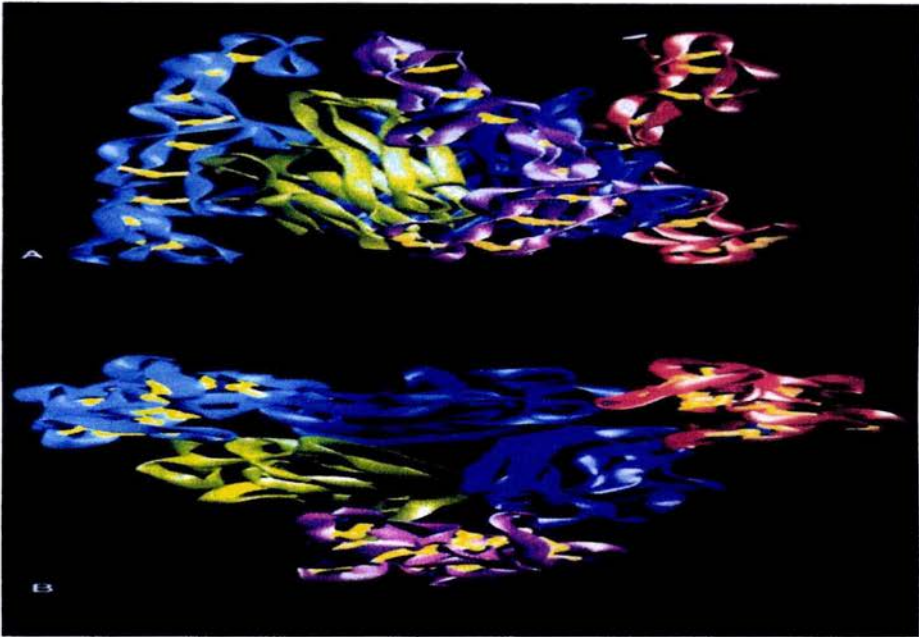


Figura 8. Receptor 1 de TNF- α (TNFR1), por cristalografía de rayos X (A) una visión lateral y (B) una visión superior¹⁰.

3.3.3 Actividades biológicas de TNF- α :

La mayoría de los efectos biológicos están mediados a través del TNFR1, y los ratones con inhibición génica de TNFR1 muestran una defensa del huésped mucho más defectuosa que los ratones con inhibición génica de TNFR2¹⁰.

Así, dentro de las principales actividades de TNF- α están⁶:

- ♦ Fiebre
- ♦ Anorexia
- ♦ Pérdida de peso

- ♦ Inducción de la apoptosis
- ♦ Necrosis de tumores
- ♦ Agregación de plaquetas
- ♦ Aumenta la síntesis de ACTH
- ♦ Estimula producción de IL-6, IL-2 e IL-1
- ♦ Aumenta la expresión del Complejo Mayor de Histocompatibilidad (MHC I)
- ♦ Aumenta la fagocitosis
- ♦ Aumenta la síntesis de prostaglandinas
- ♦ Aumenta la síntesis de moléculas de adhesión
- ♦ Aumenta la glucogenolisis
- ♦ Mejora la activación de linfocitos T
- ♦ Suprime respuesta de los linfocitos B
- ♦ Estimula la angiogénesis
- ♦ Estimula multiplicación de fibroblastos
- ♦ Estimula liberación de colagenasas
- ♦ Suprime las enzimas lipogénicas
- ♦ Inhibe la síntesis de la lipoproteinalipasa (LPL)

Hasta aquí, se ha estado mencionando al lipopolisacárido (LPS) como una estimulación para el TNF. A continuación se hablara un poco mas sobre éste, para comprender mejor su papel.

3.3.4 El Lipopolisacárido (LPS)

El LPS o endotoxina son lípidos bacterianos, se libera cuando la pared celular de las bacterias gram negativas, como E. Coli, se degrada. El lípido A, que contiene la mayoría de la actividad biológica, es hidrófobo, El lipopolisacárido, que puede contener 50 o más hexosas, se puede dividir en regiones centrales más conservadas y regiones bacterianas de tinción específica (<<O-específicas>>)¹⁰, figura 9.

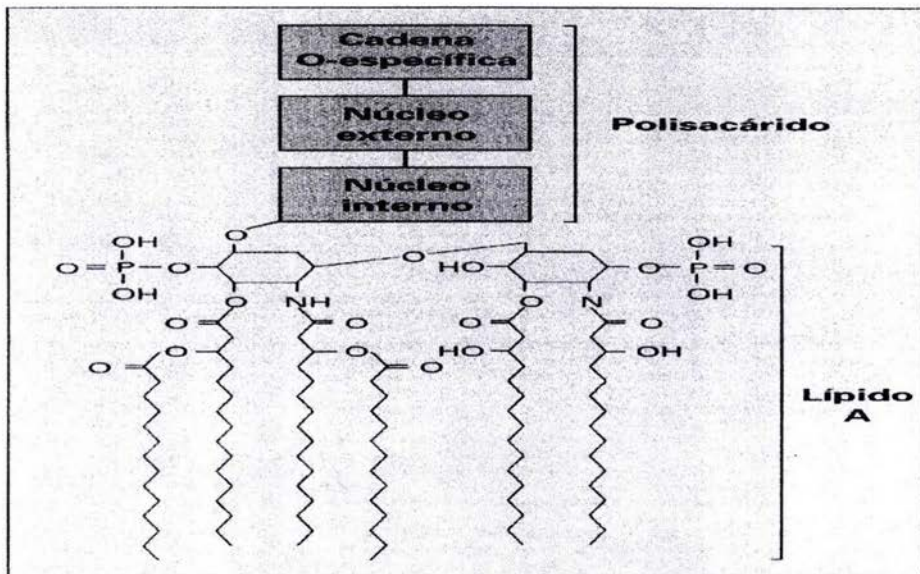


Figura 9. Estructura del LPS¹⁰.

El LPS circula en el plasma formando un complejo con una proteína ligadora específica [(LPB), del inglés LPS-binding protein]. El receptor de los fagocitos mononucleares para el complejo LPS/LPB es una proteína de superficie llamada CD14. La unión de CD14 por el complejo LPS/LPB dispara la asociación de las moléculas CD14 ocupadas con un receptor de

señalización todavía no caracterizado. Esto estimula al fagocito a sintetizar una serie de proteínas nuevas entre ellas citocinas como TNF, interleucina-1 β (IL-1 β), IL-6, IL-10, IL-12 e IL-15. Los fagocitos mononucleares activados también secretan quimiocinas que actúan reclutando monocitos y neutrófilos de la sangre hacia el lugar de la inflamación¹⁰.

Las acciones biológicas del TNF- α , al igual que las del LPS, se entienden mejor como una función cuantitativa.

3.3.5 TNF- α a concentraciones diferentes

A dosis bajas, el LPS sirve preferentemente para activar a los monocitos y macrófagos.

El LPS también puede activar directamente al complemento, lo que contribuye igualmente a la erradicación local de las bacterias. Los fagocitos mononucleares responden al LPS produciendo TNF, que a su vez favorece la síntesis de IL-1. Ambos, el TNF y la IL-1, actúan sobre las células endoteliales haciendo que formen más citocinas (por ejemplo: IL-6 e IL-8), además de inducir las moléculas de adhesión. Así pues, la liberación inicial de LPS provoca una cascada circunscrita de citocinas; figura 10, dirigidas indudablemente a aumentar la respuesta inflamatoria aguda local y a favorecer la eliminación de la infección^{153,155}.

En las infecciones moderadamente graves y, por tanto, cuando hay niveles mayores de LPS (y aumento secundario de la cascada de citocinas), se

vuelven importantes los efectores secundarios inducidos por las citocinas (por ejemplo: el óxido nítrico y el factor activador de plaquetas (PAF)). Además, pueden empezar a observarse los efectos generales de TNF y de la IL-1, tales como fiebre y mayor síntesis de los reactantes de fase aguda. A dosis mayores, el LPS también produce lesión de las células endoteliales, y ésta a su vez desencadena la cascada de la coagulación. Finalmente a concentraciones todavía mayores de LPS sobreviene el síndrome de choque séptico; esa misma citocina y los mediadores secundarios se producen ahora a una gran concentración^{153,155}:

- ♦ Vasodilatación generalizada (hipotensión)
- ♦ Disminución de la contractilidad cardiaca miocárdica
- ♦ Lesión y activación extensas del endotelio, que producen adhesión leucocitaria generalizada.
- ♦ Activación del sistema de la coagulación, que acaba produciendo coagulación intravascular diseminada (CID).



Figura 10. Cascada de citocinas inducida por LPS¹⁰. El LPS inicia la cascada de las citocinas; además, el LPS estimula la producción subsiguiente de citocinas. Los efectores secundarios importantes son el óxido nítrico (NO) y el PAF. A concentraciones bajas, sólo se observan efectos inflamatorios locales. Con concentraciones moderadas, aparecen fenómenos más generales además de los efectos vasculares locales. A elevadas concentraciones, se observa el síndrome de choque séptico.

3.4 Anatomía del corazón

El corazón, es un órgano muscular hueco que recibe sangre de las venas y la impulsa hacia las arterias. El corazón humano tiene el tamaño aproximado de un puño. Se localiza por detrás de la parte inferior del esternón, y se extiende hacia la izquierda de la línea media del cuerpo. Es de forma más o menos cónica, con la base dirigida hacia arriba, hacia el lado derecho y algo hacia atrás; la punta está en contacto con la pared del tórax en el quinto espacio intercostal. Se mantiene en esta posición gracias a su unión a las grandes venas y arterias, y a estar incluido en el pericardio, que es un saco de pared doble con una capa que envuelve al corazón y otra que se une al esternón, al diafragma y a las membranas del tórax¹³.

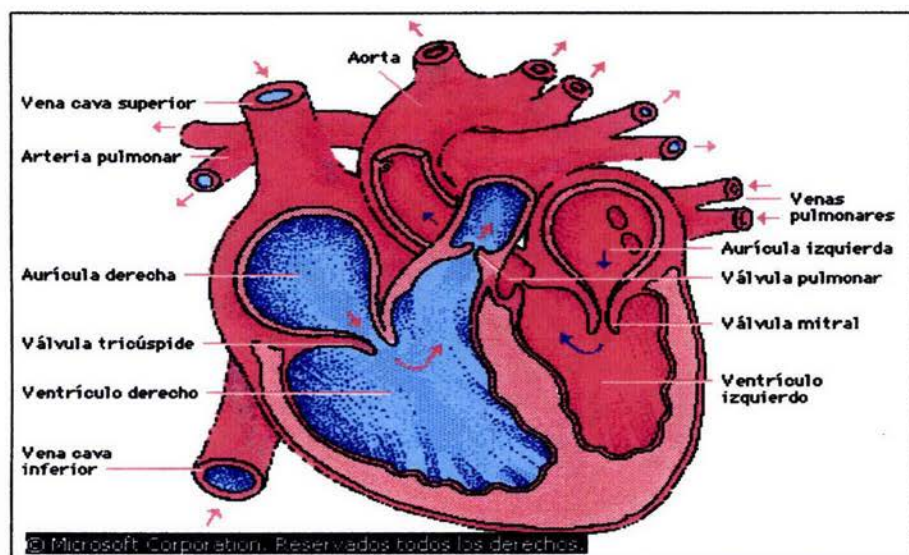


Figura 11. Anatomía del corazón¹³.

El corazón es un órgano muscular de cuatro cámaras que bombea sangre a todos los tejidos del organismo y los nutre de oxígeno. Las dos cámaras superiores, denominadas aurícula izquierda y derecha, son las cámaras receptoras, ya que reciben sangre de las venas. Las cámaras inferiores; los ventrículos, bombean sangre fuera del corazón a través de las arterias. Cada aurícula esta conectada a un ventrículo mediante a una válvula. La aurícula derecha y el ventrículo derecho hacen circular la sangre a través de los pulmones, mientras que la aurícula y ventrículo izquierdos hacen circular a la sangre por el resto del cuerpo^{14, 15}.

3.4.1 Músculo cardíaco

El músculo cardíaco, es fundamental para la función cardíaca; está formado principalmente por un conjunto de células musculares estriadas (miocitos cardíacos) ramificadas y anastomosadas, que contienen a su vez cinco componentes principales: 1) la membrana celular (sarcolema) y los túbulos T; para la conducción de los impulsos, 2) el retículo sarcoplásmico; un reservorio de calcio necesario para la contracción, 3) los elementos contráctiles, 4) las mitocondrias, y 5) el núcleo¹⁵³.

La característica más impresionante del tejido muscular es la capacidad de contraerse como respuesta a una excitación y de poder desarrollar una tensión.

El aparato contráctil de la célula muscular cardíaca consta de miofibrillas. Cada miofibrilla consta de dos miofilamentos, la actina o miofilamentos delgados y la miosina o filamentos gruesos. Estos se encuentran ordenados paralelamente y son interrumpidos a espacios regulares por las llamadas bandas Z. La distancia entre dos bandas Z sucesivas, es la unidad estructural de la miofibrilla o el llamado sarcómero. Dentro de cada sarcómero se producen los procesos elementales de la contracción muscular¹⁸, figura 12.

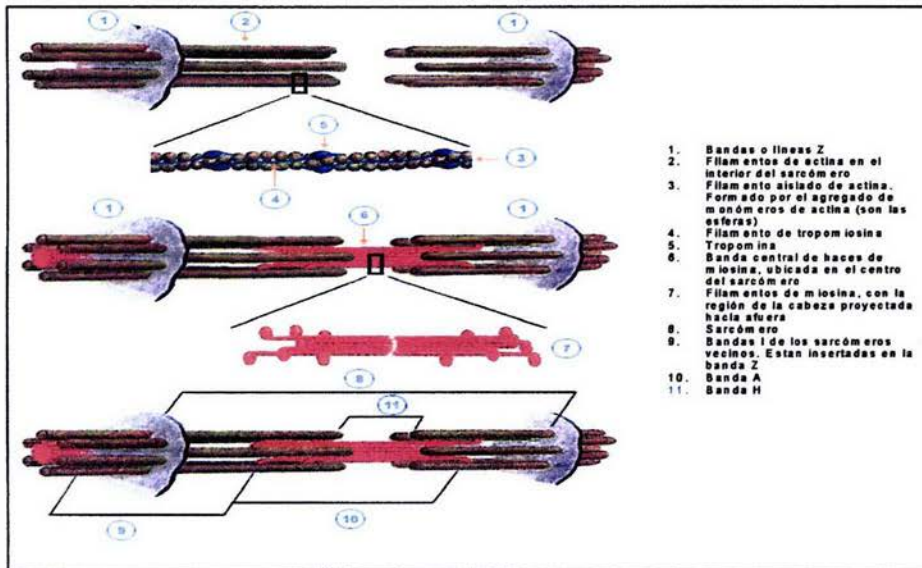


Figura 12. Bases de la contracción. Relación entre las estructuras de las miofibrillas¹⁵⁶.

3.4.2 Proceso de contracción

El ciclo de contracción del miocardio ocurre de la siguiente forma:

Pausa diastólica. Un complejo troponina-tropomiosina con unión a la actina impide la interacción entre los filamentos actínicos y miosínicos.

Sístole. Bajo la influencia de la excitación de la membrana se produce la entrada de iones calcio a través de la membrana celular así como su liberación simultánea del retículo sarcoplásmico, y con ellos el aumento de la concentración de calcio en el citoplasma de la célula miocárdica. El calcio se une a las zonas de unión de la troponina. El complejo troponina-tropomiosina varía en posición de modo que la miosina interactúa con utilización energética del ATP. Los finos filamentos actínicos son

introducidos en dirección al centro del sarcómero, entre los gruesos filamentos de miosina. Con ello se acorta la longitud del sarcómero (contracción).

Relajación diastólica. El calcio es bombeado de nuevo a los depósitos del sistema longitudinal y a través de la membrana celular hacia el exterior. Ahora puede el complejo troponina-tropomiosina reaccionar de nuevo con la actina, con lo que se evita la unión de los puentes transversos.

Las cabecitas se aplastan materialmente en el filamento de la miosina, así ambos tipos de filamentos pueden deslizarse ligeramente unos contra otros (el músculo se relaja)¹⁸.

3.4.3 Contractilidad

Es la propiedad mecánica que tienen las miofibrillas para contraerse. Esta propiedad depende de manera muy importante del Ca^{2+} almacenado en el retículo sarcoplásmico de la célula cardíaca. Después de la despolarización eléctrica, el Ca^{2+} se dirige hacia las proteínas de actina y miosina, lo cual permite el desplazamiento de la primera sobre la segunda y con ello la contracción muscular. Durante la recuperación eléctrica, el Ca^{2+} vuelve al retículo sarcoplásmico y las moléculas de actina y miosina regresan a su estado de reposo, lo cual condiciona la relajación muscular¹⁹.

- Mecanismos para cambiar la contractilidad:

La contractilidad se correlaciona directamente con la concentración intracelular de Ca^{2+} , que a su vez depende de la cantidad de Ca^{2+} liberada

de los almacenes del retículo sarcoplásmico durante el acoplamiento excitación-contracción. Cuanto mayor sea la corriente interna de Ca^{2+} y mayores los almacenes intracelulares, mayor será el incremento de la concentración intracelular de Ca^{2+} y también la contractilidad¹⁶.

3.5 Insuficiencia Cardíaca

La insuficiencia cardíaca (IC), llamada a menudo insuficiencia cardíaca congestiva (ICC) es la incapacidad del corazón para suministrar sangre oxigenada en cantidad suficiente para satisfacer las demandas metabólicas de los tejidos periféricos, en reposo y durante el ejercicio^{20, 27} y sólo puede hacerlo gracias a una elevada presión de llenado.

En la práctica la definición de IC limita la incompetencia del miocardio, las alteraciones valvulares o cortocircuitos se incluyen en la medida que ocasionan sobrecarga del ventrículo derecho o izquierdo. La reducción de la contractilidad resultante de un flujo sanguíneo inadecuado (por ejemplo: isquemia), factores intrínsecos (como en la cardiomiopatía, miocarditis o existencia de una cicatriz por un infarto previo), o factores extrínsecos circulantes (v.gr., endotoxina o citocinas inflamatorias) puede causar insuficiencia cardíaca congestiva en ausencia de un volumen anormal o sobrecarga de presión. La incapacidad del ventrículo para relajarse en forma adecuada en la diástole puede prevenir el llenado normal de las cámaras y causar insuficiencia cardíaca congestiva en presencia de una función sistólica normal²⁰.

La IC constituye un importante problema sociosanitario, ya que el número de casos aumenta cada año en forma progresiva con la edad, siendo la prevalencia de tres millones de personas, con una incidencia de cuatrocientos mil casos al año. Es la primera causa de hospitalización en mayores de 60 años, siendo su pronóstico omiso a pesar de los avances de la terapéutica, ya que menos del 10% de los pacientes sobreviven a diez años desde el momento del diagnóstico. La mortalidad es del 31% a los dos años post diagnóstico y 52% a los cuatro años. Es la principal causa de muerte en la mayoría de las cardiopatías^{21,22}.

3.5.1 Causas de insuficiencia cardíaca²³

La etiología de la IC puede ser claramente definida en algunos casos por la presencia de isquemia miocárdica, valvulopatías, miocardiopatías, enfermedades congénitas, entre otras, mientras que a veces la relación causa-efecto es sólo probable como sucede en los pacientes con historia de hipertensión arterial, diabetes o fiebre reumática.

- Causas subyacentes

Las causas de insuficiencia cardíaca pueden deberse a :

Insuficiencia miocárdica, es decir, a un déficit de la contracción miocárdica que puede ser primario, o secundario a alteraciones extramiocárdicas o de las válvulas cardíacas.

Causas que no se originan directamente en el déficit de contractilidad como pueden ser: (a) Las que alteran el llenado cardíaco, (b) Las que hacen

que el corazón se enfrente a una carga (de presión o de volumen) superior a su capacidad.

- Causas desencadenantes

Su identificación es igualmente importante, porque pueden deteriorar seriamente la función cardíaca de un miocardio sin reservas.

A veces los primeros síntomas de insuficiencia cardíaca pueden aparecer por algunas de estas causas que pueden ser de origen cardíaco (como arritmia o el uso de un fármaco inotrópico negativo) o extracardiaco, como son las situaciones que:

- ♦ Exigen un aumento del gasto cardíaco que el corazón insuficiente no es capaz de dar (anemia, embarazo, tirotoxicosis)
- ♦ Aumentan las demandas metabólicas (infecciones)
- ♦ Aumentan la presión arterial pulmonar (embolia de pulmón) o sistémica
- ♦ De cualquier forma deprimen el miocardio o sobrecargan el sistema circulatorio: Aumento de ingestión de sal, ejercicio físico excesivo, crisis emocionales, o interrupciones del tratamiento.

La causa más común de insuficiencia cardíaca derecha es la insuficiencia cardíaca izquierda. La IC causada por una alteración de la función sistólica que provoque eyección inadecuada de sangre se conoce como falla sistólica. La falla diastólica se asocia con la incapacidad del ventrículo o ventrículos para aceptar la sangre con presiones de llenado normales²⁰.

La insuficiencia cardíaca izquierda puede producirse por²⁴:

- ♦ Coronariopatía
- ♦ Hipertensión arterial
- ♦ Estenosis aórtica
- ♦ Degeneración progresiva del miocardio.

La insuficiencia cardíaca del lado derecho (congestivo) puede producirse por²³:

- ♦ Enfermedad pulmonar crónica/hipertensión pulmonar, embolia pulmonar
- ♦ Carga adicional súbita en el corazón (por ejemplo, gran estrés físico)
- ♦ La sangre venosa que regresa al corazón se congestiona.

Goldman y Col. estimaron que los factores de estilo de vida como es dejar de fumar, disminuir grasas saturadas, alimentación sana y aumento en la actividad física han ayudado a disminuir en un 50% los padecimientos por enfermedades cardiovasculares.

Estudios actualizados indican que el incremento en la incidencia en enfermedades cardiovasculares está relacionada con cambios en el estilo de vida²⁵.

3.5.2 Regulación de la función ventricular²¹

La función ventricular global depende de la interacción de 4 factores que regulan el volumen de la sangre expulsado por el corazón (volumen minuto). Tres de ellos, la precarga, la poscarga y la contractilidad, determinan el volumen de sangre que expulsa el corazón con cada latido o

volumen de eyección, mientras que la frecuencia cardiaca actúa directamente sobre el volumen minuto, figura 13. Todos estos factores están influenciados por el tono simpático.

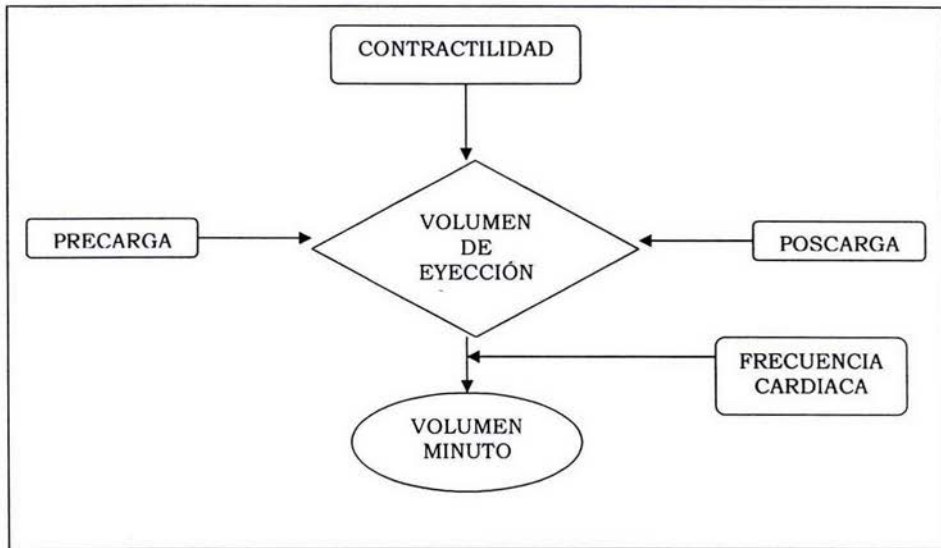


Figura 13. Factores que regulan la función ventricular²¹.

La precarga o fuerza que distiende el miocardio antes de contraerse está representada por la presión de la pared ventricular al final de la diástole. Por ello se ha equiparado la precarga a la presión telediastólica del ventrículo izquierdo.

La poscarga es la fuerza contra la cual se contrae el músculo cardiaco, es la fuerza que debe desarrollar el ventrículo para abrir las válvulas sigmoideas y enviar la sangre a las arterias aorta y pulmonar. En la práctica clínica la poscarga se equipara a las resistencias vasculares

periféricas, que son el principal componente de resistencia contra el que ha de operar el ventrículo como bomba.

La contractilidad es la fuerza que desarrolla el corazón al contraerse. Como se mencionó anteriormente este parámetro está determinado por la concentración de calcio intracelular libre, $[Ca^{2+}]_i$ y el tono simpático.

La frecuencia cardíaca está controlada por el tono vegetativo.

3.5.3 Clasificación de la Insuficiencia Cardíaca según la New York Heart Association (NYHA)²⁶.

Esta asociación ha dividido a los pacientes con alguna enfermedad cardíaca en 4 clases:

Clase I. Pacientes con enfermedad cardíaca sin limitación de la actividad física. La actividad física habitual no produce disnea o fatiga excesivas.

Clase II. Pacientes con enfermedad cardíaca que lleva a una ligera limitación de la actividad física. Asintomático durante el reposo. La actividad física habitual produce disnea o fatiga.

Clase III. Pacientes con enfermedad cardíaca que lleva a una marcada limitación de la actividad física.

Asintomático durante el reposo. Una mínima actividad física produce disnea o fatiga.

Clase IV. Pacientes con una enfermedad cardíaca que lleva a una incapacidad para realizar cualquier actividad física sin molestias. Los

síntomas de IC pueden estar presentes aún en reposo. Cualquier actividad física incrementa los síntomas.

En la IC crónica de carácter grave puede haber una gran pérdida de peso y caquexia debida a: (a) elevación de las concentraciones circulantes del TNF- α , (b) aumento de la tasa metabólica; que debe, en parte, al trabajo extra que realizan los músculos respiratorios, al incremento de las necesidades de oxígeno del músculo cardíaco a las molestias asociadas a la IC grave, (c) anorexia, náuseas y vómitos; debidos a causas centrales, intoxicación digitalica o hepatomegalia congestiva y plenitud abdominal, (d) alteración de la absorción intestinal debida a la congestión venosa, y (e) raras veces en los pacientes con una insuficiencia derecha, a una enteropatía con pérdida de proteínas⁶.

Desde la década de 1950, sucesivos modelos trataron de explicar la fisiopatología de la insuficiencia cardíaca. El primer modelo fue el cardio-renal, que consideraba a la IC como la interrelación entre un corazón incapaz de bombear sangre suficiente a los tejidos y un riñón poco apto para desembarazarse de la sobrecarga hidrosalina. En esta época se usó como tratamiento a la digital y a los diuréticos. En la década de 1970 surgió el modelo cardio-circulatorio con la comprensión del concepto de precarga, postcarga y contractilidad. Esto coincidió con la introducción del catéter de Swan-Ganz. Así el pilar fundamental del tratamiento de la insuficiencia cardíaca fueron los vasodilatadores¹⁶¹. Posteriormente se observó que no todos los vasodilatadores producían beneficios clínicos. Así

los inhibidores de la enzima de conversión de angiotensina tenían ventajas sobre el resto contribuyendo a consolidar el desarrollo del tercer modelo o neurohumoral^{113,114}. De esta forma se entiende a la IC como el resultado de la oposición entre sistemas vasoconstrictores, retenedores de sodio y agua, y prohipertróficos en contraste a los sistemas vasodilatadores, diuréticos, natriuréticos y antihipertróficos. Pero con este modelo neurohormonal no se agota la comprensión de esta enfermedad. La mortalidad sigue siendo elevada y una serie de hallazgos clínicos marcan el comienzo de un nuevo modelo complementario al resto llamado "modelo inflamatorio de la insuficiencia cardíaca" que representa un papel fundamental sobretodo en las etapas finales de esta enfermedad^{157,158,159}.

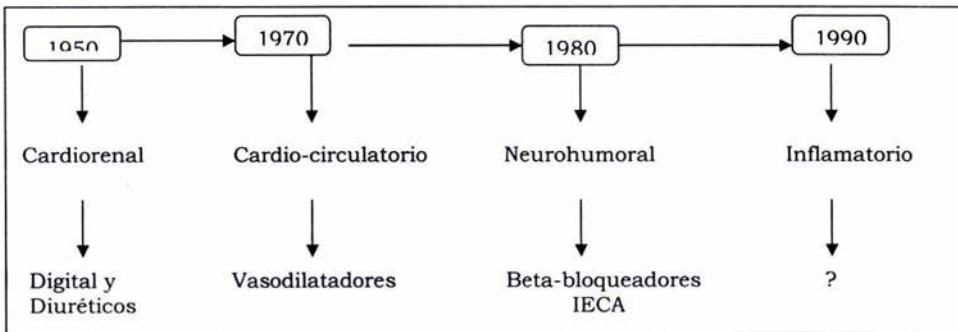


Figura 14. Modelos de insuficiencia cardíaca. Fisiopatología y tratamiento de la IC.

4.0 Cambios de las citocinas neurohumorales.

Los estudios realizados en la década de 1960 demostraron la presencia de concentraciones incrementadas de noradrenalina¹¹³ y su contenido reducido en el músculo cardiaco de pacientes con IC¹¹⁴. Ahora es claro que las condiciones de reducción del gasto cardiaco y/o un incremento en el estrés de la pared es por la participación de un número de sistemas neurohumorales como es el caso del sistema adrenérgico; renina angiotensina-aldosterona y sistema neurohipofisiario-hipotalámico. También existe una liberación de endotelina del lecho vascular. Inicialmente la activación de estos sistemas sirven para mantener la presión arterial y por lo tanto la presión de perfusión cerebral y coronaria. El volumen sanguíneo es conservado en presencia de hipovolemia o es expandido en caso de IC; más tarde la contracción del ventrículo se intensifica por el movimiento hacia arriba del ventrículo insuficiente en la curva de Starling^{113,114}.

Mientras que la activación de estos sistemas es claramente adaptativa a corto tiempo en la insuficiencia cardiaca aguda y choque hipovolémico, es claro que en la década de 1980 se determinó que la activación persistente estaba mal adaptada en la insuficiencia cardiaca crónica. Así la activación continua del sistema adrenérgico incrementa la postcarga ventricular y por lo tanto la carga hemodinámica se localiza en el ventrículo. Al mismo tiempo la activación de este sistema incrementa la frecuencia cardiaca y el gasto de energía, lo que puede causar hipertrofia, isquemia, taquiarritmias

y daño a los miocitos a través de la sobrecarga de Ca^{2+} o apoptosis¹¹². A nivel miocardio existe una sobrerreactividad adrenérgica. La observación original fue que el contenido cardiaco de la noradrenalina estaba reducido o depletado en el corazón humano insuficiente ¹¹⁴. Ahora sabemos que esta depleción de este neurotransmisor de los almacenes, es el resultado de la liberación aumentada y sostenida así como de la disminución en su recaptura ^{115,116}, resultando de una exposición constante de la noreadrenalina con cierta cardiotoxicidad^{117,118}. La exposición adrenérgica β en forma crónica, muestra inducir la expresión de citocinas proinflamatorias $\text{TNF-}\alpha$, IL-1 e IL-6, lo cual puede empeorar la contracción cardiaca, promover la dilatación de la cavidad y como consecuencia generar el fenotipo de la cardiomiopatía. La reacción del corazón a este proceso mal adaptado es fácilmente determinada mediante la densidad de los receptores adrenérgicos β_1 , las proteínas G acopladas a los receptores β_1 y β_2 , la estimulación de la adenililciclase por los receptores β_1 y β_2 y el AMPc reducidos en los corazones severamente insuficientes^{117,118,119}. La pérdida de los mecanismos en la insuficiencia cardiaca conduce a que, la fosfolamban en el estado no fosforilado empeora los movimientos de Ca^{2+} e interfiere con la contracción cardiaca y la relajación¹²⁰. Además las variantes genéticas de los receptores adrenérgicos β pueden estar asociados con la progresión rápida de la IC ^{121,122}, figura 15.

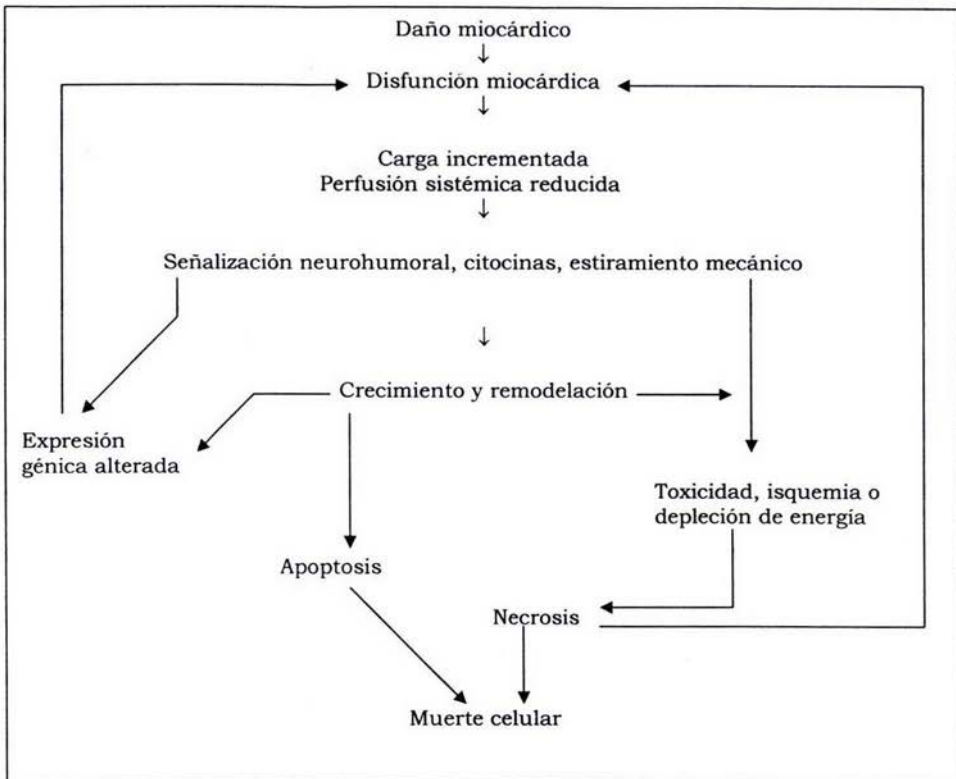


Figura 15. Papel central de las vías de señalización neurohumorales, citocinas y mecánicas (aumento del estrés de la pared) en la producción de los efectos biológicos adversos conduce a la disfunción miocárdica progresiva y remodelación.

La IC está también caracterizada por las concentraciones elevadas de angiotensina II, un vasoconstrictor que incrementa la postcarga ventricular y causa hipertrofia miocítica, apoptosis, fibrosis intersticial, remodelación cardíaca y vascular, además de secreción de aldosterona. Más tarde la angiotensina II juega un papel muy importante en la remodelación, la proliferación de fibroblastos y el depósito de colágena¹²³. Estos cambios incrementan la rigidez pasiva de los ventrículos y del lecho vascular, interfiriendo con el llenado del ventrículo y reduciendo el

acatamiento arterial. Los inhibidores del Sistema Renina Angiotensina aldosterona (SRAA) como los inhibidores de la Enzima Convertidora de Angiotensina (ECA), antagonistas AT₁ e inhibidores de la aldosterona ejercen efectos satisfactorios en la IC. De hecho los inhibidores de la ECA son considerados como primera elección para el manejo de la IC y de la mayoría de formas de hipertrofia cardíaca¹²³.

Esto incrementa la evidencia del “entrecruzamiento” entre el Sistema Adrenérgico y el SRAA. En los pacientes con IC, la inhibición de la ECA ha mostrado reducir la intensidad del impulso de los nervios simpáticos¹²⁴ más la dirección adrenérgica¹²⁵ y los efectos benéficos de los inhibidores de la ECA parecen ser prominentes en pacientes con activación adrenérgica¹²⁶. La vasopresina (AVP) es sintetizada en el hipotálamo y se almacena en la neurohipófisis; su liberación es intensificada por estímulos osmolares así como también concentraciones elevadas de noradrenalina y angiotensina II. La liberación de AVP en la insuficiencia cardíaca causa vasoconstricción a través de los receptores V₁, retención de agua e hiponatremia diluida. Múltiples moléculas de señalización incluyendo angiotensina II, NA, AVP e IL-1, estimulan la producción de endotelina la cual por activación de los receptores E_A contrae el tejido muscular liso. La concentración de la endotelina circulante es un importante predicador de la IC ¹²⁸ y las vías de crecimiento por endotelina son al parecer importantes determinantes de la remodelación patológica ¹²⁹. El bloqueo de la endotelina y de la AVP muestran efectos benéficos en pacientes y

modelos experimentales de IC ^{130,131}. El endotelio vascular también produce óxido nítrico (NO), pero la respuesta a esta sustancia está reducida en la IC, contribuyendo a la vasoconstricción característica bajo estas condiciones.

4.1 Citocinas proinflamatorias.

Además de la activación humoral un número de citocinas proinflamatorias incluyendo TNF- α e IL-1 β están sobreexpresadas en el corazón insuficiente¹³². El TNF- α es producido en el miocardio y se incrementa en la circulación sanguínea¹³³. TNF- α es producido como una consecuencia de la sobrecarga de volumen y provoca respuestas inflamatorias (cardíacas) locales y sistémicas. Lo anterior incluye la caquexia y la miopatía muscular esquelética característica de la insuficiencia cardíaca¹³³; y más tarde provoca inflamación miocárdica, proliferación celular y apoptosis intensificando así la IC¹³⁴. En ratones transgénicos que sobreexpresan TNF- α desarrollan miocarditis, IC y acortamiento en la sobrevivencia ^{135,136}. El TNF- α también activa la transcripción de factores como de enzimas involucradas en la transducción de señales que inducen un número de genes, incluyendo el programa génico fetal y aquellos que codifican factores de crecimiento, receptores y proteínas de choque térmico ¹³⁷. La liberación del TNF- α en el corazón y otras citocinas activan la sintetasa del óxido nítrico, enzima que intensifica la síntesis del NO, la cual puede empeorar la función miocárdica. La infusión de receptores

solubles para bloquear la acción del TNF- α en el corazón provocó una disminución de la depresión de la función ventricular en ratas a las que se sometieron a una infusión con la citocina¹³⁴. Estudios recientes con este receptor hace prometedor su uso en pacientes con insuficiencia cardiaca¹³⁸. El contenido del TNF- α miocárdico se reduce por la sobrecarga ventricular con el aparato de asistencia ventricular¹³⁹ y esto puede jugar un papel en la reversión de la IC¹³⁹.

En forma simple la idea entre la función cardiaca y los sistemas neurohumorales y citocinas, es que el empeoramiento de la función cardiaca causada por el daño miocárdico activa estos sistemas, los cuales pueden conferir una respuesta benéfica en la IC aguda. Sin embargo su activación crónica causa daño miocárdico adicional y más tarde depresión de la función cardiaca por la hipertrofia y apoptosis así como por la remodelación y la fibrosis de los ventrículos, lo que establece un círculo vicioso. Afortunadamente la mayoría de estos procesos mal adaptados pueden ser bloqueados, ya sea previniéndolos o interrumpiéndolos¹⁴⁰.

4.2 TNF- α en el corazón

Las evidencias indican que las citocinas son mediadores importantes en las enfermedades cardiovasculares²⁸⁻³⁶. El trabajo entendible de las citocinas inflamatorias y su relación con enfermedad miocárdica ha sido de gran importancia para los científicos clínicos y básicos cardiovasculares e inmunológicos. En este aspecto, el TNF- α es una citocina

proinflamatoria que está implicada en la patogénesis de las enfermedades cardiovasculares, incluyendo infarto agudo del miocardio, insuficiencia cardíaca crónica, aterosclerosis, miocarditis viral, y sepsis asociada a la disfunción cardíaca^{28,31,35}. Las evidencias indican que los miocitos cardíacos por sí mismos producen cantidades importantes de TNF- α en respuesta a la isquemia²⁹.

Clinicamente, la isquemia es estimulante relevante que inducen la producción de TNF- α en el corazón. Las vías de señalización intracelulares que provocan la producción de TNF- α , están siendo dilucidadas³⁷. El descubrimiento de las Proteínas Activadas por Mitógeno (MAPK) y los factores de transcripción de TNF ofrecen blancos estratégicos anti-TNF- α . Además la activación de estrategias antiinflamatorias endógenas tal como los ligandos para la subunidad de glucoproteína 130 (gp130), la inducción de las proteínas de choque térmico (HSP), y la infusión de las proteínas de unión a TNF- α hacen prometedoras estas aplicaciones terapéuticas³⁷.

El control del papel destructivo del TNF- α en enfermedades cardiovasculares representa una meta importante para la medicina clínica y son: (a) analizar las evidencia implicadas en el miocardio como una fuente importante de TNF- α , (b) dilucidar los mecanismos de la disfunción cardíaca inducida por TNF- α , (c) delinear los mecanismos de la apoptosis inducida por TNF, (d) delinear clínicamente los pasos de señalización accesibles que conducen a la producción de TNF- α , y (e) identificar

estrategias terapéuticas para prevenir enfermedades cardiovasculares mediante TNF- α .

4.2.1 TNF- α es una citocina proinflamatoria.

Las citocinas proinflamatorias actúan para incrementar su propia producción y síntesis de mediadores inflamatorios pequeños tal como el factor activador de plaquetas (FAP), eicosanoides y radicales oxidativos. Las citocinas proinflamatorias también reclutan y estimulan los componentes celulares del sistema inmunitario³⁸.

Como se ha mencionado TNF - α es un citocina proinflamatoria que produce efectos inotrópicos negativos en el corazón. También el TNF- α es un pirógeno endógeno que estimula la producción de otros pirógenos endógenos, tales como la interleucina 1 β (IL-1 β) ^{38,10}. Ambas formas de TNF, TNF- α y TNF- β , tienen actividades inflamatorias semejantes. Sabemos que el TNF- β , primero descrito como “linfotoxina”, es una molécula grande, menos potente, no tan abundante, y producida principalmente por células T, mientras que los macrófagos son la fuente predominante de producción de TNF- α ^{39,10}.

4.2.2 Producción de TNF- α - miocárdico

La mayoría de los tipos de células no producen TNF- α , pero los macrófagos permiten la producción de TNF- α cerca de los órganos ⁴⁰. No es sorprendente que el corazón contenga macrófagos residentes y sea una fuente rica de varias citocinas inflamatorias, incluyendo TNF- α ⁴¹. Levine y col. ³² correlacionaron los niveles circulantes de TNF- α con la severidad de la insuficiencia cardiaca crónica en pacientes y ellos postularon que el TNF- α puede contribuir a la patogénesis de la insuficiencia cardiaca. Un incremento en la circulación del receptor soluble del TNF- α y del antagonista del receptor de IL-1 es consecutivo al infarto miocárdico ³¹. En efecto, el miocardio produce TNF- α por gramo de tejido (en respuesta a la endotoxina) como el hígado o el bazo, ambos poseen una gran población de macrófagos y son las principales fuentes de TNF- α . Inesperadamente, los miocitos cardiacos sintetizan TNF- α por si mismos. Kapadia y col. ⁴² demostraron que la producción de TNF- α miocárdico inducido por endotoxinas y eventualmente se distribuye entre los miocitos y macrófagos residentes. Entonces la producción local del TNF- α miocárdico es una fuente potencial de la afección de la función miocárdica⁴².

4.2.3 TNF- α en la insuficiencia cardiaca

Los mediadores neurohumorales autocrino/paracrino de la hipertrofia cardiaca incluyen a la noradrenalina (vía adrenérgica α o β), Angiotensina II, Endotelina 1, factor de Crecimiento de Fibroblastos, Factor de Crecimiento Transformante β_1 , las citocinas proinflamatorias TNF- α e interleucina 1β y la señalización de la gp130. Estos agonistas transmiten sus señales a través de la transducción de señales de proteínas como Ras, $G\alpha_q$ y $G\alpha_s$ para activar a una familia de enzimas como proteína cinasa C [PKC], MAPK y cinasas Raf-1, que inducen el programa del gen fetal. La activación de las isoformas de la proteína cinasa C acopladas a proteínas G estimulan la hipertrofia, la cual puede conducir a cardiomiopatía fibrótica^{108,109} y PKC- β son “sobrereguladas” en el corazón humano¹¹⁰.

4.2.4 Estimulación relevante clínica de la producción del TNF- α miocárdico

Aunque la infección y la endotoxemia son estimulantes potentes de la producción de TNF- α miocárdico, varios estudios han documentado el incremento en el TNF- α y otras citocinas seguidas de la isquemia y reperfusión⁴¹, infarto miocárdico clínico²⁸, insuficiencia cardiaca crónica⁴³, entre otras. Utilizando la localización inmunohistoquímica del TNF- α , se ha observado un incremento de éste en el miocardio de humano. Este aumento se observó en miocitos y células intersticiales. Además el TNF- α

producido localmente puede ser un contribuidor importante a la disfunción miocárdica postisquémica, apoptosis y/o hipertrofia ^{44,45,46}.

4.2.5 Efectos sobre la disminución de la función contráctil del miocardio por TNF- α .

Los efectos hemodinámicos del TNF- α son caracterizados por la disminución de la eficiencia contráctil miocárdica y la fracción de eyección, hipotensión, resistencias sistémicas vasculares disminuidas, y la dilatación biventricular ⁴⁷. Gulick y col. ⁴⁸ demostraron que el TNF- α (o IL-1) inhibieron la respuesta adrenérgica en el miocito cardiaco "in vitro". De manera similar, la depresión de la función miocárdica inducida por el TNF- α (o IL-1) fue demostrada por Finkel y col. ⁴⁹ en la preparación del músculo papilar.

La expresión de TNF - α , se disminuye significativamente después de la descarga ventricular prolongada. La regulación de expresión de TNF- α es como si íntimamente se uniera a las condiciones de la carga hemodinámicas⁵⁶.

4.2.6 Mecanismos de la disfunción contráctil inducido por TNF- α

Debido a que la homeostasis del calcio es importante en el ciclo de contracción-relajación, varios investigadores han analizado los efectos del TNF- α sobre el manejo del calcio miocárdico. Además de la regulación

coordinada y precisa del calcio intracelular que media la contracción sistólica, relajación diastólica, actividad enzimática y función mitocondrial⁵⁰. La interrupción en el manejo del calcio inducida por TNF- α puede conducir a la disfunción en el acoplamiento excitación-contracción y por lo tanto a una disfunción sistólica y/o diastólica. La valoración del manejo del calcio miocárdico puede ser acompañado por alguna de estas cuatro vías: (a) el estado contráctil cardiaco puede ser valorado como desarrollo de la fuerza o presión, (b) la disposición del calcio sarcolémico está reflejado en el potencial de acción, (c) la disposición del calcio del retículo sarcoplasmático está demostrado por el calcio transitorio, y (d) el complejo regulatorio de los miofilamentos se muestra por la asociación entre el calcio transitorio y la fuerza de contracción. El calcio transitorio representa la transición del estado de reposo a la contracción, lo cual se presenta cuando una pequeña cantidad de calcio entra al citosol vía canales de calcio tipo-L voltaje-dependientes, lo que resulta de una liberación más alta de calcio del retículo sarcoplasmico de los canales que liberan calcio vía receptor ryadodine. Estos dos canales de calcio tienen una comunicación y entrada del calcio está influenciada por la otra. Yokoyama y col..⁵¹ determinaron que después de la administración de TNF- α , la amplitud del calcio transitorio fue disminuyendo durante la sístole, El TNF- α parece deprimir la función sistólica por alteración de la liberación de calcio inducida por calcio del retículo sarcoplásmico. Además el TNF- α altera el influjo de calcio inducido por el canal tipo-L y

por lo tanto deprime el calcio transitorio ⁵². Corroborando estos hallazgos, Oral y col. ³⁵ demostraron que los efectos tempranos del TNF- α sobre el calcio transitorio y la función sistólica fueron mediadas por esfingosina. El NO parece mediar la desensibilización de los filamentos al calcio intracelular inducida por TNF- α . Estos hallazgos indican que la inducción del TNF- α , la alteración de la inducción del calcio por la liberación de calcio mediante la esfingosina se presenta tempranamente y que el NO media la desensibilización de los miofilamentos por el incremento del calcio intracelular inducido por TNF- α ⁵⁴.

Además de la alteración de la homeostasis del calcio, los mecanismos por los cuales el TNF- α causan disfunción miocárdica incluye la citotoxicidad directa, el estrés oxidativo, alteración del acoplamiento excitación-contracción, y la apoptosis miocítica, así como también la inducción de la depresión cardíaca tales como IL-1, IL-2, e IL-6 ^{49,55}. En efecto, la IL-1 intensifica la inducción del TNF- α y la citotoxicidad ⁵⁶. Finkel y col. ⁴⁹ demostraron que la inhibición de la sintasa del NO (NOS) previene los efectos depresivos cardíacos tanto del TNF- α o IL-1, concluyendo que los efectos inotrópicos negativos fueron mediados por el NO. El LPS, TNF- α e IL-1 cada uno de ellos induce NOS y aumenta la guanina 3',5' guaninmonofosfato cíclico (GMPc), el cual media los efectos del NOS en otros tipos de células ⁵⁷.

La naturaleza biofísica (inmediato y tardío) de la depresión del miocárdico inducida por TNF- α sugiere que éste induce efectos inotrópicos negativos

por lo menos por dos mecanismos diferentes ⁵⁸, figura 16. La fase temprana de la depresión funcional inducida por TNF- α se presenta en minutos, mientras que la fase tardía parece requerir de horas de exposición al TNF- α ³⁴. El TNF- α no puede inducir rápidamente niveles altos de NO suficiente para deprimir al miocardio en la fase temprana. Considerando, que los metabolitos del esfingolípidos son segundos mensajeros que inducen estrés y participan en la transducción de señales intracelulares después de la unión del TNF- α al receptor tipo 1⁵⁹ (TNFR1). Dos características importantes de metabolitos del esfingolípidos condujeron a la hipótesis que el la esfingosina media la disfunción contráctil miocárdica inducida por TNF- α : 1) es rápidamente producida por los miocitos cardíacos (degeneración de la vía de esfingomielina) después de los receptores TNFR1⁶³, y 2) la esfingosina disminuye el calcio transitorio por el bloqueo del receptor ryadodine, el cual media la liberación de calcio inducida por calcio del retículo sarcoplásmico. El bloqueo de la producción de la esfingosina abolió la disfunción contráctil inducida por TNF- α , y la administración de esfingosina replicó la depresión contráctil inducida por TNF- α en relación dependiente de la dosis. Esto parece decir que la esfingosina media la depresión temprana (independiente NO) y que el NO media la disfunción tardía inducida por TNF- α .

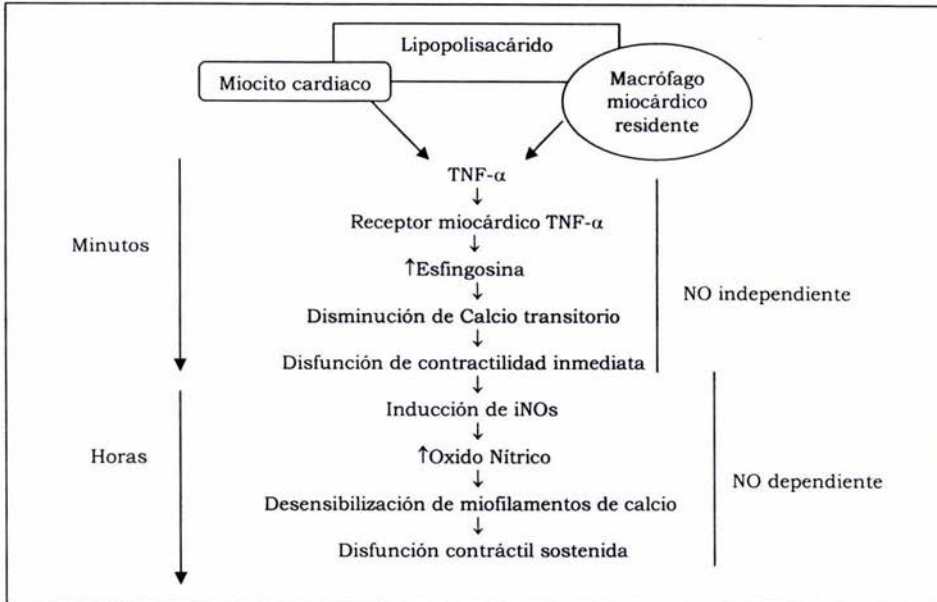


Figura 16. Vía de NO dependiente y NO independiente. La vía de NO dependiente dura horas, mientras que la vía de NO independiente dura algunos minutos.

4.2.7 Apoptosis miocárdica inducida por TNF-α

La muerte celular programada (apoptosis) es un proceso por el cual las células sufren suicidio celular no necrótico.

El término proviene del griego y significa "caída" (como la de las hojas de los árboles o los pétalos de una rosa) y fue acuñado en 1972 por Kerr, Wyllie y Currie⁶⁰ para definir "un mecanismo muy poco conocido de eliminación controlada de células, el cual cumple un papel complementario, pero opuesto a la mitosis, en la regulación de las

poblaciones animales". el proceso de apoptosis, en su manifestación universal, recibe el nombre de muerte celular programada (MCP)^{61,62} .

El TNF- α induce apoptosis en la mayoría de los tipos de células incluyendo el miocardio. Krown y col. ⁴⁴ demostraron que la apoptosis del miocito cardiaco inducido por TNF- α , es por medio de un mecanismo dependiente de esfingosina. El TNF- α induce la formación de la esfingosina el cual media la apoptosis en otro tipo de células ⁶⁴.

El grado de atrofia del músculo pone en correlación con la magnitud de apoptosis y la severidad de la Insuficiencia cardiaca congestiva (ICC) y es acompañado por niveles del plasma elevados de factor de necrosis de tumor - α (TNF- α)⁵⁵.

El TNF- α induce apoptosis del miocito cardíaco vía TNFR1, figura 17. La unión a este receptor o a Fas activa una vía que favorece la apoptosis, mientras que TNFR2 activa una vía conduciendo a la inducción del NF κ B. El TNFR1 y Fas están unidas a proteínas citoplasmáticas las cuales están señaladas como dominios de muerte TRADD ⁶⁵ y FADD⁶⁶.

La unión del TNF al TNFR1 o Fas puede resultar en cambios conformacionales en TRADD y FADD que permite la unión a RIP. Este inicia la comunicación intranuclear que activa las endonucleasas para destruir el DNA nuclear de las células. Los TNFR2 están unidos a los factores asociados al receptor de TNF (TRAF) ⁶⁶, figura 17. Aunque su función biológica permanece desconocida, la mayoría de los TRAFs contienen dos proteínas llamadas "zinc" y "anular" que al parecer llevan

señales proliferativas por la activación de factores de transcripción como el NFκB ⁶⁷. Estas vías no son absolutas, sin embargo, puede existir una activación cruzada ⁶⁷.

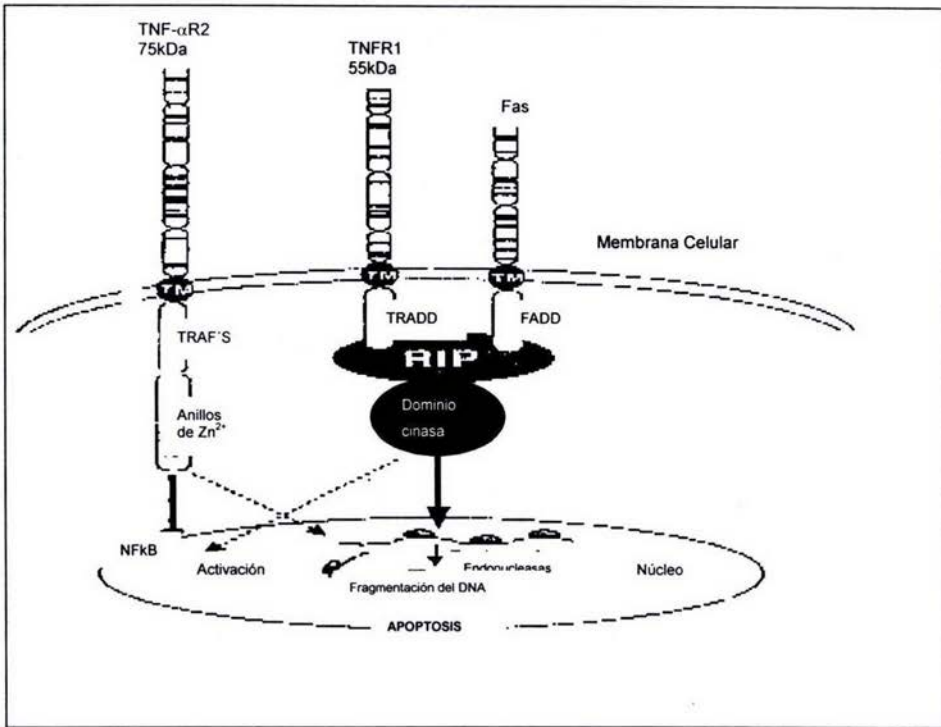


Figura 17. Apoptosis miocárdica, inducida por TNF; mediante diferentes vías.

4.2.8 Apoptosis del miocito cardiaco insuficiente

Un componente importante del proceso de remodelación y de la transición de la hipertrofia adaptativa a la IC, es la apoptosis de los miocitos cardiacos o la muerte celular programada¹¹¹. Este programa genético es estimulado por una variedad de factores incluyendo hipoxia; la actividad

aumentada por las proteínas G acopladas a través de la activación de los receptores adrenérgicos α y β , angiotensina II y TNF- α , daño en la mitocondria, sobrecarga de Ca^{2+} en el miocito, causas diversas de daño celular incluyendo los radicales libres de O_2 , la activación de ciertos receptores de la membrana (receptores Fas) y la acción de una clase de proteasas específicas, las caspasas. Posteriormente las proteínas blanco se degradan en el núcleo, citoesqueleto y mitocondria. El estiramiento de las sarcómeras “in vitro” da como resultado la liberación de angiotensina II de las células cardíacas lo que dispara la muerte celular “in vivo” ¹¹².

La disminución marcada en la apoptosis en preparaciones experimentales, ha sido encontrada con el bloqueo adrenérgico β , inhibición de la ECA y bloqueo de la angiotensina II de los receptores AT_1 ¹¹².

La pérdida celular vía apoptosis o necrosis une la expresión alterada de genes resultantes de la contracción en los dos procesos fundamentales que pueden producir disfunción miocárdica progresiva en la insuficiencia cardíaca en el humano.

4.3 Producción de TNF- α

El entendimiento de los mecanismos intracelulares que llevan a la producción de TNF- α pueden inducir la alteración blanco de las condiciones patológicas mediadas por esta citocina. En la mayoría de los tipos celulares, el gen de TNF- α está reprimido pero puede estar disponible en las célula que expresan los mecanismos de señalización y la

transcripción requerida para la producción de TNF- α . Debido a que los macrófagos son la fuente principal de TNF- α , se han estudiado los mecanismos de producción de TNF- α exclusivamente en estas células^{37,10}. Los mecanismos que conducen a la producción de TNF- α parecen ser múltiples. De hecho, varias vías intracelulares participan en la cascada de señalización activada por el LPS, lo que contribuye a la producción y liberación de mediadores proinflamatorios derivados de macrófagos.

Se analizan aquellos eventos del mecanismo de señalización conocidos para llevar al macrófago la producción de TNF- α y de alguna manera considerarlos para la terapéutica³⁷.

El LPS se une a una variedad de proteínas séricas y tanto positiva como negativamente influyen en la respuesta proinflamatoria mediada por el macrófago⁶⁸. De éstos, la proteína unida al LPS (LBP) está bien caracterizada. La LPB facilita la unión del LPS al macrófago CD14. CD14 es el receptor específico del macrófago para el LPS. La LBP se requiere para la unión del LPS a CD14. Bajo circunstancias normales, la interacción de LPS mediante la LBP con su receptor CD14, es un punto importante de la señalización intracelular que transmite la producción de TNF- α inducido por LPS. De hecho, Lee y col.⁷⁰ demostraron que el anticuerpo monoclonal anti-CD14 abolió la activación del macrófago y no se produjo TNF- α . Aunque CD14 es un receptor específico, el CD14 intensifica la activación inducida por el LPS en las células tanto endoteliales como epiteliales. Endógenamente, el CD14 actúa en sitios

alejados para reforzar la activación inducida por LPS de otros tipos celulares y pareciendo paradójico, la dosis farmacológica alta del exógeno soluble CD14 disminuyeron la interacción de LPS con el receptor del macrófago CD14. Por lo tanto, Haziot y col. ⁷¹ valoraron la mortalidad en ratones tratados con LPS utilizando concentraciones saturadas de CD14 soluble,.

La interacción de LPS-LPB-CD14 provoca una activación rápida de la Proteintirosinacinasasa (PTK) causando fosforilación de la tirosina de varias proteíncinasas intracelulares ⁷², figura 18. La PTK activa una vía que involucra una proteíncinasasa (MEK)/MAPK/NFkB) de mitógeno activado/Raf-1/Ras ⁷³. Varios estudios demostraron que LPS activa PTK y que la inhibición de esta proteína abolió la activación hacia abajo de la producción de MAPKs, TNF e IL1 y la actividad tumoricida mediada por el macrófago ⁷⁴. Raf-1 es un intermediario importante a la activación de MAPK. Estudios de Reiman y col. ⁷⁵ demostraron que LPS resultó de la fosforilación rápida dependiente de PTK y de la activación de Raf -1.

Raf-1/MEK parecen activar a los miembros de la familia de MAPK; de éstas la MAPK p38 parece ser el pivote de las MAPK en la cascada que conduce a la inducción de la transcripción del gen de TNF- α . Han y col. ⁷² aislaron una proteíncinasasa de 38-kDa del macrófago, la cual fue fosforilada después del tratamiento de LPS. Durante el mismo periodo. Lee y col. ⁷⁷ fueron buscando las proteínas blanco de una nueva clase de fármacos anti-inflamatorios (pirimidilimidazoles) capaces de inhibir la producción de

monocinas proinflamatorias inducidas por el LPS. Los Piridinilimidazoles, los cuales inhiben la producción de las monocinas proinflamatorias son inhibidores muy selectivos de la proteína p38 y de los productos hacia abajo de la cascada pero no de la activación de Ras o Raf-1 ⁷⁷. Entonces la interacción del LPS con CD14 conduce a la fosforilación rápida de la tirosina intracelular de Ras, un proceso que inicia la cascada de la proteínkinasa conduciendo a la activación de NFκB y producción de TNF-α⁷⁷.

Poco se sabe acerca de los mecanismos de la producción de TNF-α inducido por reperfusión e isquemia miocárdica ⁴¹. La reperfusión del miocardio isquémico impone una carga oxidativa en la cual el producto de la reducción del oxígeno molecular, peróxido de hidrógeno lo que contribuye al daño del miocardio ⁷⁸. La activación inducida p38 de la MAPK inducida por el peróxido de hidrógeno puede contribuir a la producción de TNF-α inducida por la isquemia y reperfusión miocárdica.

En la mayoría las células, NFκB existe en un estado latente incapaz de inducir la producción de TNF⁷⁹. En este estado el NFκB está unido a sus proteínas inhibitorias, en conjunto llamadas inhibitorias κB (IκB), las cuales enmascaran su localización nuclear. Sin embargo, después de la activación por reperfusión isquémica (o por LPS), la fosforilación de IκB resulta en la ruptura del complejo NFκB-IκB y la degradación de IκB ⁸⁰. A la vez liberado del IκB, el NFκB se transloca del citoplasma al núcleo, donde se acopla al ADN en una de las cuatro sitios de unión del NFκB

(promotor del TNF- α)⁸¹. Eliminar los cuatro sitios de unión del NF κ B promovió a la inhibición de la producción del TNF del macrófago⁸¹. I κ B puede ser fosforilado por MAPK; sin embargo, es notable que Raf-1 es un componente hacia arriba de esta vía y es capaz de activar al NF κ B⁸¹. Entonces el NF κ B es activado tanto por la fosforilación del I κ B como por el estrés oxidativo después del cual se transloca al núcleo para activar la transcripción del gen de TNF- α .

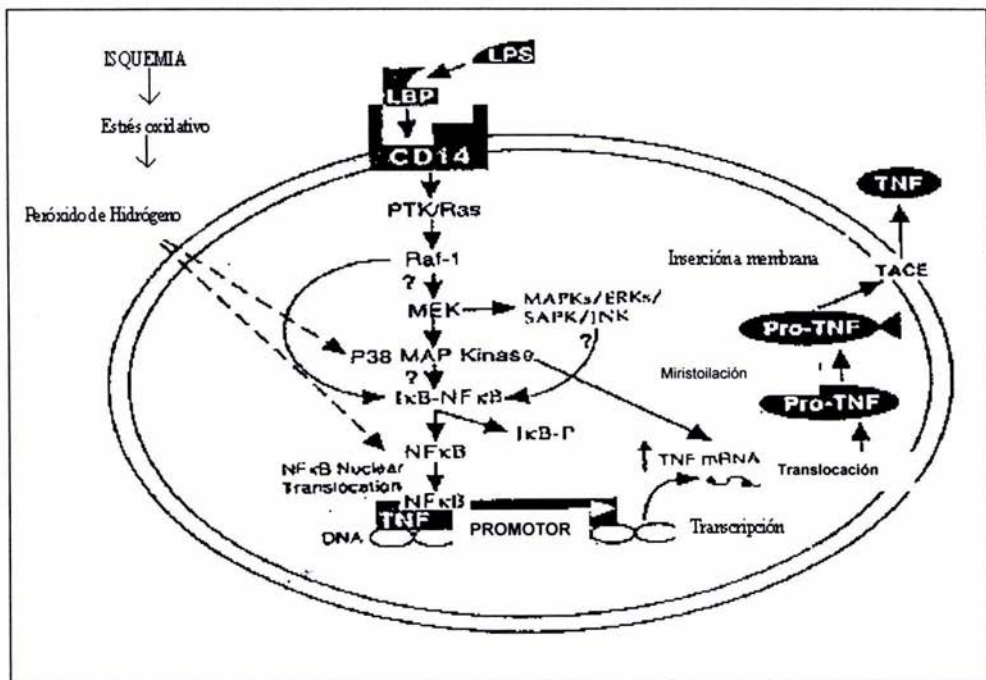


Figura 18. Producción de TNF. Vías de inducción para la producción de TNF.

4.3.1 Proceso de postraducción del TNF- α

Una vez que la transcripción del gen de TNF- α ocurre, el RNAm de TNF es traducido en el precursor de 26-kDa de TNF- α en el citoplasma ⁸². La miristoilación en el citoplasma facilita la inserción/asociación, donde es partido por una Enzima Convertidora de TNF- α (TECA). La maduración del TNF- α de 17-kDa es liberado al espacio extracelular. Este proceso es similar al proceso de postraducción de la pro-IL-1B, la cual es convertida a su forma madura a través de la enzima IL-1 β -convertidora (ICE) ⁸³. Los inhibidores de las metaloproteinasas suprimen el procedimiento de la TECA del pro-TNF- α y disminuye la liberación de este estimulada por el LPS ⁸². Los inhibidores de las metaloproteinasas son no específicos e inhiben la actividad enzimática de varias colagenasas. De manera interesante, los inhibidores del ICE no previenen la liberación del precursor de IL-1B en el espacio extracelular, mientras que los inhibidores de la TECA previnieron la liberación del precursor del TNF- α ⁸². Esto sugiere que, en contraste con IL-1B, sólo la forma madura del TNF es liberada. Así la TECA puede ser un paso limitado en la liberación del TNF- α .

4.4 Estrategias terapéuticas

El TNF- α contribuye a la disfunción contráctil del miocardio y muerte celular, esto sí se produjo como resultado de la isquemia, infarto miocárdico, IC o sepsis . Las perspectivas futuras sobre el bloqueo de la transcripción y/o la actividad biológica, aún son discutidas y cada una sugiere una terapia potencial ^{29,30,38,55,68,84,85,86}.

Evidencias adquiridas de los grandes ensayos clínicos aleatorios con inhibidores de ECA y más recientemente con adrenérgicos β -bloqueadores en pacientes con IC avanzada indica que la progresión de la IC puede atenuarse, y quizás en algunos casos, el trastorno cardíaco puede ser invertido²⁹.

Ratas tratadas con irbersartan disminuyeron niveles de TNF- α pero no fue así con ratas tratadas con nifedipina²⁸.

Ohtsuka y col. mostraron que el uso de metoprolol y bisoprolol en 32 pacientes con IC congestiva II-III redujo las concentraciones plasmáticas del TNF- α , y que esta reducción está estrechamente relacionado con la disminución de la IL-10 y del receptor soluble sTNFR2. Otros trabajos confirman estos resultados, reportando una falta de reducción de las concentraciones de IL-6 con el uso de adrenérgicos β -bloqueadores. Los estudios con iECA o con amlodipina mostraron una reducción significativa en las concentraciones plasmáticas de la IL-6, sin observar una reducción en los niveles del TNF- α . Estos resultados indicarían que el

tratamiento con iECAs y algunos antagonistas de los receptores de calcio no pueden afectar al TNF- α ⁸².

Quizá la estrategia más interesante fue el uso de receptores solubles recombinantes del TNF- α (ETANERCEPT), indicados con el fin de inhibir los efectos de esta citocina en el miocardio.

4.4.1 Inhibición de la transcripción de TNF- α

La interferencia selectiva con la transcripción de TNF puede ser una estrategia efectiva para inhibir producción de TNF- α ⁸⁷. Aunque la mayoría de las estrategias han sido enfocadas sobre la prevención de la actividad después de la liberación, agentes que prevengan la síntesis de TNF, pueden proporcionar beneficios adicionales cuando son utilizados solos o en combinación con agentes neutralizantes después de la liberación. Teóricamente, la alteración de la cascada de señalización en cualquier punto inhibirá de la producción de TNF- α antes de la transcripción. Sin embargo, esto no proporciona una inhibición selectiva de la producción de TNF- α . Debido a que en la cascada de la señalización, las enzimas de señalización inician otras vías importantes, así como aquellas que pueden producir TNF- α . Por estas razones, la inhibición más alejada tal como la inhibición de la proteína p38 de las MAPK o inhibición de NF κ B mantiene una atracción teórica, figura 19.

Los inhibidores de la p38 de la MAPK previenen la producción de monocinas proinflamatorias de los macrófagos⁸⁸. La p38 de las MAPK es

activada por endotoxinas, citocinas, peróxido de hidrógeno y el estrés oxidativo por la isquemia y reperfusión miocárdica ⁸⁹. Bogoyevitch y col. ⁹⁰ demostraron que la p38 de las MAPK está presente en corazón y que incluso esta proteína se activa por un evento breve de isquemia y reperfusión miocárdica. Estos investigadores correlacionaron su actividad con la severidad del daño. El piridinilimidazol como fármaco antiinflamatorio o supresor de citocinas inhiben a la p38 de la MAPK con alta especificidad. De hecho, la concentración eficaz máxima se encuentra en el rango nanomolar ⁸⁸.

El NFκB es un Factor de Transcripción del TNF-α que está presente en el corazón y es activado por el estrés oxidativo del miocardio ⁹⁹. Los ditiocarbamatos de pirrolidina (PDTC) son antagonistas eficaces del NFκB ⁸⁷; sin embargo ellos carecen de especificidad y poco se conoce sobre su bioactividad o efectos colaterales. El NFκB es activado por estrés oxidativo, por consiguiente, los antioxidantes poderosos como el PDTC previenen la activación de NFκB, figura 19. Además de la vitamina E y el glutatión por sus propiedades antioxidantes ¹⁰⁰. La unión del NFκB con HSP70 debe prevenir translocación intranuclear del NFκB y así lograr la inhibición antes de la transcripción de la producción de TNF-α .

4.4.2 Inhibición de la actividad de TNF- α

El TNF- α y la IL-1 sinérgicamente deprimen la función del miocardio ⁴⁵. Por lo tanto, bloqueando la actividad de TNF- α o de la IL-1 debería presentarse un sinergismo benéfico. En fase I, II, y III de los estudios clínicos analizaron la seguridad y la eficacia de anticuerpos monoclonales de anti- TNF- α , a los antagonistas de los receptores de TNF- α solubles e IL-1 en el tratamiento de pacientes con sepsis ¹⁰¹. Aunque los resultados globales de estos estudios fueron poco alentadores, se ha obtenido información importante en los subgrupos de la población de los paciente con riesgo. La manipulación de la anticitocina parece ser segura. La actividad máxima de TNF- α e IL-1 ocurre dentro de pocas horas del insulto y a menudo le precede administración de agentes anticitocina por horas o días en los estudios clínicos ¹⁰¹. El Pretratamiento de animales con varios anti- TNF- α ha sido una estrategia que previene la disfunción del miocardio inducido por las endotoxinas y la muerte ¹⁰¹. Por lo tanto la estrategia más eficaz sería en aquellos casos clínicos que permitan el pretratamiento. Debido a que el TNF- α ha sido implicado como un mediador potencial de la isquemia del miocardio y daño por reperfusión, la administración previa a la isquemia de las proteínas que se unen al TNF- α pueden reducir el daño del miocardio¹⁰¹.

El TNF- α sufre miristoilación después de la transcripción lo que promueve su introducción en la membrana e interacción dentro de la TECA ⁸², figura 19. Los inhibidores de las Metaloproteinasas suprimen el procedimiento

de TECA y la disminución de la liberación del TNF- α estimulada por el LPS. Estos inhibidores disminuyen la mortalidad producida por el LPS en ratones y puede representar una estrategia terapéutica para reducir actividad del TNF- α ¹⁰². Los inhibidores de las proteasas como aprotinina pueden ejercer efectos benéficos ¹⁰³. Usando exhalación de NO y la expresión de inhibición de NOS (iNOS) del epitelio pulmonar como marcadores de inflamación. Hill y col. ¹⁰³ demostraron que la aprotinina disminuye la inflamación inducida por desviación cardiopulmonar en humanos. De hecho, la aprotinina puede ejercer sus efectos anti-inflamatorios por disminución del TNF- α mediante TECA y por esto se pueden reducir la expresión de iNOS inducida por la producción del NO.

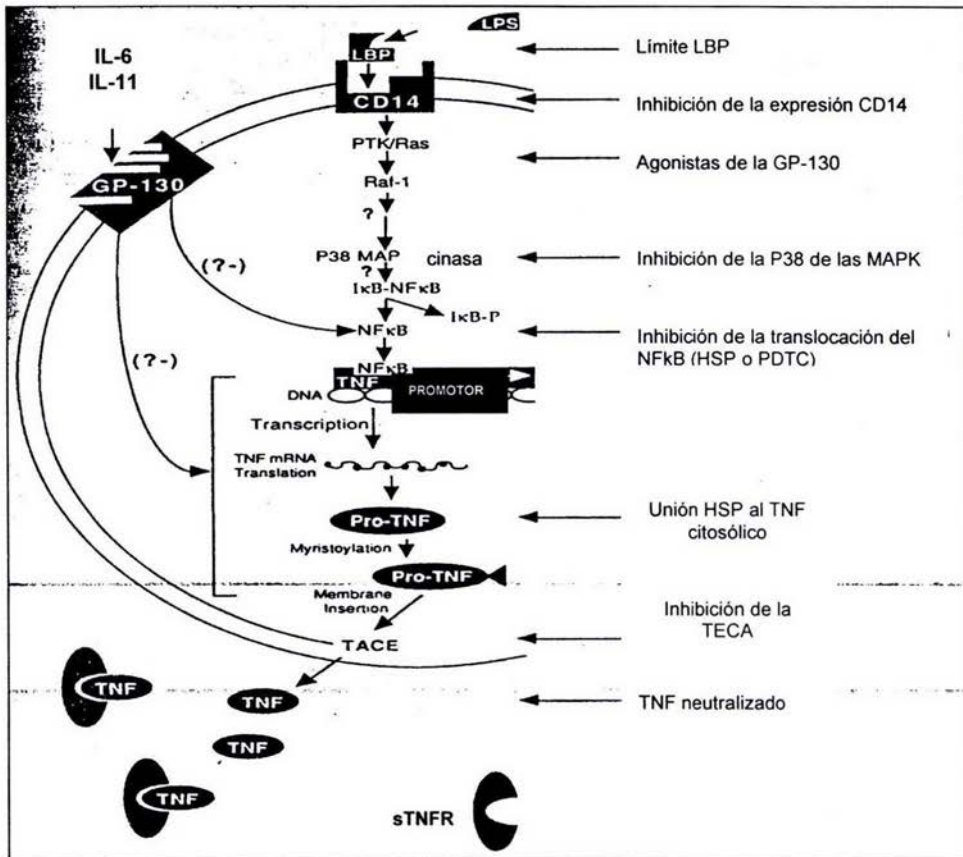


Figura 19. Estrategias terapéuticas. Diferentes vías para la inhibición de TNF.

4.4.3 Proteínas de Choque Térmico (HSP)

Proteínas de choque térmico (HSP) (proteínas antiestrés), su función es minimizar los daños producidos por el estrés. La denominación proviene del hecho que se detectaron inicialmente producidas por un estrés térmico en *Drosophila*⁹¹. Su función es citoprotectora.

La presencia de infecciones virales, estados febriles o inflamatorios y la presencia de neoplasias, activan la producción de estas proteínas⁹². El FNT- α , lo adrenérgico, lo oxidante, las endotoxinas, o el estrés calórico pueden inducir la producción de HSP. De hecho, Hutter y col. ¹⁰⁴ demostraron una correlación directa entre el grado de inducción de HSP (después de los varios grados de tensión calorífica) y la reducción del infarto miocárdico después del proceso isquémico.

Se ha sugerido que estas proteínas disminuirían el daño miocárdico a través de sus funciones de: (a) chaperonas, facilitando la reconstitución del citoesqueleto alterado por el daño isquémico, (b) inductoras de mecanismos antioxidantes, ya que la producción de radicales libres está involucrada en la generación de lesiones miocárdicas⁹⁴. La inducción de HSP se acompaña de aumento de la actividad antioxidante de catalasas⁹⁵.

Por ejemplo:

HSP70: esta proteína ejercería una función protectora de la pared arterial ante daños hemodinámicos. Se ha demostrado la inducción de HSP70 en las fibras musculares lisas de aorta luego del estrés o estimulación con agonistas adrenérgicos- α ^{96,97}.

Feinstein y col. ¹⁰⁵ demostraron que la HSP70 puede reducir la inflamación por disminución del NF κ B. Ellos demostraron que HPS70 bloquea la expresión de la iNOs por unión a su factor de transcripción NF κ B y previene su translocación al núcleo.

**ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA**

4.4.4 Riesgos de la inhibición de las citocinas

La terapia anti-TNF- α debe ser interpretada cuidadosamente ya que el TNF- α juega un papel importante en la ejecución de una respuesta inmunitaria normal. En los casos clínicos en los que se emplearon terapia anti TNF- α en la forma del receptor soluble del receptor p75 estuvieron asociados con un incremento de la mortalidad ¹⁰⁶.

Entonces la terapia anti-TNF puede ser útil en aquellas situaciones que constituya un insulto inflamatorio puro (hablando de isquemia miocárdica y reperfusión).

El p75 TNFR puede actuar como un acarreador y prolonga el tiempo de vida media del TNF- α en la circulación "in vivo" ¹⁰⁷. El TNF- α ha sido implicado en la patogénesis de la isquemia y reperfusión miocárdica; por lo consiguiente empleando estrategias anti-TNF durante y después de la inflamación puede ser benéfico.

Actualmente el bloqueo de los sistemas adrenérgico β , renina-angiotensina (inhibidores de la ECA, del tipo AT₁) y aldosterona, es un componente clave en el manejo contemporáneo de la insuficiencia cardiaca¹³⁵.

Existen evidencias que correlacionan al TNF- α con la patogénesis de la IC, como es el caso del estudio que se realizó con ratones transgénicos que sobreexpresan esta citocina en su tejido cardiaco y desarrollan cardiomiopatía dilatada y mueren prematuramente¹³⁵. Levine ¹⁴¹ detectó que los niveles séricos del TNF- α fueron significativamente mayores en pacientes con insuficiencia cardiaca crónica que en los controles sanos.

Además se ha determinado que esta citocina provoca un efecto inotrópico negativo en miocitos cardiacos aislados. Por otro lado, en un estudio de disfunción ventricular izquierdo (SOLVD) se demostró que existe una correlación directa entre la severidad de la sintomatología de la insuficiencia cardiaca y los niveles del TNF- α ¹⁴². Esta citocina es elaborada en el corazón insuficiente pero no en el normal¹⁴³. Además se ha reportado el incremento de la expresión y actividad de la iNOs en la IC¹⁴⁴, lo que atenúa la contracción miocárdica y las respuestas a catecolaminas¹⁴⁵.

De hecho, un mecanismo propuesto de disfunción miocárdica en la IC es la producción excesiva de NO secundaria al incremento del TNF- α ¹⁴⁶.

Investigaciones recientes han mostrado que en el miocardio insuficiente el bloqueo adrenérgico- β mejora la función miocárdica y la remodelación del ventrículo izquierdo aunque los mecanismos celulares responsables para estos efectos no han sido definidos^{147,148,149}.

Actualmente Zhao y col.¹⁵⁰, demuestran que la expresión del TNF- α se aumento en células mononucleares sanguíneas periféricas de pacientes con IC. Esto es inhibido por el captopril, lo que sugiere que el efecto inmunomodulatorio puede contribuir como posible efecto benéfico en pacientes con IC.

Como se sabe que la IC es causada por el TNF- α , esto permite surgir el desarrollo de nuevas terapias que modulen a las citocinas en presencia de inhibidores de la ECA (iECAs) y con los bloqueadores adrenérgicos- β ya que el TNF- α influye sobre las respuestas de estos dos sistemas en el

miocardio normal. Por lo tanto, nosotros postulamos que la activación de ambos sistemas y la elaboración de esta citocina están interrelacionados en sus efectos benéficos en la IC en relación al tiempo (agudo o crónico).

5.0 CONCLUSIONES

- ❖ Se reconoció que el proceso de inflamación se inicia ante estímulos que puedan causar daño sobre los tejidos vivos vascularizados; diferenciándose básicamente dos fases: proceso inflamatorio agudo y proceso crónico.

- ❖ Se focalizó que en la reacción inflamatoria se llevan a cabo varios procesos moleculares y celulares que son desencadenados por mediadores químicos de la inflamación dentro de los cuales están la citocinas proinflamatorias; como el TNF- α , IL-1, IL-6, IFN- α . Además el TNF- α es uno de los componentes principales en el proceso inflamatorio, ya que a partir de esta citocina se activan otras citocinas proinflamatorias.

- ❖ Se integró la información que establece que la expresión miocárdica del TNF- α juega un papel muy importante en la activación de las demás citocinas proinflamatorias; como IL-1, IL-6, IFN- α , entre otras; promoviendo así a la progresión y empeoramiento de esta enfermedad.

- ❖ Se organizó la información que relaciona al TNF- α y sus receptores solubles, así como a la IL-6; los cuales son los marcadores inflamatorios

más importantes del mal pronóstico en la insuficiencia cardiaca y están directamente relacionados con la clase funcional del corazón.

- ❖ Se analizó la existencia de dos receptores para el TNF- α , el TNFR1 y TNFR2, ambos se encuentran en proporciones similares en el corazón normal; los efectos biológicos de cada receptor son distintos, pues a pesar de que el TNF- α se fija con afinidad similar en ambos receptores, su efecto en la disminución de la contractilidad del músculo es mediado por la interacción con el TNFR1, mientras que el proceso de apoptosis se da vía TNFR2.

- ❖ Se comprendió que el TNF- α participa en la hipertrofia cardiaca, esto es debido al aumento de las proteínas contráctiles y además esta asociado a cambios cualitativos en la expresión genética que lleva a la falla cardiaca.

- ❖ A través de la información obtenida se dedujo que el TNF- α puede ser blanco de nuevas estrategias terapéuticas en los pacientes con insuficiencia cardiaca. Ya que los estudios básicos y clínicos sustentan la hipótesis de la teoría inflamatoria, siendo ésta complementaria a los demás modelos fisiopatológicos de la insuficiencia cardiaca.

6.0 REFERENCIAS

- 1) Enciclopedia Microsoft® Encarta® 2000. "Inmunología" Microsoft Corporation, © 1993-1999.
- 2) Tamayo, García Fernando. "Introducción a la Inmunología General". UNAM 1997. pp. 10-25.
- 3) http://depa.pquim.unam.mx/inmuno/contenido/Cap10/cuerpo/cap10_1_3.htm
- 4) <http://www.lafacu.com/apuntes/medicina/inflamación/>
- 5) Roitt, Iván, Brostoff., "Inmunología" 5^{ta.}, Harcourt, Madrid, España 2000. pp 61-69, 121-138.
- 6) http://www.aurasalud.com/Articulos/Art_rehabilitacion/inflamacion.htm
- 7) Donald, Weir M. "Inmunología", 3^{ra.}, El Manual Moderno, México, D.F., 1999. pp. 32-34.
- 8) Bellanti, Joseph A. "Inmunología" 3^{ra.}, Nueva Editorial Interamericana S.A. de C.V., México, D.F., 1986. pp. 231-240.
- 9) Gallin, John I. and Snyderman, Ralph. "Inflammation Basic Principles and Clinical Correlates Chapter 29". 3^{ra.}, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia 1999. pp. 433-441.
- 10) Abbas, Abul K., Lichtman, Andrew H., "Inmunología celular y molecular" 2^{da.} Interamericana McGraw-Hill, España 1999. pp. 4-14, 276-307.
- 11) Gary S. Francis, MD. "TNF - α and Heart Failure. The Difference Between of Principle and Hypothesis Testing". Circulation. 1999;99:3213-3214.
- 12) Gallin, John I. and Snyderman, Ralph. "Inflammation Basic Principles and Clinical Correlates Chapter 32". 3^{ra.}, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia 1999. pp. 471-486.
- 13) Enciclopedia Microsoft® Encarta® 2000. "Corazón" Microsoft Corporation, © 1993-1999.
- 14) Rojas, William., "Inmunología", 6^{ta.}, Fondo Educativo Interamericano, México, D.F., 1985. pp. 54-77.
- 15) Guyton, Arthur and May. "Textbook of Medical Physiology", 9^{na.}, Nueva Editorial Interamericana, 1996. pp. 118-154.
- 16) Costanzo, S. Linda ., "Fisiología", McGraw-Hill Interamericana., México,D.F., 2000. pp 108-176.

- 17) Smith, C. M. y Reynard, A. M. "Farmacología", Panamericana. México 1998. pp. 237-243, 257-262.
- 18) Loossnitzer, K., "Miocardio vasos sanguíneos calcio. Sinápsis en cuadros del principio de acción del calcio antagonismo", Erasmusdruck GmbH, Mainz. Ludwingshafen 1983. pp.49-124
- 19) Guadalajara, J.F. "Cardiología", 5^{ta.}, Méndez editores. México 1997. pp. 123-140.
- 20) William, Dec G. , Huntter, Adolph M. Jr. "Actualización en Medicina Cardiovascular Insuficiencia Cardíaca Congestiva" 1998 Scientific American 20.-
William, Dec G. , Huntter, Adolph M. Jr. "Actualización en Medicina Cardiovascular Insuficiencia Cardíaca Congestiva" 1998 Scientific American Inc./Editora científica Médica Latinoamericana. pp. II-1-2
- 21) Florez, Jesús. "Farmacología humana", 3^{ra.}, Masson, S.A. México, D.F.,1997. pp. 610-612
- 22) http://www.rms.cl/internos/anteriores_internos/insuficiencia_cardiaca.htm
- 23) <http://www.uninet.edu/tratado/c010503.html>
- 24) http://www.healthandage.com/html/res/spanish_primer/heart.htm
- 25) Systkowski, P. A., "Changes in risk factors and the decline in mortality from cardiovascular disease: The Framingham Heart study", N. Engl. J. Med. 322(23):1635-1641. 1990.
- 26) <http://www.zonamedica.com.ar/grancirculatorio/>
- 27) Colucci WS, Braunwald E., "Pathophysiology of heart failure", 5^{th.}, En: Braunwald E (ed): Heart disease. WB Saunders, Philadelphia, 1997, pp 394-420.
- 28) Biasucci L. M. y col., "Elevated levels of interleukin 6 in unstable angina", Circulation 94: 874-877, 1996.
- 29) Giroir B. P t col., "The tissue distribution of tumor necrosis factor biosynthesis during endotoxemia", J. Clin Invest 90: 693-698, 1992.
- 30) Giroir P. B. y col., "Inhibition of tumor necrosis factor prevents myocardial depression during burn shock", Am. J. Physiol 267: H118-H124,1994.
- 31) Latini R. M. y col., "Cytokines in acute myocardial infarction: selective increase in circulating tumor necrosis factor, its soluble receptor, and interleukin 1 receptor antagonist", J. Cardiovasc Pharmacol. 23: 1-6, 1994.

- 32) Levine B.J. y col., "Elevated circulating levels of tumor necrosis factor in severe chronic heart failure", *N. Engl J Med* 323: 236-241, 1990.
- 33) Neumann F.J. y col., "Cardiac release of cytokines and inflammatory responses in acute myocardial infarction", *Circulation* 92: 748-755, 1995.
- 34) Oral H. y col., "Sphingosine mediates the immediate negative inotropic effects of tumor necrosis factor- α in the adult mammalian cardiac myocyte". *J Biol Chem* 272: 4836-4842, 1997.
- 35) Oral H. y col., "Tumor necrosis factor- α and the failing human heart". *Clin Cardiol* 18: S20-S27, 1995.
- 36) Yokoyama T.N. y col., "Tumor necrosis factor- α provokes a hypertrophic growth response in adult cardiac myocytes". *Circulation* 95: 1247-1252, 1997.
- 37) Sweet M.J. and Hume D.A., "Endotoxin signal transduction in macrophages". *J Leukoc Biol* 60: 8-26, 1996.
- 38) Dinarello C.A. y col., "Tumor necrosis factor (cachectin) is an endogenous pyrogen and induces production of IL-1". *J. Exp Med* 163: 1433-1450, 1986.
- 39) Rowland R.T. y col., "Potential gene therapy strategies in the treatment of cardiovascular disease". *Ann Thorac. Surg* 60: 721-728, 1995.
- 40) Arras M. A. y col., "Tumor necrosis factor - α in macrophages of heart, liver, kidney, and in the pituitary gland". *Cell Tissue Res* 285: 39-49, 1996.
- 41) Gurevitch J I. Y col., "Tumor necrosis factor-alpha is released from the isolated heart undergoing ischemia and reperfusion". *J Am Coll Cardiol* 28: 247-252, 1996.
- 42) Kapadia S.J., "Tumor necrosis factor - α gene and protein expression in adult feline myocardium after endotoxin administration". *J Clin Invest* 96: 86-107, 1996.
- 43) Torre-amione G. y col., "Proinflammatory cytokine levels patients with depressed left ventricular ejection fraction report from the studies of left ventricular dysfunction (SOLV)". *J Am Coll Cardiol* 27: 1201-1206, 1996.
- 44) Krown K.A. y col., "Tumor necrosis factor alpha-induced apoptosis in cardiac myocytes: involvement of the sphingolipid signaling cascade in cardiac cell death". *J Clin Invest* 98: 2854-2865, 1996.

- 45) Kumar A.V. y col., "Tumor necrosis factor alpha and interleukin 1-beta are responsible for the in vitro myocardial cell depression induced by human septic shock serum". *J Exp Med* 183: 949-958, 1990.
- 46) Mallat Z.A. y col., "Evidence of apoptosis in arrhythmogenic right ventricular dysplasia". *N Engl J Med* 335: 1190-1196, 1996.
- 47) Ellrrodt A.G. y col., "Left ventricular performanse in septic shock: reversible segmental and global abnormalities". *Am Heart J* 110: 402-409, 1985.
- 48) Gulick T.M. y col., "Interleukin 1 and tumor necrosis factor inhibit cardiac myocyte adrenergic responsiveness". *Proc Natl acad Sci USA* 86: 6753-6757, 1989.
- 49) Finkel M.S. y col., "Negative inotropic effects of cytokines on the heart mediated by nitric oxide". *Science* 257: 387-389, 1992.
- 50) Meldrum D.R. y col., "Calcium induced inotropy is in part mediated by protein kinase C". *J Surg Res* 63: 400-405, 1996.
- 51) Yokoyama T.M. y col., "Cellular basis forfor the negative inotropic effects of tumor necrosis factor- α in the adult mammalian cardiac myocyte". *J. clin Invest* 92:2303-2312, 1993.
- 52) Krown K.A., "TNF- α receptor expression in rat cardiac myocytes: TNF inhibition of L-type Ca^{2+} current and Ca^{2+} transients". *FEBS Lett* 376: 24-30, 1995.
- 53) Goldhaber J.L. y col., "Effects on TNF- α on $[Ca^{2+}]_i$ and contractility in isolated adult rabbit ventricular myocytes". *Am J. Physiol* 271: H1449-1445, 1996.
- 54) Kelly R.A. and T.W. Smith., "Cytokines and cardiac contractile function". *Circulation* 95: 778-781, 1997.
- 55) Dinarello C.A., "Interleukin - 1 and its biologically related cytokines". *Adv. Immunol* 44: 153-205, 1989.
- 56) Last-Barney K y col., "Synergistic and overlapping activities of tumor necrosis factor -alpha and IL-1". *J Immunol* 141: 527-530, 1988.
- 57) Friese R.S. y col., "Nitric oxide prevents neutrophil-mediated pulmonary vasomotor dysfunction in acute lung injury". *J Surg Res* 63: 23-28, 1996.
- 58) Murray DR and Freeman G.L., "Tumor necrosis factor-alpha induces a biphasic effect on myocardial contractility in condcous dogs". *Cir res* 78: 154-160, 1995.

- 59) Hannun Y.A., "Functions of ceramide in coordinating the metabolic response to stress". *Science* 274: 1885-1859, 1996.
- 60) Kerr JFR, Wyllie AH., Currie AR., "Apoptosis: a basic biological phenomena with wide-ranging implications in tissue kinetics". *Br J Cancer* 1972; 26: 239-257.
- 61) Thompson CB., "Apoptosis in the pathogenesis and treatment of disease". *Science* 1995; 267: 1456-1462.
- 62) Steller H., "Mechanism and genes of cellular suicide". *Science* 1995; 267: 1445-1449.
- 63) Kolesnick R. N., "Sphingosine and derivatives as cellular signals". *Prog Lipid Res* 30: 1-38, 1991.
- 64) Ohta H.Y y col., "A possible role of sphingosine in induction of apoptosis by tumor necrosis factor - α in human neutrophils". *FEBS Lett* 355: 267-270, 1994.
- 65) Hsu H.J. and Goeddel D.V., "The TNF receptor-1 associated protein TRADD signals cell death and NF κ B activation". *Cell* 81: 495-504, 1995.
- 66) Chinnaiyan I.H. y col., "FADD, a novel death domain - containing protein, interacts with the death domain of Fas and initiates apoptosis". *Cell* 81: 505-512, 1995.
- 67) Bazzoni F and Beutler B., "The tumor necrosis factor ligand and receptor families". *N Engl J Med* 336: 1717-1725, 1996.
- 68) Beutler B y Krays V., "Lipopolysaccharide signal transduction, regulation of tumor necrosis factor biosynthesis, and signaling by tumor necrosis factor itself". *J Cardiovasc Pharmacol.* 25: S1-S8, 1995.
- 69) Ulevitch R.J. and Tobias P.S., "Receptor -dependent mechanisms of cell stimulation by bacterial endotoxin". *Annu Rev Immunol* 13: 437-457, 1995.
- 70) Lee J.D. y col., "GPI-anchored or integral membrane forms of CD14 mediate identical cellular responses to endotoxin". *Proc Natl Acad Sci USA* 90: 9930-9934, 1993.
- 71) Haziot A.G y col., "Recombinant soluble CD14 prevents mortality in mice treated with endotoxin (lipopolysaccharide)". *J. Immunol* 154: 6529-6532, 1995.
- 72) Han J.J.D. y col., "Endotoxin induces rapid tyrosine phosphorylation in cell expressing CD14". *J Biol Chem* 268: 25009-25014, 1993.

- 73) Derijart B. J. y col., "Independent human MAP kinase signal transduction pathways defined by MEK and MKK isoforms". *Science* 267: 682-685, 1995.
- 74) Howe L.R., "Activation of the MAP kinase Pathway by the protein kinase Raf". *Cell* 71: 335-342, 1992.
- 75) Reiman T.D. y col., "Lipopolysaccharide induces activation of the Raf-1/MAP kinase pathway. A putative role for Raf-1 in the induction of IL-1 beta and TNF-alpha genes". *J Immunol.* 153: 5740-5749, 1994.
- 76) Hannun Y.A., "Functions of ceramide in coordinating the metabolic response to stress". *Science* 274: 1855-1859, 1996.
- 77) Lee J.C. and Young P.R., "Role of CSB/p38/RK stress response kinase in LPS and cytokine signaling mechanisms". *J. Leukoc Biol* 59: 152 -157, 1996.
- 78) Brown J.M. y col., "Xanthine oxidase produces hydrogen peroxide which contributes to reperfusion injury of ischemic isolated rat hearts". *J Clin Invest* 81: 1297-1301, 1988.
- 79) Mallinin N.L. y col., "MAP3K-related kinase involved in NFkB induction by TNF, CD95 and IL-1". *Nature* 385: 540-544, 1997.
- 80) Li S. and Sedivy J.M., "Raf-1 protein kinase activates the NFkB transcription factor by dissociating the cytoplasmic NFkB-IkB complex". *Proc Natl Acad Sci USA* 90: 9247-9251, 1993.
- 81) Shakov A.N. y col., "Kappa B-Type enhancers are involved in lipopolysaccharide-mediated transcriptional activation of the tumor necrosis factor- α gene in primary macrophages". *J Exp Med.* 171: 35-47, 1990.
- 82) Dinarrello C.A. and Margolis N.H., "Stopping the cuts: the recently discovered enzymes that process the precursors of inflammatory cytokines are good targets for the design of new anti-inflammatory therapeutic agents". *Curr Biol* 5: 587-590, 1995.
- 83) Cerreti D.P. y col., "Molecular cloning of the IL-1 β converting enzyme". *Science* 256: 97-100, 1992.
- 84) Cain B. S. Y col., "Physiologic basis for anti-cytokine clinical trials". *J Am Coll Surg* In press.
- 85) Cain B.S. y col., "Surgical implications of vascular endothelial physiology". *Surgery* 122: 516-526, 1997.

- 86) Levitzki A. and Gazit A., "Tyrosine kinase inhibition: an approach to drug development". *Science* 267: 1782-1788, 1995.
- 87) Butt T.R y col., "Transcription factors as drug targets: opportunities for therapeutic selectivity". *Gene Expr* 4: 319-336, 1995.
- 88) Cuenda A. J. y col., "SB203580 is a specific inhibitor of a MAP kinase homologue which is stimulated by cellular stresses and interleukin 1 *FEBS Lett* "364: 229-233, 1995.
- 89) Guyton K.Z. y col., "Activation of mitogen-activated protein kinase by H₂O₂. Role in cell survival following oxidant injury". *J Biol Chem* 271: 4138-4142, 1996.
- 90) Bogoyevitch M. A. y col., "Stimulation of the stress- activated mitogen activated protein kinase and c-jun N-Terminal kinases are activated by ischemia/reperfusion". *Circ Res* 79:162-173, 1996.
- 91) Ritossa F., "A new puffing pattern induced by temperature shock and DNP in *Drosophila*". *Experientia* 1962; 18: 571-3.
- 92) Samali A, Cotter T., "Heat shock proteins increase resistance to apoptosis". *Exp Cell Res* 1996; 223: 163-70.
- 93) Bolli R., "Myocardial «stunning» in man". *Circulation* 1992; 86: 1671-91.
- 94) Karmazyn M, Mailer K, Currie RW., "Acquisition and decay of heat-shock-enhanced postischemic ventricular recovery". *Am J Physiol* 1990; 259: H424-H431.
- 95) Udelsman R, et al., "Vascular heat shock protein expression in response to stress". *J Clin Invest* 1993; 91: 465-73.
- 96) Zhu W, et al., "Oxidized LDL induce the expression of heat shock protein 70 in human endothelial cells". *Biochem Biophys Res Commun* 1994; 200: 389-94.
- 97) Blake MJ et al., "Dopaminergic regulation of heat shock protein 70 expression in adrenal gland and aorta". *Endocrinology* 1993; 132: 1063-70.
- 98) Christodoulides N, Durante W, Kroll MH, Schafer AI., "Vascular smooth muscle cell heme oxygenases generate guanylyl cyclase-stimulatory carbon monoxide". *Circulation* 1995; 91: 2306-9.
- 99) Barnes P. J. y col., "Nuclear factor kappa B: a pivotal transcription factor chronic inflammatory diseases". *N Engl J Med* 336: 1066-1071, 1997.

- 100) Kawai M.R., "Pyrrolidine dithiocarbamate inhibits intracellular adhesion molecule-1 biosynthesis induced by cytokines in human fibroblasts". *J Immunol* 154: 1333-1341, 1995.
- 101) Dinarello, C.A. y col., "Anticytokine strategies in the treatment of the systemic inflammatory response syndrome". *JAMA* 269: 1829-1835, 1993.
- 102) McGeehan G.M. y col., "Regulation of TNF-alpha processing by a metalloproteinase inhibitor". *Nature* 370: 558-561, 1994.
- 103) Hill G.E. y col., "Aprotinin is associate with a decrease in nitric oxide production during cardiopulmonary bypass". *Surgery* 121: 449-455, 1997.
- 104) Hutter M.M. y col., "Heat shock protein induction rat hearts. A direct correlation between the amount of heat shock protein induced and the degree of myocardial protection". *Circulation* 89: 355-362, 1994.
- 105) Feinstein D.L. y col., "Heat shock protein 70 suppresses astroglial-inducible nitric oxide synthase expression by decreasing NFkB activation". *J Biol Chem* 271: 17724-17732, 1996.
- 106) Fisher C. J. y col., "Treatment of septic shock with the tumor necrosis factor receptor: Fc fusion protein". *N Engl J Med* 334: 1697 - 1702, 1996.
- 107) Mohler K.M. y col., "Soluble tumor necrosis factor (TNF) receptors are effectivetherapeutiuc agebts in lethal endotoxemia and function simultaneously as both TNF carriers and TNF antagonists". *J Immunol* 151: 1548-1561, 1993.
- 108) D' Angelo D.D.y col., "Transgenic Gq overexpression induces cardiac contradile failure in mice". *Proc Natl Acad Sci USA.*;94:8121-8126, 1997.
- 109) Wakasaki H. y col., "Targeted overexpression of protein kinase C beta-2 isoform in miyocardium causes cardiomyopathy". *Proc Nall Acad Sci U S A* 94:9320 -9325, 1997.
- 110) Bowiing N. y col., "Incerased protein kinase C activity and expression of Ca²⁺-sensitive isoforms in the failing human heart". *CircuJation.*;99:384-391, 1999.
- 111) Li Z. y col., "Increased cardiomyocyte apoptosis during the transition to heart failure in the spontaneously hypertensive rat". *Am J Physiol* 272:H2313-H2319, 1997.
- 112) Sabbah H.N., "Apoptotic cell death in heart failure". *Cardiovasc Res.*;45.704-712, 2000.

- 113) Chidsey C.A. y col., "Augmentation of the plasma norepinephrine response to exercise in patients with congestive heart failure". *N Engl J Med.* 267:650- 654, 1962.
- 114) Chidsey C.A. y col., "Myocardial norepinephrine concentration in man: effects of reserpine and of congestive heart failure". *N Engl J Med.* 269:653-658, 1963.
- 115) Hasking G.J. y col., "Norepinephrine spillover to plasma in patients with chronic congestive heart failure: evidence of increased overall and cardiorenal sympathetic nervous activity". *Circulation* 73:615-621, 1986.
- 116) Rundquist B.y col., "Increased cardiac adrenergic drive precedes generalized sympathetic activation in human heart failure". *Circulation.* 95:169-175, 1997.
- 117) Bristow M.R., "Beta-adrenergic receptor blockade in chronic heart failure". *Circulation* 94: 2285-2296, 2000.
- 118) Bristow M.R., "Mechanism of action of beta-blocking agents in heart failure". *Am J Cardiol* 80: 26L-40L, 1997.
- 119) Bristow M.R., "Changes in myocardial and vascular receptors in heart failure". *J Am Coll Cardiol.* 22(suppl A):61-71, 1993.
- 120) Lup W.I. y col., "Targeted ablation of the phospholamban gene is associated with markedly enhanced myocardial contractility and loss of beta-agonist stimulation". *Cir Res* 75:401-409, 1994.
- 121) Uggen S.B. y col., "The Ile 164 beta 2-adrenergic receptor polymorphism adversely affects the outcome of congestive heart failure". *J Clin Inves.* 102:1534-1539, 1998.
- 122) Wagoner L.E. y col., "Polymorphisms of the beta 2-adrenergic receptor determine exercise capacity in patients with heart failure". *Circ Res* 86:834-840, 2000.
- 123) Weber KT., "Extracellular matrix remodeling in heart failure". *Circulation* 96:4065- 4082, 1997.
- 124) Grassi G.y col., "Effects of chronic ACE inhibition on sympathetic nerve traffic and baroreflex control of circulation in heart failure". *Circulation* 96:1173-1179, 1997.
- 125) Gilbert E.M. y col., "Lisinopril lowers cardiac adrenergic drive and increases beta-receptor density in the failing human heart". *Circulation* 88:472-480, 1993.

- 126) Francis G.S. y col., "Cooperative Studies Group. Plasma norepinephrine, plasma renin activity, and congestive heart failure: relations to survival and the effects of therapy in V-HEFT". *Circulation* 87(suppl VI):V1-40-VI-48, 1993.
- 127) MacFadyen R.J., "Aldosterone blockade reduces vascular collagen turnover, improves heart rate variability, and reduces early morning rise in heart failure patients". *Cardiovasc Res* 35: 30-34, 1997.
- 128) Pacher R. y col., "Prognostic impact of big endothelin-1 plasma concentrations compared with invasive hemodynamic evaluation in severe heart failure". *J Am Coll Cardiol* 27: 633-641, 1996.
- 129) Kirchengast M., "Endothelin-1 and endothelin receptor antagonists in cardiovascular remodeling". *Proc Soc Exp Biol Med.* 221: 312-325, 1999.
- 130) Packer M. y col., "Multicenter, double-blind, placebo-controlled study of long-term endothelin blockade with bosentan in chronic heart failure: results of the REACH-1 trial". *Circulation.* 98(suppl1):1-3, 1998.
- 131) Mulder P. y col., "Role of endogenous endothelin in chronic heart failure: effect of long-term treatment with an endothelin antagonist on survival, hemodynamics, and cardiac remodeling". *Circulation.* 96:1976-1982, 1997.
- 132) Torre-Amione G. y col., "Tumor necrosis factor-alpha and tumor necrosis factor receptors in the failing human heart". *Circulation.* 93:704-711, 1996.
- 133) Levine B. y col., "Elevated circulating levels of tumor necrosis factor in severe chronic heart failure". *N Engl J Med.* 223: 236-241, 1990.
- 134) Bozkurt B y col., "Pathophysiological relevant concentrations of tumor necrosis factor-alpha promote progressive left ventricular dysfunction and remodeling in rats". *Circulation* 97: 1382-1391, 1998.
- 135) Kubota T., "Dilated cardiomyopathy in transgenic mice with cardiac-specific overexpression of tumor necrosis factor-alpha". *Cir Res.* 81:627-635, 1997.
- 136) Bryant D., "Cardiac failure in transgenic mice with myocardial expression of tumor necrosis factor-alpha". *Circulation.* 97:1375-1331, 1998.
- 137) Bazzoni F., "The tumor necrosis factor ligand, and receptor families". *N Engl Med* 334: 1717-1725, 1996.
- 138) Deswal A., "Safety and efficacy of soluble P75 tumor necrosis factor receptor (Enbrel , Entanercept) in patients with advanced Heart failure". *Circulation* 99:3224-3226, 1999.

- 139) Guillermo T-A., "Decreased expression of tumor necrosis factor-alpha in failing human myocardium after mechanical circulatory support: a potential mechanism for cardiac recovery". *Circulation* 100:1189-1193, 1999.
- 140) Roulcau J.L. y col., "Comparison of vasoactive inhibitor, omapatrilat, and lisinopril exercise tolerance and morbidity in patients with heart failure: IMPRESS randomised trial". *Lancet*. 356:615-620, 2000.
- 141) Lexden B., "Elevated circulating levels of tumor factor in severe chronic heart failure". *N. Engl. J Med* 323:236-241, 1990.
- 142) McMurray J. y col., "Increased concentrations of tumor necrosis factor in "cachectic" patients with severe chronic heart failure". *Br Heart J* 66: 356-358, 1991.
- 143) Torre-Amione G. y col., "Proinflammatory cytokine levels in patients with depressed left ventricular ejection fractions a report from the studies of left ventricular dysfunction (SOLVD)". *JACC* 5:1291-1296, 1996.
- 144) Haywood G.A. y col., "Expression of inducible nitric oxide synthase in human heart failure". *Circulation* 93:1087-1094, 1996.
- 145) Baillyand J-L. y col., "Control of cardiac muscle cell function by an endogenous nitric oxide signaling system". *Proc Natl Acad Sci USA* 90: 347-351, 1993.
- 146) Brady A. J. y col., "Nitric oxide attenuates cardiac myocyte contraction". *Am J Physiol* 265: H176-H182, 1993.
- 147) Bristow M. R., "Mechanisms of action of beta-blocking agents in heart failure". *Am J Cardiol* 31:2077-2085, 1999.
- 148) Prabhu B. y col., "Beta-adrenergic blockade in developing heart failure. Effects on myocardial inflammatory cytokines, nitric oxide, and remodeling". *Circulation* 101:2103-2109, 2000.
- 149) Murray D.R. y col., "Chronic beta-adrenergic stimulation induces myocardial proinflammatory cytokine expression". *Circulation* 2338-2341, 2000.
- 150) Zhao S. y col., "Captopril inhibits the production of tumor necrosis factor-alpha by human mononuclear cells in patients with congestive heart failure". *Clin Chimica Acta*: 85-90, 2001.
- 151) Montaraz, Juan Antonio. "Introducción a la Inmunología", UNAM, México, D.F., 1997. pp 19-31.

- 152) Arnold, M. Katz., "Heart Failure. Pathophysiology, Molecular Biology, and Clinical Management, Neurohumoral Response II: The inflammatory response". Lippincott Williams and Wilkins 2000. pp. 153-170.
- 153) Ramzi, S. Cotran, Vinay, Kumar., "Patología Estructural y Funcional", 6^{ta.}, McGraw-Hill Interamericana, 2000. pp. 20-26, 54-92, 145, 572-578.
- 154) Abbas AK, et al., "Cellular and Molecular Immunology", 3^{rd.}, Philadelphia. WB Saunders, 1997. pp 249-277.
- 155) Abbas AK, et al., "Cellular and Molecular Immunology", 3^{rd.}, McGraw-Hill Interamericana, 1999. pp. 270-293.
- 156) http://www.puc.cl/sw_edu/neurociencias/html/145.html
- 157) Gutiérrez, V. Isauro, Domínguez, M. Arturo., "Mecanismos fisiopatogénicos de la falla cardiaca crónica". Rev Hosp. Gral. Dr. M Gea González. 4:3, 75-95, 2001.
- 158) M. Karman, Baig., "The pathophysiology of advanced heart failure". Heart and lung 1999; 28:2.
- 159) Milton Packer MD., "How should physicians view evolution of three conceptual models of the disease". Am J Cardiol 1993: 71:3c-11c.