



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Médicas, Odontológicas y de la Salud.

Facultad de Medicina, División de Posgrado

POLIMORFISMOS GENÉTICOS DE FACTOR DE NECROSIS TUMORAL ALFA (TNF α), DESEQUILIBRIO GENÉTICO DEL GEN TNF α CON EL HLA B Y DR Y EFECTOS DE LA INHIBICIÓN DEL FACTOR DE NECROSIS TUMORAL α CON TALIDOMIDA, EN LA PROGRESIÓN DE LA INSUFICIENCIA CARDÍACA

**Modalidad de Graduación
T E S I S**

Que para optar por el grado de

MAESTRA EN CIENCIAS MÉDICAS, ODONTOLÓGICAS Y DE LA SALUD

PRESENTA:

TATIANA SOFÍA RODRÍGUEZ REYNA

T U T O R

DR. JULIO GRANADOS ARRIOLA

INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN

México, D.F., a 6 de agosto de 2018



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



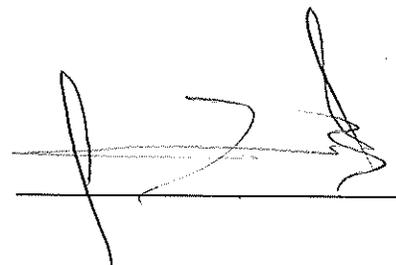
UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

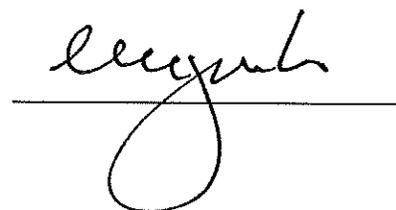
Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

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.

Dr. Julio Granados Arriola
Tutor

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'J. Granados', written over a horizontal line.

Dr. Carlos Aguilar Salinas
Responsable de la Sede

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'C. Aguilar', written over a horizontal line.

Dra. Tatiana Sofía Rodríguez Reyna
Alumna

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'T. Rodríguez', written over a horizontal line.

Agradecimientos:

A mis papás Sofía y Francisco que me amaron desde siempre, me dieron la luz, la vida y me enseñaron el camino; a Joaquín que me das tu amor incondicional y me acompañas y alientas cada día; a Sofía y Regina, las dos estrellitas que guían mis pasos con su luz radiante y me hacen seguir adelante.

Al Dr. Julio Granados, maestro y amigo, por todo su apoyo y cariño.

Al Dr. Arturo Orea, por su paciencia, entusiasmo y enseñanzas.

ÍNDICE

Portada	1
Visto bueno del Tutor y Autoridad de la Sede	2
Agradecimientos	3
Índice	4
Resumen en español	5
Resumen en inglés (Abstract)	6
Introducción	7
Justificación	22
Hipótesis	23
Objetivos	24
Pacientes y Métodos	25
Resultados	31
Discusión	44
Conclusiones	50
Referencias	51
ANEXOS	64
-Artículo 1	
-Artículo 2	

RESUMEN

Antecedentes. La insuficiencia cardíaca crónica (ICC) es un padecimiento que ocasiona alta morbilidad y mortalidad. Se ha involucrado al incremento en niveles circulantes y expresión tisular del factor de necrosis tumoral α (TNF α) en la patogenia de esta enfermedad. La producción de esta citocina podría verse influida por la presencia de variantes alélicas en los polimorfismos -238 y -308 del gen TNFA. Por otro lado, la disminución de los efectos de TNF α sobre el miocardio podría ser un blanco terapéutico.

Objetivos. Determinar: niveles séricos de TNF α y la frecuencia de polimorfismos de los sitios -238 y -308 del promotor del gen TNFA en pacientes con ICC y controles, Determinar si la inhibición de TNF α con talidomida mejora parámetros clínicos y ecocardiográficos en pacientes con ICC.

Pacientes y métodos. Se incluyeron 128 pacientes con ICC y 55 controles sanos. Se realizó valoración clínica, ecocardiograma y muestra de sangre al inicio, y al final del estudio sólo a los pacientes. Se determinó TNF α sérico por ELISA, se determinaron los polimorfismos de TNFA -238 y -308 a partir de DNA genómico por PCR-RFLP, las variables categóricas se analizaron con Chi cuadrada y las numéricas con t de Student; se realizó regresión lineal para variables continuas, se utilizó ANOVA y Kruskal Wallis para analizar los efectos de los genotipos en los niveles séricos de TNF α .

Resultados. Se encontraron concentraciones elevadas de TNF α en pacientes con ICC, y se asociaron con menor fracción de expulsión del ventrículo izquierdo (FEVI), peor clase funcional, cardiopatía isquémica, insuficiencia renal crónica (IRC) e hipertensión arterial sistémica (HAS); el uso de talidomida no tuvo efectos sobre los parámetros clínicos ni ecocardiográficos de los pacientes; no se encontró asociación de los polimorfismos de TNFA con la presencia de ICC.

Conclusiones. Los pacientes con ICC tienen elevación de TNF α circulante y esto no se asocia a los polimorfismos genéticos estudiados. Los niveles altos de TNF α se asocian con peores parámetros ecocardiográficos, cardiopatía isquémica y comorbilidades; el tratamiento con talidomida no tuvo efectos benéficos en nuestros pacientes con ICC.

ABSTRACT

Background. Chronic heart failure (CHF) has high morbidity and mortality. Increased TNF α serum levels and tissue expression have been involved in CHF pathogenesis. TNF α production may be influenced by TNFA gene promoter polymorphisms (-238 and -308). TNF α inhibition may be a therapeutic target in CHF patients.

Objectives. To determine serum TNF α levels and TNFA gene promoter polymorphisms in -238 and -308 locations in CHF patients; and to determine if TNF α inhibition using thalidomide improves clinical and echocardiographic parameters in CHF patients

Patients and methods. We included 128 CHF patients and 55 healthy individuals. We performed basal and follow-up clinical evaluation, echocardiogram and serum TNF α levels (ELISA). TNFA -238 and -308 gene polymorphisms were determined by PCR-RFLP. Categorical variables were analyzed using Chi square, numerical variables were analyzed using Student's t test; lineal regression, ANOVA and Kruskal Wallis analyses were used for continuous variables and for TNF α serum level correlations.

Results. CHF patients had higher TNF α serum levels than controls and there was association of increased TNF α serum levels with worse left ventricle ejection fraction (LVEF), worse functional class, ischemic heart disease, chronic renal failure (CRF) and systemic hypertension. Thalidomide did not improve clinical or echocardiographic variables; there was no association of TNFA gene polymorphisms -238 and -308 with the presence of CHF.

Conclusions. CHF patients have higher TNF α serum levels than healthy controls and they do not correlate with the polymorphisms that we measured in our population. Higher TNF α serum levels were associated to worse echocardiographic parameters, with ischemic heart disease and comorbidities; thalidomide use in our CHF patients showed no benefit.

INTRODUCCION

Definición y generalidades

La insuficiencia cardíaca crónica (ICC) es un síndrome complejo, resultado de daño estructural o funcional al corazón, que provoca disminución en la función de bomba del corazón o aumento en las presiones de llenado en reposo y/o estrés, y disminución en la perfusión sistémica necesaria para mantener las demandas metabólicas del organismo. Los pacientes con esta patología desarrollan síntomas como disnea y fatiga y signos como retención hídrica y hepatomegalia. Hay muchos métodos para evaluar a los pacientes con insuficiencia cardíaca, pero no hay una prueba diagnóstica única, debido a que el diagnóstico es eminentemente clínico y se basa en una historia clínica cuidadosa y el conjunto de datos obtenidos en estudios paraclínicos de apoyo, como el ecocardiograma, y marcadores séricos, como la porción amino terminal del péptido cerebral natriurético (NT pro-BNP). (1)

Se clasifica en clases funcionales según el deterioro clínico del paciente (clasificación de la asociación del corazón de Nueva York (NYHA por sus siglas en inglés) (2):

- I. Pacientes con cardiopatía y sin limitación en sus actividades físicas
- II. Pacientes con cardiopatía que se traduce en limitación ligera de sus actividades físicas. Los síntomas de ICC aparecen con actividades ordinarias pero no hay síntomas en reposo.
- III. Pacientes con cardiopatía que resulta en limitación marcada de la actividad física. Los síntomas de ICC aparecen con actividad física menor a la ordinaria, pero no hay síntomas en reposo.
- IV. Pacientes con cardiopatía que no pueden realizar ninguna actividad física sin molestias. Los síntomas de ICC aparecen incluso en reposo.

Asimismo, de acuerdo a la historia natural de la enfermedad, la Fundación del Colegio Americano de Cardiología y las Guías de la Asociación Americana del Corazón propusieron la siguiente clasificación (3):

Estadio A. Paciente en riesgo alto de ICC pero sin enfermedad estructural en el corazón ni síntomas de insuficiencia cardíaca. Los factores de riesgo son cardiopatía isquémica, tabaquismo, hipertensión arterial sistémica, obesidad, diabetes y valvulopatía.

Estadio B. Daño estructural en el corazón pero sin signos o síntomas de insuficiencia cardíaca. Este estadio incluye pacientes en clase funcional I de NYHA, sin síntomas ni signos anteriores ni actuales de ICC.

Estadio C. Daño estructural en el corazón, con síntomas anteriores o actuales de ICC. Este estadio incluye pacientes en cualquier clase funcional de NYHA (incluyendo clase I con síntomas previos)

Estadio D. Insuficiencia cardíaca refractaria, que requiere intervenciones especializadas. Este estadio incluye a pacientes con clase funcional IV de NYHA con ICC refractaria.

Esta clasificación enfatiza la naturaleza progresiva del padecimiento y define el abordaje terapéutico apropiado para cada etapa.

Las causas de la ICC son diversas y no son objeto de discusión de este documento; basta decir que incluyen alteraciones que afectan al pericardio, miocardio, endocardio, válvulas cardíacas, vasos sanguíneos cardíacos y metabolismo del corazón.

Hay dos mecanismos fisiopatogénicos miocárdicos básicos que causan disminución del gasto cardíaco (2):

- a) Disfunción sistólica, en la cual hay disminución de la fracción de expulsión del ventrículo izquierdo (FEVI) por debajo de 40%. La causa más común de disfunción sistólica es la cardiopatía isquémica, seguida de miocardiopatías dilatadas idiopáticas, hipertensión arterial y valvulopatías.
- b) Disfunción diastólica, en la cual la FEVI es normal o limítrofe, pero hay alteraciones en la función diastólica. Las causas más comunes son hipertensión arterial sistémica, cardiopatía isquémica, cardiomiopatía obstructiva hipertrófica y las cardiomiopatías restrictivas.

Epidemiología

El envejecimiento de la población y la mejoría de la supervivencia de pacientes con padecimientos cardíacos, debido a la innovación en los tratamientos para cardiopatías de diversas etiologías, han provocado aumento en la prevalencia de la insuficiencia cardíaca crónica. A pesar de la disponibilidad de tratamientos más efectivos, la mortalidad de los pacientes con ICC continúa siendo alta, lo cual hace que sea prioritaria la detección temprana de este padecimiento en personas susceptibles, que se beneficiarían de medidas preventivas. (4).

La IC afecta aproximadamente a 5.1 millones de estadounidenses y a más de 23 millones de personas en el mundo, con 550,000 nuevos casos reportados anualmente, solamente en Estados Unidos de América (5). La prevalencia aumenta con la edad y se ha ido incrementando en las últimas décadas según registros en Estados Unidos de América (6, 7).

Datos obtenidos de la Organización Mundial de la Salud indican que en Latinoamérica existe prevalencia alta de los factores de riesgo asociados a ICC; esto es particularmente preocupante en nuestro país, donde sabemos que la diabetes mellitus, la hipertensión arterial sistémica, el tabaquismo y la obesidad tienen prevalencias elevadas y se han ido incrementando en los últimos años (8).

Existen escasos estudios epidemiológicos sobre IC en nuestro país, pero los datos disponibles indican que la cardiopatía isquémica (47%) y la cardiomiopatía dilatada idiopática (44%) son las 2 causas principales de insuficiencia cardíaca en México (9). Asimismo, la insuficiencia cardíaca es una causa importante de hospitalización y mortalidad en Latinoamérica, particularmente en adultos mayores. La duración de la hospitalización por ICC es mayor en Latinoamérica que en EUA y Canadá, y la mortalidad es heterogénea entre los países y entre los sistemas de hospitalización, es mayor en hospitales públicos, lo cual refleja la disparidad en el acceso a los servicios de salud en esta región del mundo (5-9).

Etiopatogenia

La ICC es un síndrome que resulta de interacciones mecánicas, moleculares, endocrinológicas y del sistema nervioso, con repercusiones hemodinámicas complejas (10). Los avances en el tratamiento de la IC y su temprana intervención pueden prevenir o retrasar la progresión, y seguramente mejorarían la expectativa de vida (11) **(Figura 1)**.

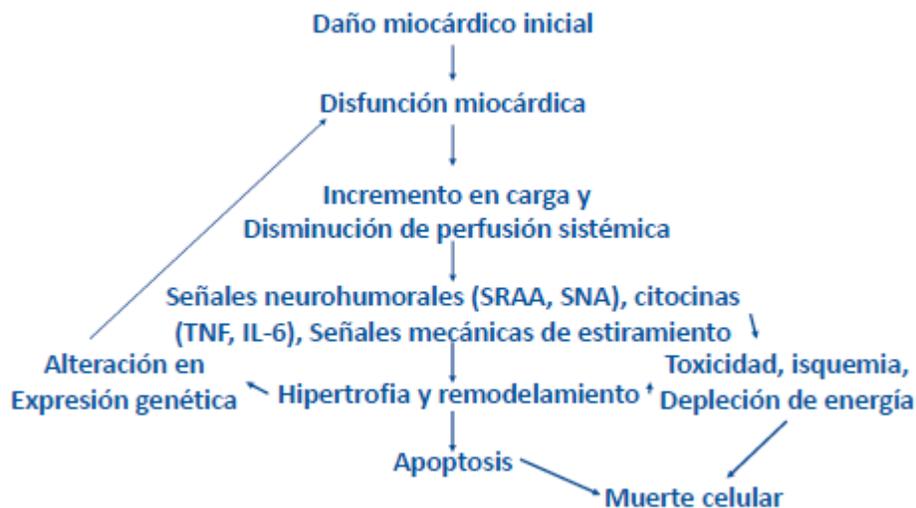


Figura 1. Relación entre vías neurohumorales y mecánicas que desencadenan en la presencia y desarrollo de insuficiencia cardíaca

Los principales determinantes del volumen expulsado por el ventrículo izquierdo son la precarga (retorno venoso y volumen al final de la diástole), la contractilidad miocárdica (la fuerza generada con un volumen determinado al final de la diástole) y la postcarga (la impedancia aórtica y el estrés de la pared vascular) (12). Las alteraciones en cualquiera de estas variables, conducen a alteraciones en la relación entre la presión, el volumen y el flujo, que conducen a la incapacidad del corazón de generar un gasto cardíaco suficiente para mantener las demandas fisiológicas del organismo **(Figura 2)**.

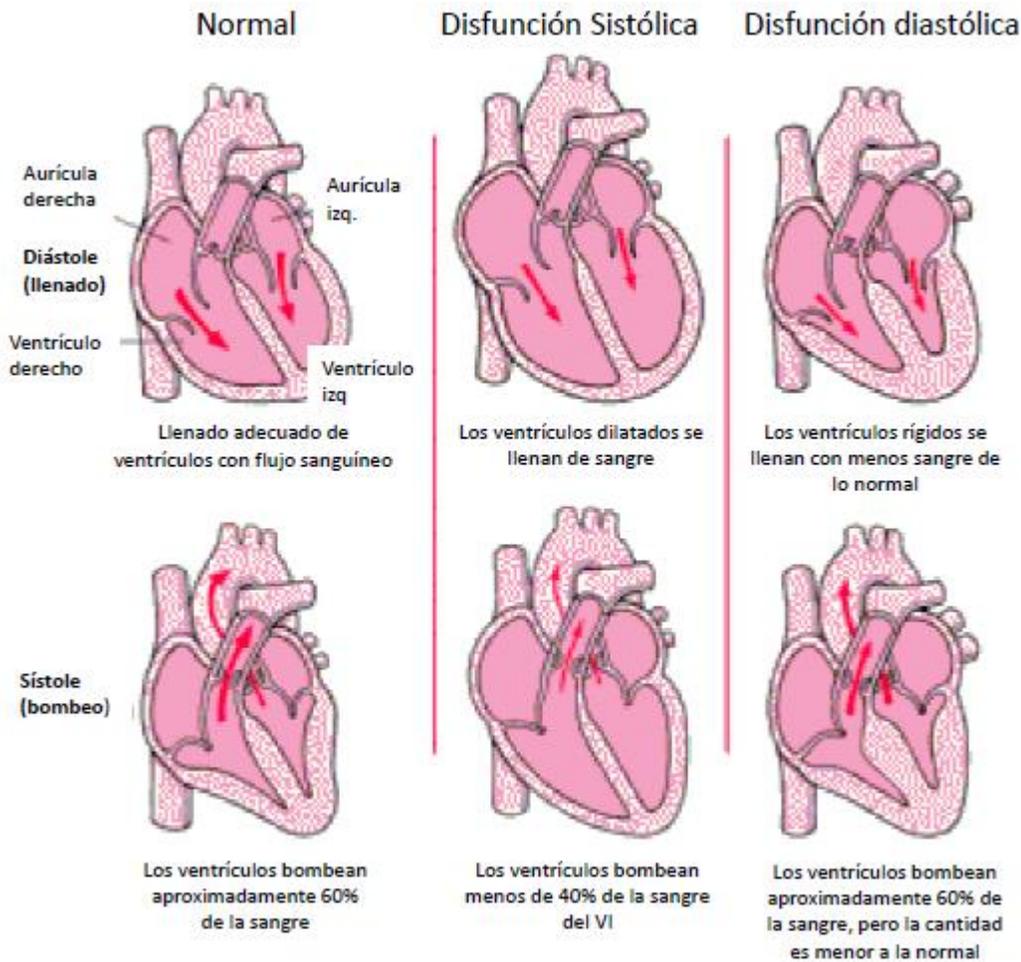


Figura 2. Alteraciones mecánicas principales en disfunción sistólica y diastólica. Modificado de Ross J. Jr, Braunwald E. Control of cardiac performance. En: Handbook of Physiology, vol 1, The Heart, Williams & Wilkins, Baltimore 1980. p.533.

Más allá de los factores mecánicos, existen evidencias experimentales y clínicas que demuestran que diversas citocinas, como el Factor de necrosis tumoral α ($TNF\alpha$), la Interleucina 1 (IL-1) e IL-6, participan en la fisiopatología de la ICC (13, 14). Particularmente el $TNF\alpha$ y su receptor soluble, pueden jugar un papel importante en la progresión de la ICC (15, 16, 17, 18). El $TNF\alpha$ es una citocina proinflamatoria, con múltiples efectos biológicos. La elevación de los niveles plasmáticos del TNF ocurre en una variedad de enfermedades cardiovasculares que incluyen miocarditis aguda, rechazo a transplante cardiaco (19), infarto del miocardio e ICC (18, 20, 21). La

sobreexpresión del factor de necrosis tumoral en tejido cardiaco en ratones transgénicos ocasiona hipertrofia ventricular, cardiomiopatía dilatada, inflamación intersticial, fibrosis, disminución de la respuesta adrenérgica y muerte prematura (22).

Por otro lado, los niveles séricos del TNF se relacionan con la severidad de la ICC medida por clase funcional de la NYHA, representando un marcador pronóstico (20, 23). El miocardio normal no expresa TNF, sin embargo, el incremento en la presión diastólica final del ventrículo izquierdo (PDFVI) puede ser estímulo para desencadenar su producción, lo cual mediante la inducción de apoptosis (24, 25) y de un efecto inotrópico negativo directo mediado por receptores miocárdicos (26), facilita la aparición de disfunción ventricular a largo plazo, incremento en PDFVI y mayor producción miocárdica de TNF, llevando a dilatación ventricular (27, 28) (**Figura 3**).

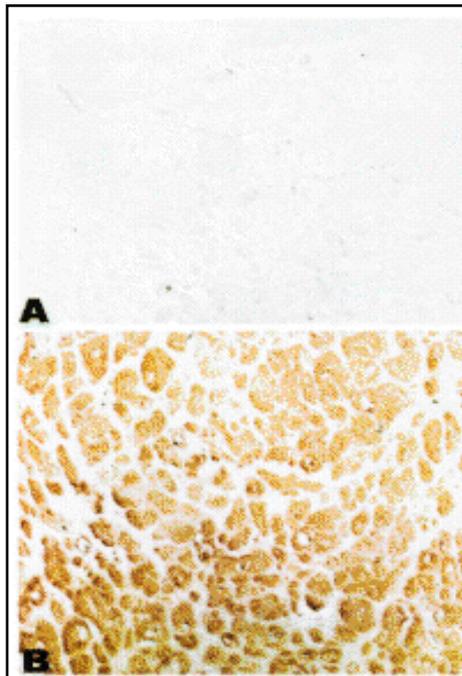


Figura 3. Miocardiocitos murinos normales (A) y con insuficiencia cardíaca (B) teñidos con anticuerpos monoclonales contra TNF α . (Torre-Amione et al. Circulation 1999; 100:1189-93).

Además, esta citocina es capaz de producir daño miocárdico por otros mecanismos como es la inducción de la óxido nítrico sintetasa, incremento de aminoácidos transportadores necesarios para la captura de L-arginina (precursor del óxido nítrico), inducción e incremento de la producción de radicales libres de oxígeno, disminución de la expresión de canales tipo-L de calcio en miocitos, modulación e incremento de otras citocinas como IL-6 e IL-10 (sustancias con efectos cardiotóxicos), así como disfunción endotelial. (29, 30).

Toda esta evidencia indica que la regulación de la producción de TNF α podría influir en la gravedad y progresión de la insuficiencia cardíaca. Parte de esta regulación podría explicarse por variantes genéticas que modulen la transcripción y producción de esta citocina.

Genes que codifican el TNF α

El locus del TNF α se encuentra en la región III del complejo principal de histocompatibilidad, en el brazo corto del cromosoma 6 (**Figura 4**), y está formado por los genes para TNF α , TNF β y linfotoxina β . Estos genes se han llamado TNFA, TNFB y LTB (**Figura 5**) (31, 32).

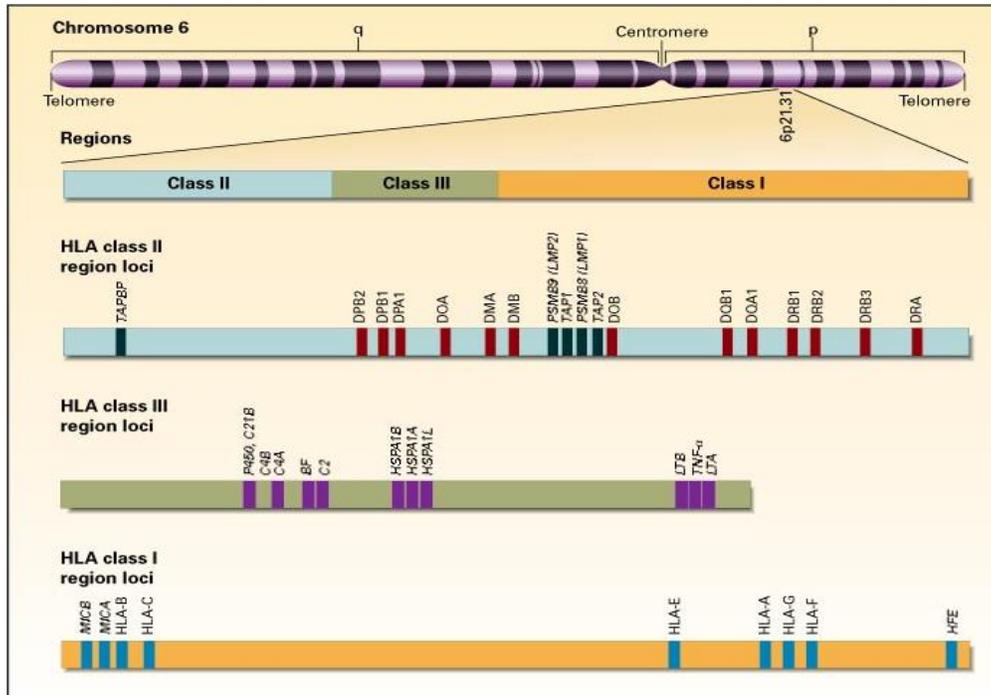


Figura 4. Mapa del complejo principal de histocompatibilidad. Modificado de Ruddle NH. Curr Opin Immunol 1992;4:327-332.

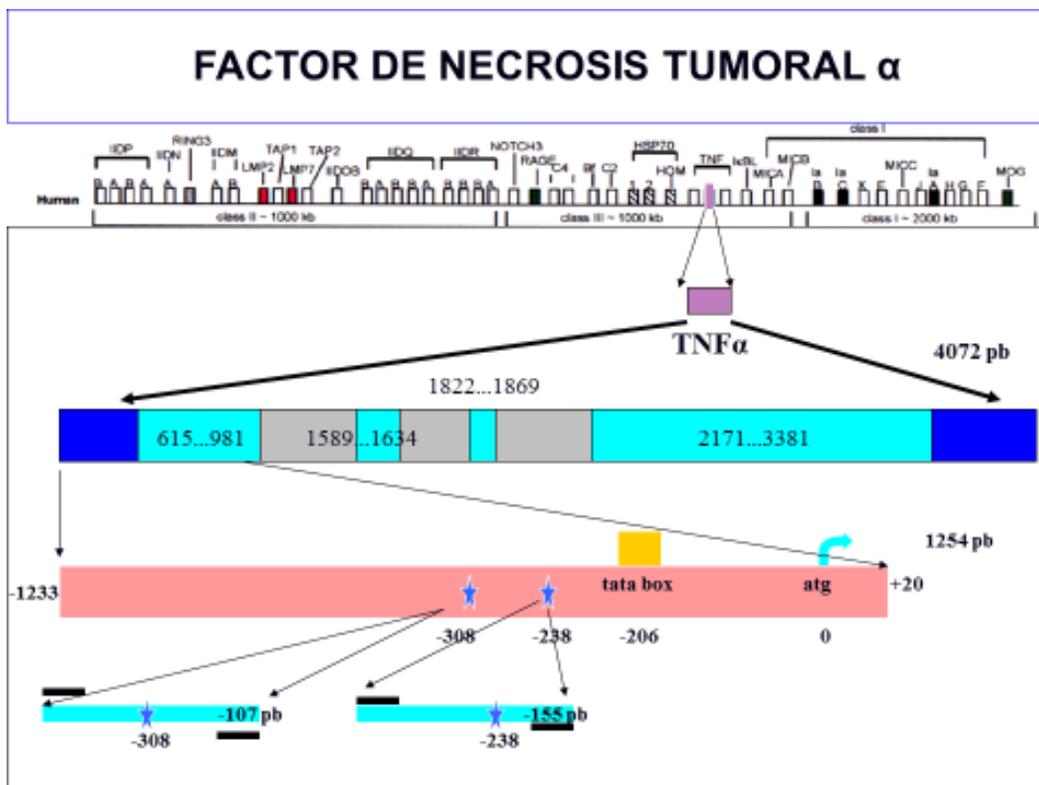


Figura 5. Mapa del gen TNFA

Se sabe que TNFA y B son polimórficos. Se han descrito varios polimorfismos bialélicos en las regiones promotoras del gen TNFA. En la posición -308 se encuentra la variante silvestre: TNF1 que tiene una guanina en dicha posición, y el TNF2 que tiene una adenina en esa misma posición. En la posición -238 se encuentra la variante silvestre TNFG que tiene una guanina en dicha posición y la TNFA que tiene una adenina en dicha posición.

Los polimorfismos de las posiciones -308 y -238 (33, 34) se han asociado a enfermedades autoinmunes e inflamatorias en diversos grupos étnicos. (**Tabla 1**). tales como lupus eritematoso generalizado (35), artritis reumatoide (36, 37), enfermedad inflamatoria intestinal en mexicanos, caucásicos y japoneses (38, 39, 40, 41, 42), rinitis alérgica (43), asma (44) y choque séptico (45, 46), entre otras, con resultados controvertidos (47, 48). Asimismo se ha descrito que la variante alélica TNFA*2 (la menos frecuente, polimorfismo consistente en la presencia de adenina en vez de guanina en la posición -308) es más eficiente como promotor de la producción de la proteína que las otras variantes (41, 49, 50, 51), se asocia a niveles mayores de TNF α y de su enzima convertidora (TACE) (52) y se encuentra en desequilibrio genético importante con alelos HLA clase II, particularmente con HLA-DR3, dentro del haplotipo A1, B8, DR3, asociado con autoinmunidad en prácticamente todos los grupos étnicos (50, 53, 54).

Tabla 1. Estudios sobre polimorfismos del promotor del gen de TNF alfa en diversas enfermedades inflamatorias y autoinmunes.

Referencia	Polimorfismos	Población	Resultados
Zuniga J 2001 (35)	-308, -238	LEG (mexicanos)	Incremento TNF-238G/A en LEG y desequilibrio genético con DRB1
Vinsaco J 1997 (36)	-308, -238	AR (españoles)	Sin asociación
Maxwell JR 2008	-308	AR (ingleses) en	TNF-308A/A y TNF-

(37)		tratamiento con anti-TNF	238G/A asociados a mala respuesta a anti-TNF
Yamamoto JK 2004 (38)	-308, -238, HLA-DR	CUCI (mexicanos)	TNF-308A asociado a CUCI
Koss K 2000 (39)	TNF, LT alfa, IL-10	CUCI (caucásicos europeos)	Haplotipo TNF +488G,-238G,-308A asociado a colitis extensa y mayor producción de TNF
Hirv K 1999 (40)	TNF, HLA-DR, -DQ	CUCI (caucásicos europeos)	TNFA2 (-308) asociado a CUCI ANCA+
Bouma G 1996 (41)	TNF	EII (caucásicos europeos)	TNFA2 (-308) menos frecuente en CUCI
Sashio H 2002 (42)	TNF, superfamilia del receptor TNF	EII (japoneses)	Haplotipo TNF -308 A, -238 G asociado a CUCI, TNFRSF1B AT asociado a Crohn
Fuertes E 2013 (43)	TNF (-308: rs1800629), TLR2, TLR4 (rs1927911), Glutation S transferasa 1	Rinitis alérgica (canadienses)	Mayor riesgo de rinitis alérgica con TNFA2 y TLR4
Yang G 2014 (44)	TNF -308 (meta-análisis)	Asma (asiáticos)	Asociación de TNFA2 con asma atópico
Kothari N 2013 (45)	TNF -376, -308, -238, +489, TNF	Sepsis, choque séptico (indios)	Mayor frecuencia de alelo mutante (A) en

	suero		los 4 SNPs asociado a sepsis y choque séptico
Paskulin DD 2011 (46)	TNF -308	Sepsis (brasileños)	Sin asociación
Ghaderian SM 2011 (52)	TNF-308 y TACE	Infarto de Miocardio (iraníes)	Mayores niveles de TNF y TACE en suero en TNFA2

Existen algunos estudios que han evaluado los niveles séricos y polimorfismos de TNF α en pacientes con insuficiencia cardíaca de diversos grupos étnicos y con distinta etiología (**Tabla 2**). Por ejemplo, Ito et al evaluaron los polimorfismos -308 de TNF α y el -1083 de IL-10 en pacientes con cardiomiopatía dilatada idiopática de origen japonés (55). Ellos encontraron mayor frecuencia del alelo TNFA2 (adenina en la posición -308) en pacientes, comparado contra controles sanos (13.5% vs 3.0%, p=0.0084); también encontraron incremento en los niveles séricos de TNF α en pacientes, sin predominio en el grupo con el polimorfismo TNFA2. En el estudio de Kubota et al se evaluaron los polimorfismos -308 y +252, lo mismo que TNF α circulante en 2 grupos de pacientes caucásicos y controles, con insuficiencia cardíaca de diversas etiologías (56); sin ninguna diferencia significativa en los polimorfismos ni en los niveles séricos de TNF α entre pacientes y controles. El estudio de Densem et al (57) evaluó la frecuencia del polimorfismo -308 del TNF α en pacientes con insuficiencia cardíaca terminal, que fueron sometidos a trasplante cardíaco, y en sujetos sanos; si bien no se encontraron diferencias entre los 2 grupos globales, se observó que los pacientes con insuficiencia cardíaca de origen viral o idiopático, tuvieron mayor frecuencia del alelo TNFA2 (adenina en la posición -308), que aquellos con insuficiencia cardíaca de origen isquémico (37% vs 26%, p=0.03) y los controles sanos (37% vs 27%, p=0.05). Bruggink et al (58) encontraron resultados similares en un grupo de pacientes con cardiomiopatía dilatada e isquémica; sus 90 pacientes con ICC mostraron niveles séricos más altos de TNF que los controles, y mayor frecuencia de TNF2 (A en posición -308) en pacientes

con cardiomiopatía dilatada (resultado marginal); no hubo diferencia entre grupos para los otros polimorfismos (-238, -244). Spinarová L y Cols. (59) no encontraron relación de los polimorfismos de TNF alfa (-308 y -238) ni de endotelina, con la presencia de insuficiencia cardíaca, ni con niveles séricos de TNF α o endotelina en 266 pacientes con ICC. Gerasimova y Cols. (60) evaluaron los polimorfismos -238 de TNFA y -174 de IL-6 en 151 pacientes rusos con insuficiencia cardíaca; este es el único estudio que ha mostrado asociación de la presencia del alelo A (-238) de TNFA con desenlaces desfavorables en pacientes con ICC; en su estudio, la presencia de dicho alelo se asoció con menor tiempo hasta descompensación de la ICC y menor sobrevida. Respecto a otras etiologías de insuficiencia cardíaca, un par de estudios en pacientes con cardiomiopatía dilatada por enfermedad de Chagas mostraron resultados controvertidos: Drigo y Cols. reportaron que el polimorfismo -308 no tiene relación con la presencia de cardiomiopatía dilatada por Chagas (61), pero sí se asocia a menor sobrevida (RR 2.28, p=0.02) en pacientes brasileños con el alelo A (TNF2) en la posición -308 (62).

Tabla 2. Estudios sobre niveles séricos y polimorfismos de TNF alfa en pacientes con insuficiencia cardíaca.

Referencia	Polimorfismos y otras mediciones	Población	Resultados
Ito M 2000 (55)	TNF -308 IL-10 -1083 -TNF suero	Cardiomiopatía dilatada (japoneses)	Asociación con TNFA2 (adenina) Elevación TNF α
Kubota T 1998 (56)	TNF -308, +252 -TNF suero	ICC (caucásicos EU), diversas causas	Sin asociación
Densem CG 2002 (57)	TNF -308	ICC diversas causas (ingleses)	TNFA2 asociado a viral e idiopática
Bruggink AH 2008 (58)	TNF -308, -238, -244	ICC dilatada e isquémica	TNFA2 (-308) más frecuente en

	-TNF suero	(caucásicos en Europa)	dilatados Elevación TNF α
Spinarovà L 2008 (59)	TNF -308, -238, endotelina -TNF y endotelina en suero	ICC diversas causas (caucásicos en Europa)	Sin asociación
Gerasimova ON 2015 (60)	TNF -238, IL-6 - 174	ICC diversas causas, (rusos)	-238A asociado a menor sobrevida
Drigo SA 2007 (61)	TNF -308	Cardiomiopatía dilatada por Chagas (brasileños)	Sin asociación
Drigo SA 2006 (62)	TNF -308	Cardiomiopatía dilatada por Chagas (brasileños)	TNFA2 (-308) asociado a menor sobrevida en presencia de cardiomiopatía

La discordancia en los resultados de estos estudios puede explicarse, en parte, por diferencias en la selección de pacientes y la diversidad en la etiología de la insuficiencia cardíaca (63). Los estudios que mostraron alguna asociación fueron aquellos que tenían pacientes con etiologías más homogéneas de la insuficiencia cardíaca.

Factor de necrosis tumoral α como potencial blanco terapéutico para insuficiencia cardíaca crónica

Debido a la evidencia de la participación de TNF α en la fisiopatología de la insuficiencia cardíaca crónica, a finales de la década de los noventa y principios del milenio se planteó que el TNF α pudiera ser blanco de nuevas estrategias terapéuticas en estos pacientes. El uso de inhibidores en su síntesis podría ser eficaz para prevenir la progresión de la enfermedad. En ratones transgénicos, con sobreexpresión de TNF, la

neutralización de esta citocina, mediante de la expresión del dominio extracelular del receptor de TNF, disminuyó la inflamación miocárdica con disminución del diámetro del ventrículo izquierdo al final de la diástole (22). Algunos estudios pequeños en humanos mostraron resultados alentadores, con el uso de etanercept en pacientes con ICC (64).

La talidomida es un fármaco derivado del ácido glutámico, producido por primera vez en Alemania en 1954, usada inicialmente como antiemético, sedante e hipnótico durante el embarazo (65, 66, 67); su uso se relacionó con la aparición de defectos congénitos, particularmente focomelia, en 12,000 recién nacidos, por lo que fue retirado de los mercados internacionales en 1961 (68, 69). Se ha descubierto que tiene efectos anti-angiogénicos (70) y anti-inflamatorias (71, 72). Es ahora utilizada en pacientes con cáncer (glioblastoma multiforme, hepatocarcinoma), trastornos mieloproliferativos (mieloma múltiple), trasplante de médula ósea, enfermedades autoinmunes y en diversas enfermedades dermatológicas (lepra, enfermedad de Behcet, aftosis oral, eritema multiforme recurrente, prúrigo nodular, pioderma gangrenoso, úlceras orales y esofágicas relacionadas con el virus de la inmunodeficiencia humana, lupus cutáneo, vasculitis cutánea) (73). En 1984 se describieron los efectos inmunomoduladores de talidomida, al inhibir la fagocitosis de leucocitos polimorfonucleares, así como la quimiotaxis en cultivo de monocitos (74), sugiriendo que estas propiedades podrían ayudar a explicar las propiedades anti-inflamatorias. En 1991 se demostró que la talidomida es un potente inhibidor del factor de necrosis tumoral α (TNF α), en monocitos humanos *in vitro* como *in vivo* (75). La talidomida es capaz de disminuir el TNF α en un 50 a 80 % al acortar la vida media de su RNAm (76, 77, 78); otras propiedades inmunomoduladoras de la talidomida son la inhibición de la respuesta proliferativa de linfocitos a estímulos mitógenos (79), disminución de la relación de linfocitos CD4/CD8 (80), inhibición de la replicación del VIH tipo 1 en monocitos infectados, atribuido en parte al papel del TNF α en la activación del VIH-1 (81, 82), lo mismo que estimulación de la respuesta de células T y de producción de IL-12 en pacientes con VIH (83).

Desde el año 2000, Davey y Cols. (84) y otros autores plantearon la posibilidad de utilizar talidomida como tratamiento en pacientes con insuficiencia cardíaca, debido a sus efectos inmunomoduladores, particularmente la inhibición de la producción de TNF α . Hasta el momento en el que se inició este protocolo, sólo había estudios preclínicos y clínicos con muy pocos pacientes en los que se utilizó talidomida como tratamiento para pacientes con ICC; por ejemplo Agoston y Cols. evaluaron el efecto de talidomida en miocitos cardíacos que recibieron un reto con lipopolisacáridos y en 7 pacientes con insuficiencia cardíaca, encontrando que la talidomida disminuyó la biosíntesis de TNF α en miocitos expuestos a este fármaco, y fue segura en dosis bajas en pacientes con insuficiencia cardíaca avanzada (85), por lo que nosotros propusimos valorar la eficacia terapéutica de la talidomida en la progresión de la ICC, al disminuir la actividad del TNF α en un ensayo clínico. Paralelamente, en ese tiempo se estaba evaluando el uso de fármacos anti-TNF como etanercept para pacientes con ICC. Los resultados iniciales fueron alentadores ya que mostraron que los fármacos anti-TNF disminuyeron los niveles séricos en pacientes con ICC (86).

JUSTIFICACIÓN

1. Se desconoce si los polimorfismos del promotor del gen TNF α asociados a mayor producción de esta citocina (-308A-G y -238), se encuentren asociados a la presencia y gravedad de la insuficiencia cardíaca crónica en pacientes mestizos mexicanos.
2. Se desconoce si los niveles séricos de TNF α en pacientes con insuficiencia cardíaca crónica se asociarán a los polimorfismos del promotor del gen de TNF α -308 y -238.
3. Se desconoce si los polimorfismos del gen TNF α se encuentran en desequilibrio genético con los genes HLA-B y HLA-DRB1 en estos pacientes.
4. Se desconoce si los pacientes con insuficiencia cardíaca mejorarán su clase funcional y otros parámetros ecocardiográficos con el tratamiento con talidomida. Esta parte estudio va encaminado a la búsqueda de nuevas opciones de tratamiento para insuficiencia cardíaca crónica que permita limitar la progresión y mortalidad de este padecimiento.

HIPÓTESIS

1. La distribución de frecuencias génicas de los alelos de TNFA, será diferente en los pacientes con ICC, comparada con el grupo control, y los alelos asociados a mayor actividad promotora de transcripción, se encontrarán sobrerrepresentados en los primeros.
2. Los niveles séricos de TNF α se encontrarán elevados en pacientes con ICC comparados con controles, y se encontrarán más elevados en pacientes portadores de polimorfismos asociados a mayor producción de TNF α (adenina en posición -308 –alelo TNF2- y adenina en posición -238 –alelo TNFA-).
3. De encontrarse diferencias en los polimorfismos de TNF α entre pacientes y controles, el efecto del polimorfismo de TNF α será independiente al desequilibrio genético de este gen con el HLA-DR y HLA-B.
4. Los pacientes con insuficiencia cardíaca crónica que reciban talidomida mostrarán mejoría de la gravedad de la insuficiencia cardíaca medida con la clase funcional de la NYHA, así como con parámetros ecocardiográficos (fracción de expulsión, fracción de acortamiento y de las dimensiones ventriculares) al compararse con los controles.

OBJETIVOS

1. Determinar la frecuencia de los polimorfismos genéticos de las regiones promotoras del gen TNFA (-238 y -308), en pacientes con insuficiencia cardíaca crónica, y compararlas con controles sanos.
2. Si se encuentra asociación con el gen TNFA, determinar la frecuencia de los genes HLA-B y HLA-DR en pacientes y controles para obtener el desequilibrio genético con los genes de TNF y su posible influencia adicional en el desarrollo de la enfermedad.
3. Determinar niveles séricos de TNF α en pacientes con insuficiencia cardíaca crónica y controles para compararlos entre estos grupos, así como entre pacientes con ICC con los diferentes polimorfismos de TNF medidos.
4. Determinar el efecto de la administración de talidomida en la clase funcional (según la NYHA), fracción de expulsión, fracción de acortamiento y de las dimensiones ventriculares en pacientes con insuficiencia cardíaca crónica clase funcional II, III, IV.

PACIENTES Y MÉTODOS

El estudio tuvo 2 fases:

- a) Primero una fase transversal en la que se midieron niveles séricos y polimorfismos genéticos del promotor del gen TNF alfa en pacientes con ICC y sujetos sanos.
- b) Fase prospectiva, aleatorizada, abierta, controlada con placebo, para evaluar el efecto de talidomida en parámetros clínicos y ecocardiográficos en pacientes con insuficiencia cardíaca congestiva.

Pacientes

Se incluyeron 128 pacientes mayores de 18 años de edad con insuficiencia cardíaca secundaria a cardiopatía isquémica o dilatada, con clase funcional I-IV (New York Heart Association) que se encontraban en vigilancia en la consulta de la Clínica de Insuficiencia Cardíaca del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición, con tratamiento estandar (diuréticos, inhibidores de ECA o antagonistas de los receptores de angiotensina II, digitálicos) estable en los 2 meses previos a la aleatorización, con fracción de expulsión menor de 40%. Todos los pacientes, así como 2 generaciones previas fueron nacidos en México. El reclutamiento fue de mayo de 2004 a abril de 2005. Para el ensayo clínico se incluyeron sólo pacientes con clase funcional II-III en el momento de la inclusión (80 pacientes). Este protocolo fue aprobado por el comité de ética del INCMNSZ y los pacientes firmaron una carta de consentimiento informado; todos los procedimientos se realizaron de acuerdo a los contenidos de la declaración de Helsinki.

Los criterios de exclusión fueron: infarto agudo al miocardio o angina inestable dentro de los 90 días anteriores al inicio del estudio, contraindicación para tratamiento con talidomida (infecciones graves, sistémicas o locales, hipersensibilidad, embarazo, neuropatía periférica), uso de fármacos inmunomoduladores, como cloroquina, metotrexate, azatioprina, ciclofosfamida, leflunomida, anti-TNFalfa o prednisona (o su equivalente; más de 15 mg/d por más de 30 días), pacientes con insuficiencia cardíaca

secundaria a abuso de alcohol, trasplante cardiaco, desfibriladores implantables, procedimientos como cirugía de revascularización arterial coronaria o angioplastia en los pasados 4 meses, mujeres en edad fértil, embarazo (éste último fue criterio de exclusión y de eliminación), lactancia.

A los pacientes con IC se les realizó una evaluación clínica basal, mensual, y a las 24 semanas y se incluyeron en una base de datos que contiene: lugar de residencia, edad, sexo, origen étnico, causa de insuficiencia cardiaca, historia de infarto agudo miocárdico (IAM), enfermedades co-existentes, medicamentos utilizados, clase funcional de la NYHA, niveles de TNFalfa en sangre, alelos de TNF-308 y TNF-238 (sólo en determinación basal), parámetros ecocardiograficos (DdfVI, DsfVI, distancia E-S, Fracción de acortamiento y Fracción de expulsión). También se registraron niveles de catecolaminas, endotelina I y troponina que forman parte de la evaluación de la Clínica de Insuficiencia Cardíaca.

Después de la evaluación basal, los pacientes con insuficiencia cardíaca clase funcional II-III fueron aleatorizados, en proporción 3:1 respecto al grupo control para recibir tratamiento habitual (60 pacientes) o tratamiento habitual más talidomida (20 pacientes). La dosis inicial de talidomida fue de 100 mg/día. Si esa dosis fue bien tolerada durante 10 días, la dosis se aumentaba a 100 mg cada 12 horas, hasta completar 24 semanas. Los pacientes fueron vistos cada mes por un médico cardiólogo, quien realizaba una evaluación clínica y registraba síntomas, clase funcional y se evaluaban los efectos adversos de la talidomida: alopecia, amenorrea, constipación, clonus, mareo, edema, cefalalgía, irritabilidad, letargía, leucopenia, náusea, prurito, datos clínicos de neuropatía sensorial, taquicardia, bradicardia, xerostomía; los efectos adversos y cambios en los valores de laboratorio fueron medidos sobre la escala de Common Toxicity Criteria of the National Cancer Institute. La administración de talidomida y su seguimiento se realizó acorde a las guías para administración de talidomida (87, 88, 89, 90).

De acuerdo con las recomendaciones de la Asociación Americana del Corazón/Colegio Americano de Cardiología (AHA/ACC) y el grupo de trabajo de la Sociedad Europea de Cardiología (ESC), los pacientes continuaron recibiendo tratamiento farmacológico estándar para insuficiencia cardíaca: inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina, bloqueadores de receptores de angiotensina, beta bloqueadores, antagonistas de receptor de aldosterona, antagonistas de canales de calcio, digoxina y diuréticos (91, 92)

Los controles para la determinación de polimorfismos genéticos y para niveles séricos de TNF α fueron 55 sujetos sanos, pareados por edad (± 5 años), género y grupo étnico, provenientes del banco de sangre del Instituto, que firmaron el consentimiento informado para la toma de muestra de sangre para extracción de DNA.

Determinación de TNF alfa sérico

Se tomaron 5 ml de sangre venosa periférica basales (pacientes y controles sanos) y después de 24 semanas de tratamiento (sólo pacientes). Todas las muestras se centrifugaron para separar el suero y éste fue almacenado a -70°C hasta su procesamiento. Las concentraciones séricas de TNF alfa se determinaron por ELISA (kit Quantikine de TNF alfa humano, R&D Systems). (93).

Ecocardiograma

A todos los pacientes se les realizó un ecocardiograma transtorácico dentro de los 30 días previos a su inclusión al estudio. Se realizaron ecocardiogramas bidimensionales, de ángulo amplio, en decúbito lateral izquierdo, con un equipo Hewlett Packard Sonos 5000 del Departamento de Cardiología del INCMNSZ. Se obtuvieron múltiples tomas y se seleccionaron las: apicales de cuatro cámaras y apicales de dos cámaras para evaluación. El eje largo del ventrículo izquierdo se midió al final de la diástole y se consideró como el eje axial a la mayor medición en cualquiera de las dos vistas apicales.

Los parámetros ecocardiográficos se estimaron con fórmulas estándar de acuerdo a las recomendaciones de la Sociedad Americana de Ecocardiografía. El ecocardiografista fue el mismo para todos los estudios y estuvo cegado al tratamiento de los pacientes.

Determinación de polimorfismos de TNF alfa

Se tomaron muestras de 5-10 ml de sangre venosa periférica con EDTA y se aisló DNA genómico por el método de expulsión salina, como se ha descrito previamente (94).

Brevemente:

1. Lisis de eritrocitos: se tomaron 5-10 ml de sangre venosa periférica en EDTA y se mezclaron con 10 ml de solución de lisis de eritrocitos (pH 7.5; sucrosa 0.32 M, Cloruro de magnesio (MgCl₂) 5 micromolar en agua, tris-HCl 12 micromolar), y 250 microlitros de tritón; se mezcló y centrifugó por 10 min a 3000 RPM. Se desechó el sobrenadante por decantación.
2. Lisis y precipitación de proteínas: El botón se resuspendió con 1600 microlitros de solución que contenía proteinasa K (10 mg/ml) y buffer de proteinasa K (Cloruro de sodio -NaCl- 0.375 M + EDTA 0.12 M; pH 8), lo mismo que 100 microlitros de sulfato dodecilsulfato (SDA) al 20%. La suspensión se incubó a 55°C durante 15 minutos y después se agregaron 600 microlitros de NaCl 5M y se mezcló (para precipitar proteínas) y centrifugó durante 10 min a 3000 RPM.
3. Precipitación de DNA: El sobrenadante se separó en 2 tubos eppendorf, se le agregaron 500 microlitros de etanol absoluto, para precipitar el DNA, y se agitó suavemente. Se centrifugó por 10 min a 14,000 RPM, para precipitar el DNA y se agregó 1 ml de etanol frío al 70%. Se mezcló y se colocó en la cámara de desecación durante 4-24 horas.
4. El DNA desecado se resuspendió en 200 microlitros de agua y se almacenó en refrigeración hasta su análisis por técnicas de biología molecular.

La determinación de polimorfismos de los promotores del gen de TNF alfa: TNF-238 y TNF-308, se realizó como se ha descrito previamente con reacción en cadena de la polimerasa (PCR-RFLP) (95), brevemente: para el polimorfismo TNF -238 G se utilizaron los oligonucleótidos sentido 5'-AGACCCCCTCGGAATCG-3' y antisentido 5'-

CCGGATCATGCTTTTCAGTGC-3' (producto de PCR de 447 pares de bases –pb); para el polimorfismo TNF -238 A se utilizaron los oligonucleótidos sentido 5'-GCCCTCCCAGTTCTAGTTCTATC-3' y antisentido 5'-CACACTCCCCATCCTCCCTGGTCT-3' (producto de PCR de 209 pb). Como control positivo se amplificó un fragmento de ADN constante de 608-pb, con oligonucleótidos sentido 5'-GCCCTCCCAGTTCTAGTTCTATC-3' y antisentido 5'-CCGGATCATGCTTTTCAGTGC-3'. Después de la fase de elevación de la temperatura del termociclador, se realizaron 5 ciclos de 94^o, 67^o y 72^oC (60 segundos cada uno), seguidos de 25 ciclos de amplificación de 94^o, 62^o y 72^oC (60 segundos cada uno). Los oligonucleótidos para el polimorfismo TNF1 -308 (caracterizado por la presencia de guanina en la posición -308) fueron sentido 5'-GGCAATAGGTTTTGAGGGGCGTGG-3' y antisentido 5'-AAGCGGTAGTGGGCCCTGCACCTT-3' (producto de PCR de 216 pb), mientras que para el alelo TNF2 -308 (caracterizado por la presencia de adenina en la posición -308) utilizamos los oligonucleótidos de sentido 5'-GCCCTCCCAGTTCTAGTTCTATC-3' y antisentido 5'-ACCCTGGAGGCTGAACCCCGGCCT-3' (producto de PCR de 139 pb). Como control interno se amplificó un fragmento de ADN constante de 354 pb con los oligonucleótidos de sentido 5'-GCCCTCCCAGTTCTAGTTCTAT-3' y antisentido 5'-AAGCGGTAGTGGGCCCTGCACCTT-3'. El calentamiento del termociclador fue seguido de 30 ciclos de 94^o, 62^o y 72^oC (60 segundos cada uno). Los productos amplificados fueron analizados en geles de agarosa al 2% o de poliacrilamida al 12% teñidos con bromuro de etidio.

Análisis estadístico

Se construyó una base de datos en SPSS v.20 y se incluyeron datos demográficos, clínicos, ecocardiográficos y de laboratorio.

Las variables numéricas se expresaron en media +/- DE. Para el análisis de dichas variables se utilizó prueba de t de Student, para comparar las medias. Se utilizó un análisis de regresión lineal, para determinar la relación entre variables continuas. Las diferencias entre proporciones de variables categóricas y de polimorfismos de TNF alfa fueron evaluadas con prueba de chi cuadrada Mantel-Haenszel, utilizando el programa

estadístico EPIINFO. Si el número de alguna celda de la tabla de 2 x 2 era menor a 5, se utilizó la prueba exacta de Fisher. Los valores que se consideraron significativos fueron aquellos con $p < 0.05$ y se corrigieron con el método de Bonferroni para comparaciones múltiples cuando fue necesario, multiplicando el valor de p por el número de comparaciones. Se estimó la razón de momios, así como los intervalos de confianza a 95%.

Se utilizaron ANOVA y prueba de Kruskal-Wallis, para analizar los efectos de los genotipos de TNF en los niveles séricos de $\text{TNF}\alpha$.

Las mismas comparaciones se realizaron después del tratamiento con talidomida.

Las variables dependientes a medir fueron: clase funcional, dimensión de cavidad del VI, fracción de acortamiento, fracción de expulsión por ecocardiograma, concentración de niveles séricos de $\text{TNF}\alpha$.

RESULTADOS

Se incluyeron en el estudio 128 pacientes con insuficiencia cardíaca y 55 controles sanos. Los niveles séricos de TNF α se encontraron dentro del rango de 3.39-15.13 pg/ml. Independientemente de la clase funcional y las características ecocardiográficas, los pacientes con IC tuvieron niveles séricos de TNF α mayores a los sujetos sanos (6.72 ± 0.2 vs. 5.5 ± 0.2 pg/ml, respectivamente; $p= 0.02$). Los pacientes con clase funcional I tuvieron niveles menores de TNF α que aquellos con clases funcionales II-IV ($p=0.05$ y $p=0.0001$, respectivamente), sin embargo, no hubo diferencias entre los sujetos con clases II y III.

Los análisis univariados y multivariados de las concentraciones séricas de TNF α y las características clínicas de los pacientes con insuficiencia cardíaca se muestran en la **Tabla 3**.

Tabla 3. Características iniciales de los pacientes con insuficiencia cardíaca crónica (ICC) de acuerdo con clase funcional.

	Clase funcional NYHA			Total (128)	p
	I (n=72)	II (n=37)	III (n=19)		
Edad (años)	58 ± 16	59 ± 17	62 ± 14	59 ± 16	0.61
Género (%) M/F	47(66)/25(34)	17(48)/20(52)	8(42)/11(58)	72(56)/56(44)	0.16
T evolución (meses)	18.1 ± 18	10.5 ± 10	17 ± 22	15 ± 18	0.10
DM (%)	29 (40)	23 (63)	12 (62)	64 (50)	0.06
HAS (%)	45 (63)	28 (76)	8 (44)	81 (63)	0.73
IRC (%)	21 (29)	12 (33)	9 (47)	42 (33)	0.34
Sobrepeso (%)	27 (38)	15 (40)	6 (33)	48 (37)	0.87
Obesidad (%)	14 (20)	6 (16)	3 (16)	23 (18)	0.90
IMC	26.2 ± 4	25.4 ± 4	25 ± 6	25.9 ± 4	0.73
DCr (ml/min)	70.5 ± 36	68 ± 39	68 ± 40	69 ± 37	0.95
Catecolaminas (pg/ml)	706 ± 485	1032 ± 400	667 ± 150	796 ± 150	0.64
Epinefrina (pg/ml)	42 ± 38	32 ± 21	28 ± 23	37 ± 32	0.27
Norepinefrina (pg/ml)	532 ± 323	528 ± 427	389 ± 157	510 ± 341	0.45
Dopamina (pg/ml)	43 ± 96	25 ± 22	11 ± 9.9	33 ± 73	0.38
Colesterol (mg/dl)	184 ± 44	182 ± 38	181 ± 53	183 ± 43	0.95
TG (mg/dl)	164 ± 96	180 ± 137	169 ± 103	172 ± 110	0.86
Endotelina (pg/ml)	6.89 ± 5.3	5.3 ± 3	5.6 ± 3	6.2 ± 4	0.29
TroponinaT (pg/ml)	0.04 ± 0.04	0.05 ± 0.09	0.22 ± 0.06	0.07 ± 0.23	0.05*
Etiología IC					
Dilatada (%)	25 (35)	16 (43)	6 (31)	47 (37)	0.60
Isquémica (%)	41 (57)	18 (48)	12 (64)	71 (55)	0.33
Otra (%)	6 (8)	3 (9)	1 (5)	10 (8)	
Variables ecocardiograma					
FE (%)	43 ± 5	39 ± 6	29 ± 6	37 ± 5	0.05*

FAC (%)	26 ± 8	22 ± 8	20 ± 10	24 ± 9	0.02*
DAI (mm)	43 ± 9	43 ± 6	44 ± 9	43 ± 8	0.75
DDVI (mm)	50 ± 9	52 ± 10	52 ± 13	51 ± 10	0.60
TRIVI (mseg)	139 ± 146	99 ± 21	114 ± 20	123 ± 110	0.32
IC	8.8 ± 5	8.4 ± 5	10.2 ± 4	8.8 ± 5	0.59

*Comparación entre clase funcional I y II-III

DM: Diabetes mellitus, HAS: hipertensión arterial sistémica, IRC: insuficiencia renal crónica, IMC: índice de masa corporal, DCr: depuración de creatinina, TG: triglicéridos, FE: fracción de expulsión, FAC: fracción de acortamiento, DAI: diámetro de la aurícula izquierda, DDVI: diámetro diastólico del ventrículo izquierdo: TRIVI: tiempo de relajación isovolumétrica del ventrículo izquierdo, IC: índice de contractilidad.

En el análisis univariado, encontramos asociación entre niveles altos de TNF α y cardiopatía isquémica, hipertensión arterial, insuficiencia renal, ausencia de miocardiopatía dilatada, fracción de expulsión, fracción de acortamiento y depuración de creatinina. En el análisis multivariado, las variables asociadas a niveles más altos de TNF α fueron menor fracción de expulsión, peor clase funcional, cardiopatía isquémica como causa de la insuficiencia cardíaca, insuficiencia renal crónica e hipertensión arterial (**Tabla 4**).

Tabla 4. Análisis univariado y multivariado de las características clínicas, ecocardiográficas y bioquímicas asociadas con mayores concentraciones de TNF α en pacientes con insuficiencia cardíaca.

	Valor p univariado	Valor p multivariado
HAS	0.01	0.05
IRC	0.02	0.02
Clase funcional NYHA	0.01	0.007
Troponina T	0.05	0.49
Variables ecocardiográficas		
Fracción de Expulsión	0.0001	0.04
Fracción de acortamiento	0.0001	0.49
Etiología de ICC		
Cardiomiopatía dilatada	0.05	0.47
Cardiopatía isquémica	0.01	0.05

HAS: hipertensión arterial sistémica, IRC: insuficiencia renal crónica, NYHA: Asociación del Corazón de Nueva York, ICC: insuficiencia cardíaca crónica

Los pacientes con concentraciones mayores de TNF α (>6 pg/ml, la mediana de la concentración circulante de TNF α en pacientes con ICC) tuvieron mayores niveles de epinefrina (p= 0.03), norepinefrina (p= 0.05 límite), menor fracción de expulsión (p= 0.0001), menor fracción de acortamiento (p= 0.003), mayor diámetro del ventrículo izquierdo al final de la diástole (p= 0.02) y menor tiempo de relajación isovolumétrica del

ventrículo izquierdo ($p= 0.02$) que aquellos pacientes con menores niveles de $TNF\alpha$ circulante.

Las características clínicas de los pacientes que entraron al ensayo clínico se muestran en la **Tabla 5**. Se incluyeron al ensayo clínico sólo pacientes con clases funcionales II-III, por lo que sólo 80 de los 128 pacientes del estudio fueron candidatos. Durante el reclutamiento, 48 pacientes que se encontraron en CF I inicialmente, progresaron a clases funcionales II y III. Ambos grupos fueron comparables en cuanto a edad, peso, índice de masa corporal y niveles séricos basales de $TNF\alpha$ circulante.

Tabla 5. Características clínicas basales de pacientes con insuficiencia cardíaca que participaron en ensayo clínico

Características	Grupo control (n=60)	Grupo talidomida (n=20)	valor de p
Género, M/F %	51.66/48.33	50/50	0.95
Edad en años \pm DE	60.8 \pm 15.1	65 \pm 14.2	0.28
Peso en kg \pm DE	64 \pm 13.4	66.5 \pm 14.2	0.48
IMC en $kg/m^2 \pm$ DE	25.8 \pm 4.8	27.6 \pm 4	0.13
Clase funcional NYHA, n (%)			
II	50 (83.3)	15 (75)	0.36
III	10 (16.7)	5 (25)	
TNF sérico, pg/ml	6.5 \pm 1.8	5.9 \pm 0.9	0.16
Etiología isquémica	31 (51.6)	10 (50)	
Etiología no isquémica	29 (48.3)	10 (50)	

M/F= masculino/femenino; DE=desviación estándar; IMC=índice de masa corporal; NYHA = Asociación del Corazón de Nueva York

La **Tabla 6** muestra los hallazgos ecocardiográficos basales, los cuales fueron similares en ambos grupos de pacientes con ICC. Los diámetros ventriculares y el grado y frecuencia de disfunción sistólica del VI fueron similares. La única diferencia fue el tamaño de la aurícula izquierda, que fue mayor en controles que en pacientes que recibieron talidomida (44.2 ± 7 mm vs 41 ± 4 mm, $p=0.01$).

Tabla 6. Características ecocardiográficas basales

VARIABLES	Grupo control n=60	Grupo talidomida n=20	Valor de p
DTDVI, mm	54.8 ± 10.5	54.9 ± 11	0.97
DTSVI, mm	44.2 ± 11	43 ± 11.1	0.67
Septo IV, mm	11.4 ± 2.6	12.5 ± 2.8	0.18
Pared posterior, mm	10.28 ± 2.02	10.11 ± 2.1	0.82
DDVD, mm	34.6 ± 12.7	30.8 ± 9.4	0.16
Aurícula izquierda, mm	44.2 ± 7	41 ± 4.3	0.017
TRIVI	112.4 ± 28.7	115.5 ± 17.9	0.57
PAP, mmHg	50.7 ± 14.2	49.5 ± 12.3	0.72
FEVI, %	33.7 ± 9.7	36.1 ± 7.4	0.25
FAC, %	19.8 ± 6.8	18.8 ± 6.2	0.54

DTDVI=diámetro del VI al final de la diástole; DTSVI=diámetro del VI al final de la sístole; IV=interventricular; DDVD=diámetro diastólico del ventrículo derecho; TRIVI= tiempo de relajación isovolumétrica del VI; PAP=presión de la arteria pulmonar; FEVI=fracción de expulsión del ventrículo izquierdo; FAC=fracción de acortamiento

La **Tabla 7** muestra el tratamiento que recibían los pacientes para la insuficiencia cardíaca en ambos grupos. No hubo diferencias significativas de los medicamentos utilizados entre ambos grupos de comparación.

Tabla 7. Tratamiento para la insuficiencia cardíaca en ambos grupos de comparación

Tratamiento	Grupo control n=60 (%)	Grupo talidomida n=20 (%)	Valor de p
Inhibidores de ECA	36 (60.3)	12 (61.2)	1.0
Beta bloqueadores	51 (85)	17 (84)	1.0
ARA II	14 (23)	4 (21)	0.85
ARM	25 (41)	8 (38)	0.93
Diuréticos	38 (64)	13 (65)	0.93
Digital	35 (58)	12 (59)	0.93
ACC	5 (8)	1 (7)	0.85
Nitratos	30 (50)	10 (50)	1.0

ECA=enzima convertidora de angiotensina; ARA II=antagonistas de receptor de angiotensina tipo II; ARM=angiotensina de receptor de mineralocorticoides; ACC=antagonistas de canales de calcio

La clase funcional de la NYHA mejoró en ambos grupos (**Tabla 8**) de manera comparable, y los niveles de TNF α sérico no cambiaron significativamente entre la medición basal y el seguimiento, ni entre los pacientes que recibieron o no talidomida (5.88 ± 0.9 pg/ml antes y 6.49 ± 1.82 pg/ml después en el grupo de talidomida, vs. 6.32 ± 1.6 pg/ml antes y 7.94 ± 3.8 pg/ml después en el grupo control; p=NS).

Tabla 8. Clase funcional de los pacientes de ambos grupos antes y después del tratamiento.

Clase funcional NYHA	Grupo Control n (%)		Grupo Talidomida n (%)	
	antes	después	antes	después
I	0	36 (60)*	0	13 (65)*
II	50 (83.3)	22 (36.6)	15 (35.3)	6 (30)
III	10 (16.6)	2 (3.33)	5 (11.7)	1 (5)

NYHA=Asociación del Corazón de Nueva York; *p=0.35

La **Tabla 9** muestra los cambios en las características ecocardiográficas entre pacientes y controles, antes y después del tratamiento. Podemos observar que hubo disminución marginal en los diámetros de las cavidades izquierdas, con diferencias significativas solamente en el grosor de la pared posterior (PP) del VI, en los pacientes que recibieron talidomida. La FEVI disminuyó discretamente al final del seguimiento en ambos grupos, sin encontrarse diferencias significativas.

Tabla 9. Cambios en los parámetros ecocardiográficos después del tratamiento en ambos grupos de pacientes.

Característica	Grupo Control		Grupo Talidomida		Porcentaje de cambio		valor p
	antes	después	antes	después	Control	Talidomida	
DTDVI, mm	51.7 ± 11.4	50.3 ± 9.9	56.3 ± 8.9	54.9 ± 9.6	-2.13 ± 12.9	-2.3 ± 12.1	0.96
DTSVI, mm	38.9 ± 11.8	35.3 ± 10.8	42.7 ± 10.5	41.3 ± 12.4	-0.97 ± 15.5	-3.2 ± 16	0.57
septo IV, mm	12.3 ± 2.5	11.8 ± 2.34	12.6 ± 2.8	11.9 ± 2.7	-1.8 ± 17.6	-3.2 ± 16	0.75
PP, mm	11.1 ± 2.2	10.9 ± 2.04	10.4 ± 2.2	13.4 ± 8.4	-0.97 ± 15.5	39.6 ± 104.9	0.004
FEVI, %	33.7 ± 9.7	43.2 ± 1.3	36.1 ± 7.4	37.3 ± 10.2	8.8 ± 17.7	3.3 ± 18.3	0.22
FAC, %	23.61 ± 8.84	26.9 ± 9.5	21.7 ± 10	23 ± 10	22.1 ± 49.3	11.2 ± 32.1	0.36

DTDVI=diámetro del VI al final de la diástole; DTSVI=diámetro del VI al final de la sístole; IV=interventricular; PP=pared posterior; FEVI=fracción de expulsión del ventrículo izquierdo; FAC=fracción de acortamiento; TRIVI= tiempo de relajación isovolumétrica del VI

Hubo efectos adversos no graves en ambos grupos, se observó bradicardia sinusal sintomática en 4 de los pacientes que recibieron talidomida; esta complicación, que está descrita dentro de los efectos adversos de este medicamento (87-90), desapareció con la reducción de talidomida a 100 mg/d en 3 de los 4 pacientes (**Tabla 10**).

Tabla 10. Eventos adversos en pacientes que recibieron talidomida y el grupo control

Variable	Grupo control	Talidomida	valor de p
Pérdida de apetito	11 (35.5%)	6 (54.5%)	0.14
Nausea	6 (19.4%)	2 (18.2%)	0.9
Constipación	9 (29%)	5 (45.5%)	0.19
Xerostomía	5 (16.1%)	3 (27.3%)	0.31
Bradicardia sinusal sintomática	-	4 (23.5%)	0.02

Polimorfismos de la región promotora del gen de TNF α

Se analizaron los polimorfismos genéticos del promotor de TNF α , en las posiciones -308 y -238, en 70 pacientes con insuficiencia cardíaca y 55 controles sanos (**Figura 6**). Hubo 2 pacientes de quienes se excluyeron las muestras por no poderse amplificar, después de varios intentos. Como podemos observar en la **Tabla 11**, los pacientes con insuficiencia cardíaca tuvieron mayor proporción de genotipo A/G del polimorfismo -238 de TNF α , que los controles sanos, pero el análisis de frecuencias alélicas no mostró diferencias significativas entre pacientes y controles, por lo que no pudo corroborarse que el alelo A confiera mayor riesgo de insuficiencia cardíaca en estos pacientes.

Tabla 11. Polimorfismos genéticos del promotor de TNF α en las posiciones -308 y -238 en pacientes con insuficiencia cardíaca y controles sanos.

	Insuficiencia cardíaca (n=70/140) N (%)	Controles sanos (n=55/110) N (%)	Valor p	RM (IC 95%)
Genotipos TNF α				
Polimorfismo -308	N=68/136			
TNF 1/1	59 (87)	52 (94.5)	0.2	0.3 (0.09-1.4)
TNF 1/2	7 (10)	3 (5.4)	0.5	1.9 (0.4-8.1)
TNF 2/2	2 (3)	0	0.6	2.5 (0.2-24.7)
Polimorfismo -238	N=70/140			
TNF G/G	56 (80)	51 (92.7)	0.07	0.3 (0.09-1)
TNF G/A	14 (20)	3 (5.4)	0.02	4.3 (1.2-16)
TNF A/A	0	1 (1.9)	0.58	0.4 (0.03-4.3)
Alelos TNF α				
Polimorfismo -308				
TNF 1	125 (0.92)	107 (0.972)	0.09	0.3 (0.08-1.2)
TNF 2	11 (0.08)	3 (0.027)		
Polimorfismo -238				
TNF G	126 (0.90)	105 (0.954)	0.14	0.42 (0.1-1.3)
TNF A	14 (0.10)	5 (0.045)		

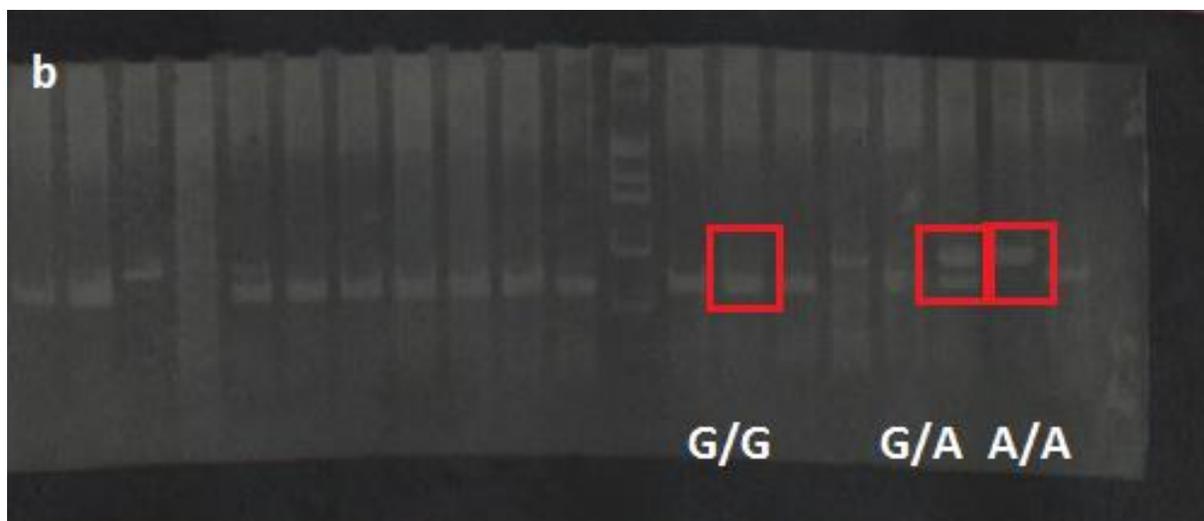
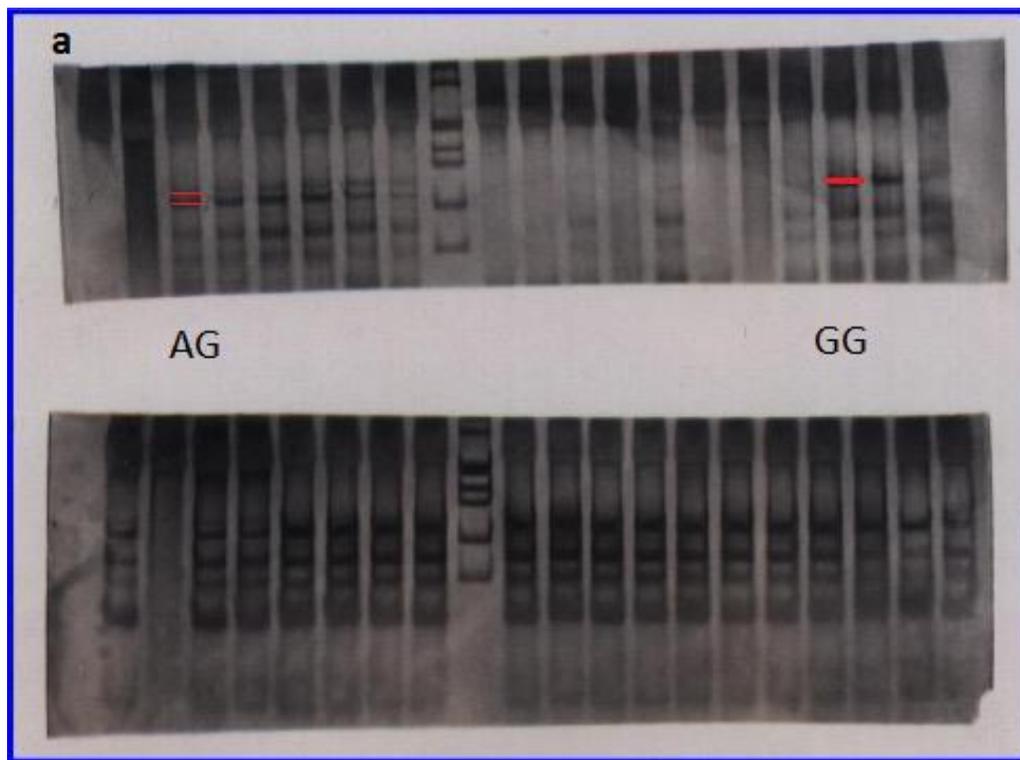


Figura 7. Imágenes de geles de poliacrilamida de: **a.** Imágenes representativas de sujetos con polimorfismo TNF α -238 A/G y -238 GG. **b.** Imágenes representativas de sujetos con polimorfismo TNF α -308 G/G, G/A, A/A

La **Tabla 12** muestra los niveles de TNF α sérico en pacientes con insuficiencia cardíaca crónica, de acuerdo a la frecuencia génica de los polimorfismos de TNF α -308 y -238. Podemos observar que los pacientes con el genotipo 1/2 de TNF α -308 y G/A de TNF α -238, tuvieron niveles séricos más altos que el resto de pacientes, pero esta diferencia no fue estadísticamente significativa al comparar los 3 grupos por ANOVA.

Tabla 12. Niveles séricos de TNF α en pacientes con insuficiencia cardíaca, según genotipo de los polimorfismos TNF α -308 y -238.

	Genotipo TNF α -308			Valor p
	TNF 1/1	TNF 1/2	TNF 2/2	
TNF suero (pg/mL)	6.6	7.4	5.7	0.35
	Genotipo TNF α -238			
TNF suero (pg/mL)	TNF G/G	TNF G/A	TNF A/A	
	6.7	7.6	-	0.31

DISCUSIÓN

En este trabajo pudimos evaluar la influencia de los niveles séricos de TNF α en características clínicas, bioquímicas y ecocardiográficas de pacientes con insuficiencia cardíaca con diversas etiologías, exploramos si estas alteraciones tienen una influencia genética y si la modificación de esta citocina con un fármaco que bloquea sus efectos, puede influir en los desenlaces clínicos en pacientes con esta patología. Nuestros hallazgos principales fueron:

1. Los pacientes con insuficiencia cardíaca tienen elevación de TNF α circulante.
2. La elevación de esta citocina se asocia independientemente con menor fracción de expulsión, peor clase funcional, cardiopatía isquémica como causa de la insuficiencia cardíaca y la presencia de insuficiencia renal e hipertensión arterial sistémica.
3. El tratamiento con 100-200 mg/d de talidomida, en pacientes con insuficiencia cardíaca de diversas causas (agregado a su tratamiento estándar), produjo disminución marginal en los diámetros de las cavidades izquierdas, con diferencias significativas solamente en el grosor de la pared posterior (PP) del VI, en los pacientes que recibieron talidomida.
4. Los polimorfismos del promotor de TNF α -308 y -238 no se asociaron a la presencia de insuficiencia cardíaca ni a los niveles séricos basales de esta citocina, en este grupo de pacientes.

A continuación discuto los hallazgos:

TNF α sérico se encuentra elevado en pacientes con insuficiencia cardíaca y se asocia con parámetros clínicos, bioquímicos y ecocardiográficos

Diversos estudios han mostrado la estrecha relación entre el desarrollo de insuficiencia cardíaca y la expresión de TNF- α en suero y miocardio. En los pacientes con niveles séricos de TNF- α más elevados son peores su clase funcional y sobrevida, y es mayor el daño estructural en el miocardio (96, 97). Los resultados obtenidos en este estudio se

encuentran en la misma línea de lo publicado previamente. En este estudio, encontramos niveles de TNF alfa sérico más altos, en pacientes con insuficiencia cardíaca. Adicionalmente, los niveles altos de esta citocina tuvieron relación directa e independiente con peor clase funcional, menor fracción de expulsión, la presencia de insuficiencia renal e hipertensión arterial, elevación de otras sustancias vasoactivas (epinefrina y norepinefrina) y con peores parámetros de función cardíaca en el ecocardiograma (peor FEVI, peor FAc, menor tiempo de relajación isovolumétrica del ventrículo izquierdo –TRIVI- y mayor diámetro del VI al final de la diástole).

Estos hallazgos apoyan la idea de que las citocinas proinflamatorias como TNF α tienen un papel importante en el remodelado del VI, lo cual se expresa en los cambios clínicos y ecocardiográficos encontrados; favorecen la hipertrofia de miocitos, la alteración en la expresión de genes fetales y la pérdida progresiva de miocitos mediante la apoptosis. Estos efectos pueden ser relevantes en pacientes con insuficiencia cardíaca de diversas causas, particularmente por cardiopatía isquémica (98). Sin embargo, la relevancia clínica de la estimulación para la producción de citocinas en diversas formas de insuficiencia cardíaca, podría ser diferente. (99)

Estudios previos, y nuestros resultados indican que los pacientes con hipertensión arterial y con insuficiencia renal crónica tienen mayores niveles de TNF α sérico, y esto podría favorecer el daño endotelial y contribuir a la progresión de aterosclerosis, lo cual podría explicar el peor pronóstico de los pacientes con este perfil de citocinas (100-103).

Debemos reconocer que los niveles séricos de TNF α son un indicador importante, pero indirecto, de activación inmunológica, ya que sus principales efectos y mayores concentraciones se encuentran en las células miocárdicas dañadas (104), no en la circulación periférica. Esta citocina tiene efectos variables en otros órganos como en riñones y células de músculo liso, a través de los cuales también podría influir en la progresión de la ICC a través de otras vías patogénicas. Además, si bien hay evidencia de su participación en la perpetuación del daño miocárdico establecido, se desconoce si la elevación de esta citocina es causa o consecuencia del daño miocárdico en pacientes con ICC.

Efectos del tratamiento con Talidomida en pacientes con Insuficiencia Cardíaca

Después de la realización de este y varios otros estudios (105-106), y en concordancia con nuestros resultados, fue evidente que la inhibición de TNF α , tanto con talidomida como con los nuevos fármacos anti-TNF α como etanercept (proteína de fusión del dominio extracelular p75 del receptor de TNF con la fracción Fc de IgG humana) e infliximab (anticuerpo monoclonal IgG quimérico humano/ratón que se une a las formas solubles y transmembranales de TNF) en pacientes con ICC no solo no mejoró, sino que incluso empeoró la clase funcional en algunos pacientes (107, 108). Los estudios RECOVER y RENAISSANCE, analizados en el estudio RENEWAL, evaluaron el uso de etanercept (dosis bajas y altas) en pacientes con ICC; sus resultados mostraron que los pacientes que recibieron etanercept no mejoraron, ni tuvieron mayor mortalidad que aquellos recibiendo placebo. Por otro lado, el estudio ATTACH evaluó el uso de infliximab en pacientes con ICC; en este estudio se encontró que los pacientes que recibieron la dosis más alta de infliximab (10 mg/kg) alcanzaron los desenlaces de hospitalización y muerte más frecuentemente (13%) que aquellos recibiendo placebo (5%) y dosis intermedias (5 mg/kg, 4%); asimismo, no se observó beneficio alguno con las dosis intermedias. Es posible que la diferencia en el mecanismo de acción de ambos fármacos, su capacidad para bloquear los efectos de TNF alfa, o la selección de pacientes (ICC estables y clase funcional II-IV para RECOVER y RENAISSANCE vs clase funcional III-VI para ATTACH) influyeran en la diferencia en los resultados de dichos estudios. En este momento, el uso de inhibidores de TNF α no se recomienda como tratamiento para pacientes con insuficiencia cardíaca (109). En este estudio observamos algunos pacientes que desarrollaron bradicardia sinusal asociada al uso de talidomida. Esta complicación, que ha sido descrita previamente, revirtió con la disminución de la dosis del fármaco, y sería otro aspecto a considerar como limitante para el uso de este fármaco en pacientes con insuficiencia cardíaca, ya que podría provocar disminución del gasto cardíaco y empeoramiento de la insuficiencia cardíaca por esta razón.

Por otro lado, no queda claro si los pacientes que utilizan anti-TNF por otras indicaciones como artritis reumatoide (enfermedad asociada a niveles séricos y tisulares elevados de TNF), desarrollan más insuficiencia cardíaca que aquellos sin

estos tratamientos. Los ensayos clínicos de anti-TNF en pacientes con AR y otras enfermedades reumatológicas generalmente excluyeron a los pacientes con insuficiencia cardíaca (110). Los registros más actualizados en pacientes con artritis reumatoide que utilizan fármacos anti-TNF han mostrado resultados interesantes en cuanto a la incidencia de insuficiencia cardíaca. Un registro poblacional que incluyó 13171 pacientes con AR y 2568 pacientes con osteoartritis (OA) mostró que los pacientes con AR tenían mayor prevalencia de insuficiencia cardíaca (3.9%) que aquellos con OA (2.3%), y que aquellos pacientes con AR que recibían medicamentos anti-TNF tenían menor frecuencia de ICC (3.1%) que el resto de pacientes (3.8%, ajustado), sin poderse relacionar con el uso de anti-TNF (111). Aunque ellos concluyen que el uso de anti-TNF podría disminuir el riesgo de ICC, en realidad, a los pacientes con riesgo de ICC tiende a no prescribírselos ese tipo de medicamentos. Otro estudio realizado por Listing et al (112) mostró, en pacientes con AR que recibían medicamentos anti-TNF, que los pacientes con mayor actividad de la AR tenían mayor riesgo de desarrollar ICC y que el tratamiento con fármacos anti-TNF α no les confería mayor riesgo de esta complicación. Una revisión sistemática también sugiere que el uso de antagonistas de TNF α en pacientes con AR disminuye el riesgo de desarrollar enfermedades cardiovasculares en general (113). Un estudio por Kotyla y Cols. mostró que un grupo pequeño de pacientes con AR (n=23) que recibían infliximab, mejoraron la FEVI (58% vs 63%) y parámetros bioquímicos (endotelina 1, IL-6 y NT-proBNP) tras 1 año de tratamiento con el fármaco (114); mientras que Vizzardi y Cols. no lograron replicar estos resultados en un grupo pequeño de pacientes (n=13) (115). Estos estudios hay que tomarlos con reservas, dados los factores de riesgo cardiovascular adicionales presentes en este tipo de pacientes y a que varios de estos estudios pequeños no ajustaron por dichas variables. El consenso actual es que los pacientes que tengan ICC CF I y II e indicación concomitante para uso de inhibidores de TNF α deben ser evaluados por un cardiólogo al inicio del tratamiento y periódicamente y aquellos con ICC CF III y IV no deben ser tratados con inhibidores de TNF α (116).

Una limitante metodológica de este estudio es que no medimos niveles de TNF α al final del tratamiento con talidomida, así que no sabemos si el fármaco tuvo algún efecto

bioquímico sobre la producción de esta citocina en los pacientes tratados. Es posible que la dosis que administramos no lograra disminuir los niveles (y por ende los efectos) de TNF α en los pacientes, pero usar dosis mayores hubiera implicado mayor riesgo de efectos adversos para los pacientes debido al estrecho margen de seguridad de dosis del fármaco. Asimismo, el tratamiento con este fármaco a pacientes con enfermedad avanzada, con daño estructural irreversible, podría limitar su beneficio.

Asociación de los polimorfismos de TNF α con la presencia de Insuficiencia cardíaca

En este estudio no pudimos comprobar que los polimorfismos de TNF α -308 y -238 tengan mayor prevalencia en alguno de los grupos estudiados, ni que influyan en los niveles séricos de TNF α en pacientes con insuficiencia cardíaca.

Dentro de las limitantes de nuestro estudio, que podrían explicar la falta de asociación de las variables de polimorfismos genéticos, podemos citar:

1. Se evaluaron pacientes con diversas causas de insuficiencia cardíaca. Si bien aproximadamente la mitad de los pacientes tenían etiología isquémica, el otro 50% tenía diversas causas de insuficiencia cardíaca (valvular, idiopática, etc.), por lo que esto pudo restar reproducibilidad al estudio e influir en la falta de diferencias significativas en las frecuencias de los alelos analizados. A pesar de esto, encontraron algunas diferencias significativas entre pacientes y controles y entre pacientes con distintas clases funcionales de la insuficiencia cardíaca respecto a niveles séricos de la citocina y otras características clínicas.
2. El tamaño de muestra fue calculado inicialmente para encontrar diferencias significativas entre pacientes y controles en niveles séricos de TNF, pero pudo ser insuficiente para evaluar diferencias en los polimorfismos genéticos entre ambos grupos.

Estudios futuros deberán plantear en la metodología estudiar grupos de pacientes por etiología de la insuficiencia cardíaca para analizar por separado y calcular el tamaño de

muestra de acuerdo a las frecuencias esperadas en nuestra población a partir de este estudio.

Debido a que no se encontraron diferencias significativas entre las frecuencias de estos genes, no se determinaron los polimorfismos de HLA-DR, ya que el análisis de desequilibrio genético con ese gen no aportaría información adicional.

CONCLUSIONES

Los hallazgos principales de este estudio se pueden resumir de la siguiente manera:

1. Los pacientes con insuficiencia cardíaca tienen niveles séricos de TNF α más elevados que los sujetos sanos, particularmente aquellos pacientes con peores clases funcionales, menor fracción de expulsión, cardiopatía isquémica, hipertensión arterial sistémica e insuficiencia renal crónica.
2. Los niveles séricos altos de TNF α se asocian con peor clase funcional la elevación de otras sustancias vasoactivas (epinefrina, norepinefrina) y con peores parámetros de función cardíaca en el ecocardiograma (peor fracción de expulsión del ventrículo izquierdo, peor fracción de acortamiento, mayor diámetro del ventrículo izquierdo al final de la diástole, menor tiempo de relajación isovolumétrica del ventrículo izquierdo), lo cual muy probablemente ensombrezca el pronóstico en pacientes con este perfil clínico-bioquímico. Estudios futuros podrían enfocarse al uso de esta citocina como factor pronóstico para desenlaces adversos en estos pacientes.
3. El tratamiento con talidomida en pacientes con insuficiencia cardíaca no mejora parámetros clínicos ni ecocardiográficos.
4. Los polimorfismos genéticos de TNF α -308 y -238 no se asocian a la presencia de insuficiencia cardíaca de diversas etiologías en mestizos mexicanos. Estudios futuros en esta línea deberán enfocarse a analizar pacientes con insuficiencia cardíaca de diversas causas de manera separada.

REFERENCIAS

1. Tan LB, Williams SG, Tan DK, Cohen-Solal A. So many definitions of heart failure: are they all universally valid? A critical appraisal. *Expert Rev Cardiovasc Ther* 2010; 8:217-28.
2. The Criteria Committee of the New York Heart Association. *Nomenclature and Criteria for Diagnosis of Diseases of the Heart and Great Vessels*, 9^a Ed. Little, Brown & Co. Boston 1994. P. 253.
3. 2013 ACCF/AHA guideline for the management of heart failure: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. Yancy CW, Jessup M, Bozkurt B, Butler J, Casey DE Jr, Drazner MH, Fonarow GC, Geraci SA, Horwich T, Januzzi JL, Johnson MR, Kasper EK, Levy WC, Masoudi FA, McBride PE, McMurray JJ, Mitchell JE, Peterson PN, Riegel B, Sam F, Stevenson LW, Tang WH, Tsai EJ, Wilkoff BL, American College of Cardiology Foundation, American Heart Association Task Force on Practice Guidelines *J Am Coll Cardiol*. 2013 Oct;62(16):e147-239. Epub 2013 Jun 5.
4. Ho KK, Pinsky JL, Kannel WB, Levy D. The epidemiology of heart failure: the Framingham Study. *J Am Coll Cardiol* 1993;22(4 Suppl A):6A
5. Liu L, Eisen HJ. Epidemiology of heart failure and scope of the problem. *Cardiol Clin* 2014; 32:1-8
6. Mc Cullough PA, Philbin EF, Spertus JA, Kaatz S, Sandberg KR, Weaver WD, Resource Utilization Among Congestive Heart Failure (REACH) Study. Confirmation of a heart failure epidemic: findings from the Resource Utilization Among Congestive Heart Failure (REACH) Study. *J Am Coll Cardiol* 2002; 39:60.
7. WRITING GROUP MEMBERS, Lloyd-Jones D, Adams RJ, Brown TM, Carnethon M, Dai S, De Simone G, Ferguson TB, Ford E, Furie K, Gillespie C, Go A, Greenlund K, Haase N, Hailpern S, Ho PM, Howard V, Kissela B, Kittner S, Lackland D, Lisabeth L, Marelli A, McDermott MM, Meigs J, Mozaffarian D, Mussolino M, Nichol G, Roger VL, Rosamond W, Sacco R, Sorlie P, Roger VL, Stafford R, Thom T, Wasserthiel-Smoller S, Wong ND, Wylie-Rosett J, American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee.

- Heart disease and stroke statistics 2010 update: a report from the American Heart Association. *Circulation* 2010; 121:e46.
8. Alcides Bocchi E, Arias A, Verdejo H, Diez M, Gómez E, Castro P. The reality of heart failure in Latin America. *J Am Coll Cardiol* 2013; 62:949-58.
 9. Mendez GFG, Betancourt LL, Galicia-Mora GG. The impact of heart failure clinic in the improvement on quality of life of heart failure patients in Mexico. *Int J Cardiol* 2007;115:242-3.
 10. Schrier RW, Abraham WT. Hormones and hemodynamics in heart failure. *N Engl J Med* 1999; 341:577-85.
 11. Braunwald E, Bristow MR. Congestive heart failure: fifty years of progress. *Circulation* 2000; 102(20Suppl4):IV14-23.
 12. Ross J Jr, Braunwald E. Control of cardiac performance. En: *Handbook of Physiology*, vol 1, The Heart, Williams & Wilkins, Baltimore 1980. p.533.
 13. Dibbs Z, Kurrelmeyer K, Lalra D, Seta Y, Wang F, Bozkurt B, Baumgarten G, Sivasubramanian N, Mann DL. Cytokines in heart failure: pathogenetic mechanisms and potential treatment. *Proc Assoc Am Physicians* 1999; 111:423-8.
 14. Dibbs Z, Thornby J, White BG, Mann DL. Natural variability of circulating levels of cytokines and cytokine receptors in patients with heart failure: implications for clinical trials. *J Am Coll Cardiol* 1999; 33:1935-42.
 15. Torre-Amione G, Vooletich MT, Farmer JA. Role of tumour necrosis factor-alpha in the progression of heart failure: therapeutic implications. *Drugs* 2000; 59:745-51.
 16. Sharma R, Coats AJ, Anker SD. The role of inflammatory mediators in chronic heart failure: cytokines, nitric oxide, and endothelin-1. *Int J Cardiol* 2000; 72:175-86.
 17. Sharma R, Rauchhaus M, Ponikowski PP, Varney S, Poole Wilson PA, Mann DL, Coats AJ, Anker SD. The relationship of the erythrocyte sedimentation rate to inflammatory cytokines and survival in patients with chronic heart failure treated with angiotensin-converting enzyme inhibitors. *J Am Coll Cardiol* 2000; 36:523-8.

18. Aukrust P, Ueland T, Lien E, Bendtzen K, Müller F, Andreassen AK, Nordøy I, Aass H, Espevik T, Simonsen S, Frøland SS, Gullestad L. Cytokine network in congestive heart failure secondary to ischemic or idiopathic dilated cardiomyopathy. *Am J Cardiol* 1999; 83:376-82.
19. Birks EJ, Burton PB, Owen V, Mullen AJ, Hunt D, Banner NR, Barton PJ, Yacoub MH. Elevated tumor necrosis factor-alpha and interleukin-6 in myocardium and serum of malfunctioning donor hearts. *Circulation* 2000;102(19 Suppl 3):III352-8.
20. Levine B, Kalman J, Mayer L, Fillit HM, Packer M. Elevated circulating levels of tumor necrosis factor in severe chronic heart failure. *N Engl J Med* 1990; 223:236-241.
21. Torre-Amione G, Kapadia S, Lee J, Durand JB, Bies RD, Young JB, Mann DL. Tumor necrosis factor-alpha and tumor necrosis factor receptors in the failing human heart. *Circulation* 1996; 93:704-711.
22. Kubota T, McTiernan CF, Frye CS, Slawson SE, Lemster BH, Koretsky AP, Demetris AJ, Feldman AM. Dilated cardiomyopathy in transgenic mice with cardiac-specific overexpression of tumor necrosis factor-alpha. *Circ Res* 1997; 81:627-35.
23. Feldman AM, Combes A, Wagner D, Kadakomi T, Kubota T, Li YY, McTiernan C. The role of tumor necrosis factor in the pathophysiology of heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2000;35:537-44.
24. Olivetti G, Abbi R, Quaini F, Kajstura J, Cheng W, Nitahara JA, Quaini E, Di Loreto C, Beltrami CA, Krajewski S, Reed JC, Anversa P. *N Engl J Med* 1997; 336:1131-41.
25. Kapadia SR. Cytokines and heart failure. *Cardiol Rev* 1999; 7:196-206.
26. Torre-Amione G, Kapadia S, Benedict C, Oral H, Young JB, Mann DL. Proinflammatory cytokine levels in patients with depressed left ventricular ejection fraction: a report from the Studies of Left Ventricular Dysfunction (SOLVD). *J Am Coll Cardiol* 1996; 27:1201-6.
27. Bozkurt B, Kribbs SB, Clubb FJ Jr, Michael LH, Didenko VV, Hornsby PJ, Seta Y, Oral H, Spinale FG, Mann DL. Pathophysiologically relevant concentrations of

- tumor necrosis factor-alpha promote progressive left ventricular dysfunction and remodeling in rats. *Circulation* 1998; 97:1382-91.
28. Torre-Amione G, Stetson SJ, Youker KA, Durand JB, Radovancevic B, Delgado RM, Frazier OH, Entman ML, Noon GP. Decreased expression of tumor necrosis factor-alpha in failing human myocardium following mechanical circulatory support. A potential mechanism for cardiac recovery. *Circulation* 1999; 100:1189-93.
 29. Ferrari R, Bachetti T, Agnoletti L, Comini L, Curello S. Endothelial function and dysfunction in heart failure. *Eur Heart J* 1998; 19 Suppl G:G41-7.
 30. Herrera-Garza EH, Herrera-Garza JL, Rodríguez-González H, Treviño-Treviño A, Ibarra-Flores M, Torre-Amione G. Importance of tumor necrosis factor-alpha in the pathogenesis of heart failure. *Rev Esp Cariol* 2002; 55:61-6.
 31. Ruddle NH. Tumor necrosis factor (TNF- α) and lymphotoxin (TNF- β). *Curr Opin Immunol* 1992; 4:327-332.
 32. Spies T, Morton CC, Nedospasov SA, Fiers W, Pious D, Strominger JL. Genes for the tumor necrosis factors alpha and beta are linked to the human major histocompatibility complex. *Proc Natl Aca Sci USA* 1986; 83:8699-8704.
 33. D'Alfonso S, Richiardi PM. A polymorphic variation in a putative regulation box of the TNF alpha promoter region. *Immunogenetics* 1994; 39:150-154.
 34. Wilson AG, Di Giovine FS, Blakemore AIF, Duff GW. Single base polymorphism in the human tumor necrosis factor alpha promoter on transcriptional activation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94:3195-3199.
 35. Zuniga J, Vargas-Alarcón G, Hernández-Pacheco G, Portal-Celhay C, Yamamoto-Furusho JK, Granados J. Tumor necrosis factor- α promoter polymorphisms in Mexican patients with systemic lupus erythematosus (SLE). *Genes and Immunity* 2001; 2:363-366.
 36. Vinsaco J, Beraún Y, Nieto A, Fraile A, Mataran L, Pareja E, Martín J. Polymorphism at the TNF loci in rheumatoid arthritis. *Tissue Antigens* 1997;49:74-78.
 37. Maxwell JR, Potter C, Hyrinch KL, Biologics in Rheumatoid Arthritis: Genetics and Genomics Study Syndicate, Barton A, Worthington J, Isaacs JD, Morgan AW,

- Wilson AG. Association of the tumor necrosis factor-308 variant with differential response to anti-TNF agents in the treatment of rheumatoid arthritis. *Hum Mol Genet* 2008; 17:3532-8.
38. Yamamoto-Furusho JK, Uscanga LF, Vargas-Alarcón G, Rodríguez-Pérez JM, Zuñiga J, Granados J. Polymorphisms in the promoter region of tumor necrosis factor alpha and the HLA-DRB1 locus in Mexican Mestizo patients with ulcerative colitis. *Immunology Letters* 2004; 95:31-35.
39. Koss K, Satsangi J, Fanning GC, Welsh KI, Jewell DP. Cytokine (TNF alpha, LT alpha and IL-10) polymorphisms in inflammatory bowel diseases and normal controls: differential effects on production and allele frequencies. *Genes Immun* 2000; 1:185-90.
40. Hirv K, Seyfarth M, Uibo R, Kull K, Salupere R, Latza U, Rink L. Polymorphisms in tumor necrosis factor and adhesion molecule genes in patients with inflammatory bowel disease: associations with HLA-DR and DQ alleles and subclinical markers. *Scand J Gastroenterol* 1999; 34:1025-32.
41. Bouma G, Xia B, Crusius JB, Bioque G, Koutroubakis I, Bon Blomberg BM, Mewissen SG, Pena AS. Distribution of four polymorphisms in the tumour necrosis factor (TNF) genes in patients with inflammatory bowel disease. *Clin Exp Immunol* 1996; 103:391-6.
42. Sashio H, Tamura K, Ito R, Yamamoto Y, Bamba H, Kosaka T, Fukui S, Sawada K, Fukuda Y, Satomi M, Shimoyama T, Furuyama J. Polymorphisms on the TNF gene and the TNF receptor superfamily member 1B gene are associated with susceptibility to ulcerative colitis and Crohn's disease, respectively. *Immunogenetics* 2002; 52:1020-7.
43. Fuertes E, Brauer M, MacIntyre E, Bauer M, Bellander T, von Berg A, Berdel D, Brunekreef B, Chan-Yeung M, Gehring U, Herbarth O, Hoffmann B, Kerkof M, Llümper C, Loletzko S, Kozyrskyj A, Kull I, Heinrich J, Melén E, Pershagen G, Postma D, Tiesler CM, Carlsten C; TAG Study Group. Childhood allergic rhinitis, traffic-related air pollution, and variability in the GSTP1, TNF, TLR2, and TLR4 genes: results from the TAG study. *J Allergy Clin Immunol* 2013; 132:342-52.e2.

44. Yang G, Chen J, Xu F, Bao Z, Yao Y, Zhou J. Association between tumor necrosis factor- α rs1800629 polymorphism and risk of asthma: a meta-analysis. *PLoS One* 2014; 9:e99962.
45. Kothari N, Bogra J, Abbas H, Kohli M, Malik A, Kothari D, Srivastava S, Singh PK. Tumor necrosis factor gene polymorphism results in high TNF level in sepsis and septic shock. *Cytokine* 2013; 61:676-81.
46. Paskulin DD, Fallavena PR, Paludo FJ, Borges TJ, Picanço JB, Dias FS, Alho CS. TNF -308G>a promoter polymorphism (rs1800629) and outcome from critical illness. *Braz J Infect Dis* 2011;15:231-8.
47. Bayley JP, Ottenhoff TH, Verweij CL. Is there a future for TNF promoter polymorphisms? *Genes Immun* 2004; 5:315-29.
48. Holmes CL, Russell JA, Walley KR. Genetic polymorphisms in sepsis and septic shock: role in prognosis and potential for therapy. *Chest* 2003; 124:1103-15.
49. Louis E, Franchimont D, Piron A, Gevaert Y, Schaaf-Lafontaine N, Roland S, Mahieu P, Malaise M, de Groote D, Louis R, Belaiche J. Tumor necrosis factor (TNF) gene polymorphism influences TNF- α production in lipopolysaccharide (LPS) stimulated whole blood cell culture in healthy humans. *Clin Exp Immunol* 1998; 113:401-406.
50. Allen RD. Polymorphism of the human TNF- α promoter – random variation or functional diversity? *Mol Immunol* 1999; 36:1017-1027.
51. Wilson AG, Symons JA, McDowell TL, McDevitt HO, Duff GW. Effects of a polymorphism in the human tumor necrosis factor alpha promoter on transcriptional activation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94:195-9.
52. Ghaderian SM, Akbarzadeh Najar R, Tabatabaei Panah AS. Tumor necrosis factor- α investigation of gene polymorphism and regulation of TACE-TNF- α system in patients with acute myocardial infarction. *Mol Biol Rep* 2011; 38:4971-7.
53. D'Alfonso S, Bolognesi E, Mazzola G, Dall'Omo A, Richiardi PM. Historical recombinant sites in extended HLA haplotypes. *J Biol Regul Homeost Agents* 1999; 13:8-13.

54. Wilson AG, de Vries N, Pociot F, di Giovine FS, van der Putte LBA, Duff GW. An allelic polymorphism within the human tumor necrosis factor α promoter region is strongly associated with HLA A1, B8 and DR3 alleles. *J Exp Med* 1993; 177:557-560.
55. Ito M, Takahashi H, Fuse K, Hirono S, Washizuka T, Kato K, Yamazaki F, Inano K, Furukawa T, Komada M, Aizawa Y. Polymorphisms of Tumor Necrosis Factor- α and interleukin-10 genes in Japanese patients with idiopathic dilated cardiomyopathy. *Jpn Heart J* 2000; 41:183-191.
56. Kubota T, McNamara DM, Wang JJ, Trost M, McTiernan CF, Mann DL, Feldman AM. For the VEST investigators for TNF Genotype Analysis. Effects of Tumor Necrosis Factor gene polymorphisms on patients with congestive heart failure. *Circulation* 1998; 97:2499-2501.
57. Densem CG, Hutchinson IV, Yonan N, Brooks NH. Tumour necrosis factor α gene polymorphism: a predisposing factor to non-ischaemic myocardial dysfunction? *Heart* 2002; 87:153-155.
58. Bruggink AH, van Oosterhout MF, De Jonge N, Gmelig-Meyling FH, De Weger RA. TNF α in patients with end-stage heart failure on medical therapy or supported by a left ventricular assist device. *Transpl Immunol* 2008; 19:64-8.
59. Spinarová L, Spinar J, Vaskú A, Pávková-Goldbergová M, Ludka O, Tomandl J, Vitovec J. Genetics of humoral and cytokine activation in heart failure and its importance for risk stratification of patients. *Exp Mol Med* 2008; 40:251-5.
60. Gerasimova ON, Sigalovich EY, Dankovtseva EN, Nakonechnikov SN, Nikitin AG, Ivanova ZV, Masenko VP, Nosikov VV, Zateyschchikov DA. Carriage of A Allele of Polymorphic Marker G(-238)A of TNF Gene is associated with unfavorable prognosis in patients with chronic systolic heart failure. *Kardiologiya* 2015; 55:25-30.
61. Drigo SA, Cunha-Neto E, Ianni B, Mady C, Faé KC, Buck P, Kalil J, Goldberg AC. Lack of association of tumor necrosis factor- α polymorphisms with Chagas disease in Brazilian patients. *Immunol Lett* 2007; 108: 109-11.
62. Drigo SA, Cunha-Neto E, Ianni B, Cardoso MR, Braga PE, Faé KC, Nunes VL, Buck P, Mady C, Kalil J, Goldberg AC. TNF gene polymorphisms are associated

- with reduced survival in severe Chagas' disease cardiomyopathy patients. *Microbes Infect* 2006; 8:598-603.
- 63.Hajeer AH, Hutchinson IV. TNF- α gene polymorphism: clinical and biological implications. *Microsc Res Thech* 2000; 50:216-228.
- 64.Deswal A, Bozkurt B, Seta Y, Pariltil-Eiswirth S, Hayes A, Blosch C, Mann DL. Safety and efficacy of a soluble P75 tumor necrosis factor receptor (Enbrel, Etanercept) in patients with advanced heart failure. *Circulation* 1999; 99:3224-3226.
- 65.Raje N, Anderson K. Thalidomide – a revival story. *N Engl J Med*. 1999; 341:1606-9.
- 66.Raje N, Anderson KC. Thalidomide and immunomodulatory drugs as cancer therapy. *Curr Opin Oncol* 2002; 14:635-40 1999.
- 67.Calabrese L, Fleischer AB. Thalidomide: current and potential clinical applications. *Am J Med* 2000; 108:487-495.
- 68.McBride WG. Thalidomide and congenital abnormalities. *The Lancet* 1961; 278:1358.
- 69.Speirs AL. Thalidomide and congenital abnormalities. *The Lancet* 1962; 279:303-305.
- 70.D'Amato RJ, Loughnan MS, Flynn E, Folkman J. Thalidomide is an inhibitor of angiogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91:4082-5.
- 71.Marriott JB. TNF-alpha antagonists: monoclonal antibodies, soluble receptors, thalidomide and other novel approaches. *Expert Opin Investig Drugs* 1997; 6:1105-8.
- 72.Marriott JB, Muller G, Dalgleish AG. Thalidomide as an emerging immunotherapeutic agent. *Immunol Today* 1999; 20:538-40.
- 73.Diggle GE. Thalidomide: 40 years on. *Int J Clin Pract* 2001; 55:627-31.
- 74.Barnhill RL, Doll NJ, Millikan LE, Hastings RC. Studies on the anti-inflammatory properties of thalidomide: effects on polymorphonuclear leukocytes and monocytes. *J Am Acad Dermatol* 1984; 11(5 Pt1):814-9.

75. Sampaio EP, Sarno EN, Galilly R, Cohn ZA, Kaplan G. Thalidomide selectively inhibits tumor necrosis factor alpha production by stimulated human monocytes. *J Exp Med* 1991; 173:699-703.
76. Moreira AL, Sampaio EP, Zmuidzinas A, Frindt P, Smith KA, Kaplan G. Thalidomide exerts its inhibitory action on tumor necrosis factor alpha by enhancing mRNA degradation. *J Exp Ped* 1993; 177:1675-80.
77. Klausner JD, Freedman VH, Kaplan G. Thalidomide as an anti-TNF α inhibitor: implications for clinical use. *Clin Immunol Immunopathol* 1996; 81:219-223.
78. Turk BE, Jiang H, Liu JO. Binding of thalidomide to alpha1-acid glycoprotein may be involved in its inhibition of tumor necrosis factor alpha production. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93:7552-6.
79. Keenan RJ, Eiras G, Burckart GJ, Stuart RS, Hardesty RL, Vogelsang G, Griffith BP, Zeevi A. Immunosuppressive properties of thalidomide. Inhibition of in vitro lymphocyte proliferation alone and in combination with cyclosporine or FK506. *Transplantation* 1991; 52:908-10.
80. Gad SM, Shannon EJ, Krotoski WA, Hastings RC. Thalidomide induces imbalances in T-lymphocyte sub-populations in the circulating blood of healthy males. *Lepr Rev* 1985; 56:35-9.
81. Makonkawkeyoon S, Limson-Pobre RN, Moreira AL, Schauf V, Kaplan G. Thalidomide inhibits replication of human immunodeficiency virus type 1. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90:5974-8.
82. Kaplan G, Moreira AL. TNF alpha regulation of HIV1: biology and therapy. *Res Immunol* 1994; 145:685-9.
83. Haslett PA, Klausner JD, Makonkawkeyoon S, Moreira A, Metatrati P, Boyle B, Kunachiwa W, Maneekarn N, Vongchan P, Corral LG, Elbeik T, Shen Z, Kaplan G. Thalidomide stimulates T cell responses and interleukin 12 production in HIV-infected patients. *AIDS Res Hum Retroviruses* 1999; 15:1169-79.
84. Davey PP; Ashrafian H. New therapies for heart failure: is thalidomide the answer? *QJM* 2000; 93: 305-11.

85. Agoston I, Dibbs ZI, Wang F, Muller G, Zeldis JB, Mann DL, Bozkurt B. Preclinical and clinical assessment of the safety and potential efficacy of thalidomide in heart failure. *J Card Fail* 2002; 8: 306-14.
86. Deswal A, Bozkurt B, Seta Y, Parilti-Eiswirth S, Hayes FA, Blosch C, Mann DL. Safety and efficacy of a soluble P75 tumor necrosis factor receptor (Enbrel, Etanercept) in patients with advanced heart failure. *Circulation* 1999; 99:3224-3226.
87. Powell RJ, Gardner-Medwin JMM. Guideline for the clinical use and dispensing of thalidomide. *Postgrad Med J* 1994; 70:901-904.
88. Powell RJ. New roles for thalidomide. *BMJ* 1996;313:377.
89. Zeldis JB, Williams BA, Thomas SD, Elsayed ME. STEPS: A comprehensive program for controlling and monitoring access to thalidomide. *Clin Therapeutics* 1999;21:319-330.
90. Agoston I, Dibbs ZI, Wang F, Muller G, Zeldis JB, Mann DL, Bozkurt B. Preclinical and clinical assessment of the safety and potential efficacy of thalidomide in heart failure. *J Cardiac Fail* 2002;8:306-14.
91. Hunt SA, Baker DW, Chin MH, Ciquegrani MP, Feldman AM, Francis GS, Ganiats TG, Goldstein S, Gregoratos G, Jessup ML, Noble RJ, Packer M, Silver MA, Stevenson LW, Gibbons RJ, Antman EM, Alpert JS, Faxon DP, Fuster V, Gregoratos G, Jacobs AK, Hiratzka LF, Russell RO, Smith SC Jr; American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Committee to Revise the 1995 Guidelines for the Evaluation and Management of Heart Failure); International Society for Heart and Lung Transplantation; Heart Failure Society of America. ACC/AHA guidelines for the evaluation and management of chronic heart failure in the adult: executive summary; a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *Circulation*. 2001; 104(24):2996-3007.
92. Remme WJ, Swedberg K; Task Force for the Diagnosis and Treatment of Chronic Heart Failure, European Society of Cardiology. Guidelines for the diagnosis and treatment of chronic heart failure. *Eur Heart J*. 2001 Sep;22(17):1527-60.

93. Orea-Tejeda A, Arrieta-Rodríguez O, Castillo-Martínez L, Rodríguez-Reyna T, Asensio-Lafuente E, Granados-Arriola J, Dorantes-García J. Effects of Thalidomide Treatment in Heart Failure Patients. *Cardiology* 2007; 108:237-242.
94. Davis RW, Thomas M, Cameron J *et al.* Rapid DNA isolation for enzymatic and hybridization analysis. *Methods Enzymol* 1980; 65:404–411.
95. Zuniga J, Vargas-Alarcón G, Hernández-Pacheco G, Portal-Celhay C, Yamamoto-Furusho JK, Granados J. Tumor necrosis factor- α promoter polymorphisms in Mexican patients with systemic lupus erythematosus (SLE). *Genes and Immunity* 2001; 2:363-366.
96. Damås JK, Gullestad L, Ueland T, Solum NO, Simonsen S, Frøland SS, Aukrust P. CXC-chemokines, a new group of cytokines in congestive heart failure—possible role of platelets and monocytes. *Cardiovasc Res* 2000; 45: 428–436.
97. Milani RV, Mehra MR, Endres S, Eigler A, Cooper ES, Lavie CJ Jr, Ventura HO. The clinical relevance of circulating tumor necrosis factor alpha in acute decompensated chronic heart failure without caquexia. *Chest* 1996; 110: 992–995.
98. Finkel MS, Oddis CV, Jacob TD, Watkins Sc, Hattler BG, Simmons RL. Negative inotropic effect of cytokines on the heart mediated by nitric oxide. *Science* 1992; 257:387-9.
99. Li YY, Feng YQ, Kadokami T, McTiernan CF, Draviam R, Watkins SC, Feldman AM. Myocardial extracellular matrix remodeling in transgenic mice overexpressing tumor necrosis factor alpha can be modulated by anti-tumor necrosis factor alpha therapy. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000;97: 12746-51.
100. Peeters AC, Netea MG, Janssen MC, Kullberg BJ, Vander Meer JW, Thien T. Pro-inflammatory cytokines in patients with essential hypertension. *Eur J Clin Invest* 2001; 31:31-6.
101. Stenvinkel P. The role of inflammation in the anaemia of end-stage renal disease. *Nephrol Dial Transplant* 2001;16 Suppl 7:S36-40.
102. Pereira BJ, Shapiro L, King AJ, Falagas ME, Strom JA, Dinarello CA. Plasma levels of IL-1 beta, TNF alpha and their specific inhibitors in undialyzed chronic renal failure, CAPD and hemodialysis patients. *Kidney Int* 1994; 45:890-6.

103. Rodríguez-Reyna T. S., Arrieta O, Castillo-Martínez L, Orea-Tejeda A, Guevara P, Rebollar V, Granados J. Tumour Necrosis Factor α and Troponin T as predictors of poor prognosis in patients with stable heart failure. *Clin Invest Med* 2005; 28:23-29.
104. Kalra DK, Zhu X, Ramchandani MK, Lawrie G, Reardon MJ, Lee-Jackson D, Winters WL, Sivasubramanian N, Mann DL, Zoghbi WA. Increased myocardial gene expression of tumor necrosis factor-alpha and nitric oxide synthase-2: a potential mechanism for depressed myocardial function in hibernating myocardium in humans. *Circulation* 2002; 105:1537-40.
105. Gullestad L, Ueland T, Fjeld JG, Holt E, Gundersen T, Breivik K, Følling M, Hodt A, Skårdal R, Kjekshus J, Andreassen A, Kjekshus E, Wergeland R, Yndestad A, Frøland SS, Semb AG, Aukrust P. Effect of thalidomide on cardiac remodeling in chronic heart failure: results of a double-blind, placebo-controlled study. *Circulation* 2005; 112:3408-14.
106. Orea-Tejeda A, Arrieta-Rodríguez O, Castillo-Martínez L, Rodríguez-Reyna T, Asensio-Lafuente E, Granados-Arriola J, Dorantes-García J. Effects of thalidomide treatment in heart failure patients. *Cardiology* 2007; 108:237-242.
107. Mann DL, McMurray JJ, Packer M, Swedberg K, Borer JS, Colucci WS, Djian J, Drexler H, Feldman A, Kober L, Krum H, Liu P, Nieminen M, Tavazzi L, van Veldhuisen DJ, Waldenstrom A, Warren M, Westheim A, Zannad F, Fleming T. Targeted anticytokine therapy in patients with chronic heart failure: results of the Randomized Etanercept Worldwide Evaluation (RENEWAL). *Circulation* 2004; 109: 1594-602.
108. Chung ES, Packer M, Lo KH, Fasanmade AA, Willerson JT; Anti-TNF therapy against Congestive Heart Failure Investigators. Randomized, double-blind, placebo-controlled, pilot trial of infliximab, a chimeric monoclonal antibody to tumor necrosis factor-alpha, in patients with moderate to severe heart failure: results of the anti-TNF Therapy Against Congestive Heart Failure (ATTACH) trial. *Circulation* 2003; 107: 3133-40.
109. Fildes JE, Shaw SM, Yonan N, Williams SG The immune system and chronic heart failure. Is the heart in control? *J Am Coll Cardiol* 2009; 53:1013-20.

110. Danila MI, Patkar NM, Curtis JR, Saag KG, Tent GG. Biologics and heart failure in rheumatoid arthritis: are we any wiser?. *Curr Opin Rheumatol* 2008; 20:327-333.
111. Wolfe F, Michaud K. Heart failure in rheumatoid arthritis: rates, predictors, and the effect of anti-tumor necrosis factor therapy. *Am J Med* 2004; 116:305-11.
112. Listing J, Strangfeld A, Kekow J, Schneider M, Kapelle A, Wassenberg S, Zink A. Does tumor necrosis factor alpha inhibition promote or prevent heart failure in patients with rheumatoid arthritis? *Arthritis rheum* 2008; 58:667-77.
113. Westlake SL, Colebatch AN, Baird J, Curzen N, Kiely P, Quinn M, Choy E, Ostor AJ, Edwards CJ. Tumor necrosis factor antagonists and the risk of cardiovascular disease in patients with rheumatoid arthritis: a systematic literature review. *Rheumatology (Oxford)* 2011; 50: 518-31.
114. Kotyla PJ, Owczarek A, Rakoczy J, Lewicki M, Kucharz EJ, Emery P. Infliximab treatment increases left ventricular ejection fraction in patients with rheumatoid arthritis: assessment of heart function by echocardiography, endothelin 1, interleukin 6 and NT-pro brain natriuretic peptide. *J Rheumatol* 2012; 39:701-6.
115. Vizzardì E, Cavazzana I, Franceschini F, Bonadei I, Sciatti E, Lombardi CM, Tincani A, Metra M. Left ventricular function in rheumatoid arthritis during anti-TNFalpha treatment: a speckle tracking prospective echocardiographic study. *Monaldi Archives for Chest Disease Cardiac Series* 2015; 84:716-19.
116. Sarzi-Puttini P, Atzeni F, Shoenfeld Y, Ferraccioli G. TNF-alpha, rheumatoid arthritis and heart failure: a rheumatological dilemma. *Autoimmun Rev* 2005; 4: 153-61.

ANEXOS

Publicaciones derivadas de este estudio:

Rodríguez-Reyna T S, Arrieta O, Castillo-Martínez L, Orea-Tejeda A, Guevara P, Rebollar V, Granados J. Tumour Necrosis Factor α and Troponin T as a predictor of poor prognosis in patients with stable heart failure. Clin Invest Med 2005; 28: 23-29.

Orea-Tejeda A, Arrieta Rodríguez O, Castillo-Martínez L, Rodríguez-Reyna T, Asensio-Lafuente E, Granados-Arriola J, Dorantes-García J. Effects of thalidomide Treatment in Heart Failure Patients. Cardiology 2007; 108:237-242.