

# Descripción Molecular del TNF- $\alpha$

Juan Manuel Anaya, MD

Investigador Asociado, Corporación para Investigaciones Biológicas,  
Profesor Titular, Facultad de Medicina,  
Universidad Pontificia Bolivariana. Medellín, Colombia  
Correo electrónico: janaya@cib.org.co

## INTRODUCCION

El factor de necrosis tumoral (TNF) es una citoquina proinflamatoria, descubierta inicialmente en el suero de ratones luego de la infección con endotoxinas bacterianas. Más tarde esta misma citoquina fue encontrada igualmente en ratas, conejos y en el hombre (1). Posteriormente se identificaron dos formas moleculares, denominadas TNF- $\alpha$  o Caquexina y TNF- $\beta$  o Linfotoxina (1, 2). El TNF pertenece a la superfamilia de mediadores que llevan su nombre y a la cual pertenecen al menos 15 citoquinas. Entre las similitudes que comparten los miembros de esta superfamilia están el

ser proteínas monotriméricas (excepto la Linfotoxina), estar principalmente expresadas en la membrana celular y participar en la regulación de la proliferación celular y la apoptosis, aunque varios miembros, tal como el TNF- $\alpha$ , tienen una importante actividad proinflamatoria (3). En esta revisión nos ocuparemos principalmente del TNF- $\alpha$ , citoquina secretada principalmente por células del sistema inmune, tales como los monocitos, macrófagos, neutrófilos, células NK y linfocitos T, principalmente CD4+. De la misma manera, otras células pueden producirlo como respuesta a un estímulo, tales como astrocitos, microglías, miocitos y fibroblastos (Figura 1).

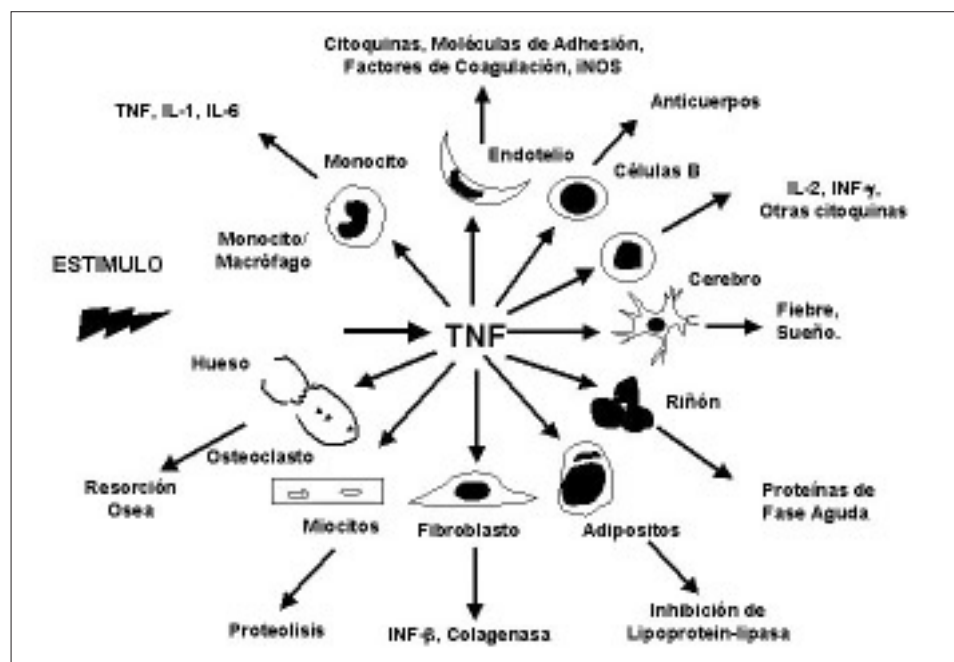


Figura 1. Principales efectos biológicos del TNF- $\alpha$ .

El TNF- $\alpha$  tiene una potente actividad citotóxica, capaz de asesinar células tumorales y de actuar como un mediador letal en la respuesta inmune aguda o crónica de enfermedades inflamatorias crónicas e infecciosas. Las principales actividades biológicas del TNF- $\alpha$  han podido ser reproducidas utilizando la proteína purificada o recombinante (3):

- Producir necrosis hemorrágica de tumores, en injuria tisular y shock, gracias a sus propiedades proinflamatorias sobre el endotelio vascular.
- Inducir apoptosis en algunos tumores y líneas celulares transformadas.
- Producir caquexia, al estimular la lipólisis, inhibir la actividad de la lipoproteína lipasa en los adipositos y estimular la lipogénesis hepática.

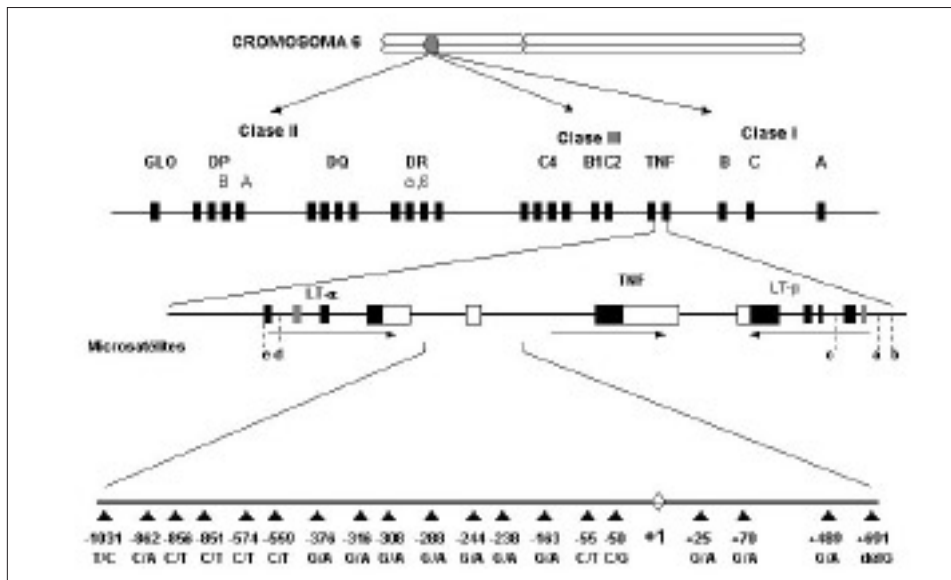
La síntesis del TNF- $\alpha$  puede ser inducida por virus, parásitos, bacterias, células tumorales, isquemia, trauma e irradiación, así como por citoquinas tales como el interferón Gamma (IFN- $\gamma$ ), la interleuquina (IL)-1, IL-2, IL-12, el factor estimulante de colonias de granulocitos-macrófagos (GM-CSF), el factor activador de plaquetas (PAF) y el mismo TNF- $\alpha$  (1, 3). El efecto pleiotrópico del TNF- $\alpha$  tiene como resultado la síntesis de citoquinas (IL-1, IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-12, IL-18, IFN- $\gamma$ , factor de crecimiento y transformación-beta [TGF- $\beta$ ]), PAF, leuco-

trienos, proteínas de fase aguda y hormonas (cortisol, epinefrina, glucagón, insulina, norepinefrina) (1-3). Muchos de los mediadores inducidos por el TNF- $\alpha$  actúan a su vez como inhibidores de su expresión, tales como la IL-6, IL-10, la prostaglandina E2 y el cortisol (1-3).

Las características moleculares del TNF- $\alpha$  han generado un interés particular en el desarrollo de nuevos medicamentos que están siendo empleados en el tratamiento de enfermedades autoinmunes.

### CARACTERÍSTICAS GENICAS DEL TNF- $\alpha$

El locus para el TNF se encuentra ubicado en el brazo corto del cromosoma 6 en 6p21.31, dentro de la región del complejo mayor de histocompatibilidad (CMH) clase III, entre los genes HLA-B y el del factor C del Complemento (1). El locus para el TNF está conformado por un grupo de genes denominados linfotoxina (LT- $\beta$ ) y los genes TNF (1, 2, 4). El gen TNF- $\alpha$  tiene un tamaño de 3,6 Kb y está conformado por cuatro exones; el primero se encarga de codificar una proteína precursora de 233 aminoácidos, mientras que los tres restantes codifican para cada uno de los monómeros que conforman la proteína activa. Además, este gen posee tres intrones cuya función es desconocida (2). El gen que codifica para el TNF- $\beta$  está ubicado a 1,2 Kb del TNF- $\alpha$ ; ambos genes son regulados de forma independiente (1) (Figura 2).



**Figura 2. Conformación genética del TNF- $\alpha$ .** El gen del TNF es representado en la parte superior, en el brazo corto del cromosoma 6, en la posición 6p23-6q12, formando parte del complejo mayor de histocompatibilidad clase III. En esta región se encuentran genes que codifican para las moléculas TNF- $\alpha$  y TNF- $\beta$ ; además, están los genes para la linfotoxina. Cada uno de estos genes es codificado en la dirección que indican las flechas y son regulados de forma independiente. Además, se indica la ubicación de las regiones polimórficas, hasta ahora identificadas para el gen TNF, las cuales comprenden cinco microsatélites (denominados con las letras a, b, c, d, e) y 19 mutaciones puntuales (SNP). Estas SNP están representadas con un cambio, o deleción, de sus respectivas bases en la parte inferior de la figura.

## POLIMORFISMO DEL TNF- $\alpha$ .

El gen del TNF- $\alpha$  es altamente polimórfico. Este polimorfismo se encuentra en los microsatélites (STR), en los fragmentos de restricción (RFLP) y en nucleótidos simples (SNP) (5). Se han identificado 5 microsatélites, denominados TNF a, b, c, d, e (6-9), cada uno de los cuales presenta diferentes; variables; así, TNFa AC/GT, que origina 13 alelos diferentes; TNFb TC/GA con 7 alelos diferentes; TNFc TC/GA con 2 alelos diferentes; el TNFd TC/GA con dos alelos diferentes, y el TNFe TC/GA con 4 alelos, y cuyas ubicaciones son señaladas en la Figura 2 (10).

Se han registrado al menos 19 SNP dentro del gen del TNF, ubicados tanto en regiones promotoras como en sitios de transcripción y regiones no transcritas (UTR). Entre los SNP hay uno ubicado en el primer intrón, en la posición +489, con dos alelos dados por las bases G→A (11, 12). Otro sitio importante es la posición +70 en el extremo 5' de la región no codificadora (13) donde se pueden dar sustituciones entre la G y la A. Recientemente se han identificado dos sitios igualmente polimórficos correspondientes a +25 (13) y +691(6, 14), donde se presentan variaciones alélicas por el cambio de G→A para el primero, y una delección de G en el segundo (10). En cuanto a las mutaciones en la región reguladora, la más importante corresponde al cambio de G→A en el sitio -308 del promotor, lo que genera dos alelos conocidos como TNF1 (G) y TNF2 (A) (13, 15, 16). También se encuentra la posición -238, en la cual se presenta el mismo cambio de bases (G→A) (15,17). Junto a estos polimorfismos se encuentran otros en las regiones -1031, -862(\*-863), -856 (\*-857), -851 donde se da el polimorfismo C→T, -559 C→T, -574, -376 G→A, -288 G→A, -244 G→A, -238 G→A, -163 G→A, -55 C→T, -50 C→G (Figura 2). El interés que tiene determinar este polimorfismo radica en la influencia que tiene sobre los niveles de expresión del TNF- $\alpha$  (11, 14, 18-21).

## ESTRUCTURA PROTEICA DEL TNF- $\alpha$

La glicoproteína TNF- $\alpha$  madura se encuentra expuesta en la superficie de la membrana celular, contiene 233 aa, pesa 26 kDa, es biológicamente activa y participa en la citotoxicidad e inflamación por interacción celular (1-3). El TNF- $\alpha$  soluble corresponde a una proteína de 17 KDa, conformada por 157 aminoácidos (aa), producida a partir del TNF- $\alpha$  de membrana, el cual es procesado por cortes a nivel del residuo 76 por acción de la enzima convertidora del TNF- $\alpha$  (TACE), una metaloproteína que está también en la membrana celular. Estudios cristalográficos muestran que el TNF- $\alpha$  está conformado por tres monómeros asociados no covalentemente y cuyo extremo N-terminal se encuentra expuesto en la superficie. Esta fracción N-terminal no parece importante en la interacción con el receptor (TNFR) (1-4).

## REGULACION DE LA SINTESIS DEL TNF- $\alpha$

Característicamente, los genes son secuencias de ADN que de manera unidireccional son utilizados para producción de proteínas, previa transcripción en el núcleo, transporte hacia el citoplasma y traducción a proteína en los ribosomas. Dentro de estos mecanismos, la regulación postrascricional es el mecanismo de regulación más importante en la síntesis de esta citoquina (22).

La mayor cantidad de proteína del TNF- $\alpha$  es elaborada en células del sistema inmune, aunque su ARNm es expresado en otros tipos de células, como fibroblastos, astrocitos, osteoblastos (3, 22). La regulación transcripcional del gen del TNF- $\alpha$  no tiene un papel importante en la síntesis de la proteína; en cambio, este gen tiene un proceso de regulación denominado "*represión de la traducción*", que consiste en el control de la cantidad y estabilidad de ARNm antes que éste sea convertido en proteína en los ribosomas (22).

La regulación postrascricional es un sistema de control muy importante en el sistema inmune y común a muchas citoquinas. Este sistema de control consta de una secuencia rica en Adenosina-Uridina (AU) y de elementos de control en la región 3' no-traducida (3'UTR). Esta región 3'UTR es la encargada de la regulación por degradación o traducción del ARNm a nivel del citoplasma celular. La región 3'UTR está conformada por repeticiones de secuencias AUUUA, cuya función es promover la fragmentación rápida del ARNm en el citoplasma (22). La rápida fragmentación del ARNm busca limitar la producción del TNF- $\alpha$ , para que éste se genere únicamente cuando el sistema inmune lo necesite. Este proceso se da por la detección de señales celulares en la región AURE del ARNm.

En los macrófagos, luego de una señal extracelular adecuada, como el caso de la endotoxina bacteriana, el ARNm para el TNF- $\alpha$  puede acumularse e incrementarse hasta 100 veces y la biosíntesis hasta en 10.000 veces, gracias a la habilidad para hacer que el ARNm existente se estabilice, aumente y se traduzca a proteína (22). Cuando la señal extracelular ha pasado, se reinicia la represión en la traducción conduciendo a la célula a un rápido decline en la tasa de biosíntesis de TNF- $\alpha$ .

## PROTEINAS DE UNION AL AURE (AURE-BP) EN EL CONTROL POSTRASCIPCIONAL DEL TN- $\alpha$ .

La región AURE es importante en el control de la producción de TNF- $\alpha$ , tanto en procesos fisiológicos como en procesos patológicos. Muchos estudios han generado líneas celulares o animales transgénicos que expresen mutaciones a nivel de esta región AURE, para observar los efectos en la biosíntesis del TNF- $\alpha$ . Así se

ha podido determinar que la síntesis del TNF- $\alpha$  en patologías tales como la AR es originada principalmente del macrófago (22).

Las AURE-BP son factores trans que se unen al ARNm para el control de la transducción del TNF- $\alpha$ . Entre estas proteínas están el Hel-N1 y el HuR (23), que se comportan como estabilizadores de los transcritos que contienen AURE. Otros AURE-BP son el AUF1 y el tristetraprolin (TTP), proteína con dedos de zinc, encargada de desestabilizar estos transcritos y promover la degradación del ARNm para el TNF- $\alpha$  (23). De otro lado están los TIA-1 y el TIAR, ambos homólogos estructural y funcionalmente, pertenecientes a la familia de las proteínas con motivos de reconocimiento del ARN (RRM), que están encargados de unirse a regiones ricas en uridina y se comportan como silenciadores transduccionales que regulan selectivamente la expresión del TNF- $\alpha$ . El TIA-1 parece estar involucrado en la inhibición del ensamblaje del ARNm del TNF- $\alpha$  y promover su desintegración a nivel lisosomal. Tanto el TIA-1 como el TIAR pueden actuar como reguladores de la expresión de diferentes proteínas reguladoras de la liberación del ARNm-TNF- $\alpha$  al citoplasma (23).

### MECANISMOS EFECTORES DEL TNF- $\alpha$ (TRANSDUCCION)

El TNF- $\alpha$  es una citoquina pleiotrópica, ya que posee receptores de al menos una clase (ver más adelante) en todos los tipos de células. El efecto que puede desencadenarse por la unión ligando (TNF)-receptor (TNFR) en los diferentes tipos de células ha sido ampliamente estudiado. Se ha identificado una serie de proteínas de señal que participan en forma de cascada para enviar los mensajes del TNF- $\alpha$  a nivel intracelular (transducción). Esto se logra por medio de al menos uno de los receptores pertenecientes a la familia del TNF. Las proteínas que participan en esta cascada de señales no son específicas; al contrario, pueden actuar con cualquier receptor de la familia del TNF y, por intermedio de ellos, enviar sus señales. Estas proteínas pueden actuar como potenciadores de la respuesta celular al TNF mediada por receptores (22, 24).

La cascada de señales puede iniciarse con la interacción de varios miembros de la familia de receptores del TNF, como son el CD14, CD40, Fc o los RTNF (24), junto a factores de transcripción, como son el NF- $\kappa$ B, el API, las proteínas quinasas activadas por mitógenos (MAPK), la quinasa reguladora de señales extracelulares (ERK); la quinasa jun del extremo N-terminal (JNK) y la p38 (23). También participan de esta cascada proteasas y otros miembros conocidos como "proteínas de dominio mortal" (24), las cuales se unen a receptores que activan la apoptosis por la vía de la familia de las caspasas. Estos dominios mortales presentan

una interacción proteína-proteína, causando un efecto apoptótico indistinguible del generado por la interacción Fas-Fas ligando (FasL). Por último, se ha involucrado recientemente un grupo de proteínas denominadas "factores asociados al receptor TNF" (TRAFs), las cuales parecen funcionar como activadores de las proteínas quinasas (24).

### REGULACION DE LA TRANSDUCCION DEL TNF- $\alpha$

Tal como se mencionó anteriormente, una gran variedad de estímulos pueden generar la síntesis del TNF- $\alpha$ , tales como virus, bacterias y citoquinas, entre otros, así como también el mismo TNF- $\alpha$ , que de manera autocrina puede comportarse como un estímulo para potencializar su producción. Estos estímulos ingresan a la célula a través de diferentes receptores, que incluyen a miembros de la superfamilia del TNF y que convergen en señales intracelulares que inician la síntesis de esta citoquina. Entre ellas están la activación de factores de transcripción, como el NF- $\kappa$ B y la vía de las proteínas quinasas activadas por mitógenos (MAP quinasas). Es importante mencionar que estas vías de activación intracelular son inespecíficas y participan tanto en la transcripción del ARNm del TNF- $\alpha$ , como en la transducción de la misma (ver mecanismos efectores del TNF- $\alpha$ ).

### RECEPTORES PARA EL TNF- $\alpha$

La respuesta del TNF- $\alpha$  depende directamente de la unión a sus receptores (Figura 3). Esta citoquina cuenta con dos receptores estructuralmente diferentes, denominados receptor tipo I (TNF-RI; p55 o p60) (Figura 4) y el receptor tipo II (TNF-RII; p80 o p75) (Figura 5). Ambos receptores son glicoproteínas transmembranales y forman parte de los 21 miembros de la familia de receptores TNF. Esta familia se caracteriza por tener múltiples regiones ricas en cisteínas, principalmente a nivel de su dominio extracelular N-terminal, además de la presencia de dominios mortales dentro de su estructura. Estos receptores presentan una alta promiscuidad molecular con respecto a sus ligandos. Los dos receptores para el TNF están presentes en todos los tipos de células, excepto en eritrocitos. Generalmente, la distribución del TNF-RI es mucho más amplia que la del TNF-RII. La expresión del TNF-RI es generalmente constitutiva en muchos tipos de células, mientras que la expresión del TNF-RII se da en forma inducida. Ambos receptores se conocen por mediar en forma cooperativa o independiente un amplio rango de respuestas celulares, como es el caso de proliferación, diferenciación, citotoxicidad o apoptosis celular. Además, se han identificado formas solubles de ambos receptores (sTNF-R)

en fluidos biológicos que parecen afectar de alguna manera la actividad biológica y la biodisponibilidad del TNF- $\alpha$  a nivel sistémico (3, 25).

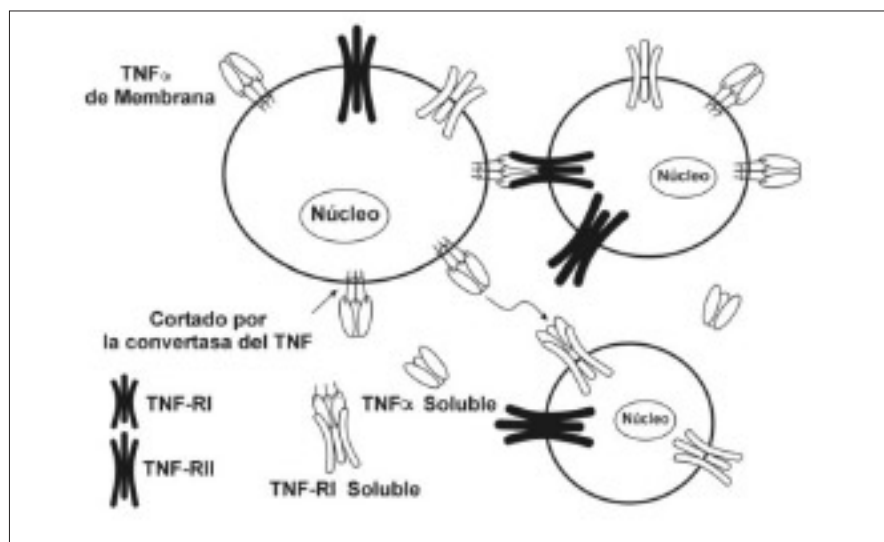
Las funciones y la cinética de los dos receptores para el TNF- $\alpha$  parecen diferir significativamente. Hasta el momento se ha podido establecer que el TNF-RII responde principalmente a la forma transmembranal del TNF, lo que le confiere un papel principal en la respuesta inflamatoria local; sin embargo, la función del TNF-RII es considerada como auxiliar en cuanto al control de la respuesta celular, mientras que el TNF-RI presenta una función dominante en la respuesta celular del TNF. De esta manera se encontró que sólo un estímulo adecuado de ambos receptores es capaz de causar una actividad citotóxica adecuada (26). En cuanto a la cinética de interacción ligando-receptor para el TNF, se encontró que los dos receptores difieren significativamente en cuanto a su afinidad de unión al TNF- $\alpha$ , a pesar de que la unión ligando-receptor se lleva a cabo con una alta afinidad y una rápida cinética de asociación; no obstante, se observa que la unión al TNF-RI es irreversible, mientras que la unión al TNF-RII presenta una asociación muy baja y una cinética bastante rápida (27); esto ha llevado a explicar posibles diferencias en cuanto a la función de los receptores para el TNF- $\alpha$ .

Recientemente se ha planteado la posibilidad de que el TNF-RII pueda comportarse como un “paseador del ligando”, ya que se ha observado que puede ligar el TNF- $\alpha$  y luego pasarlo al TNF-RI para potenciar la unión

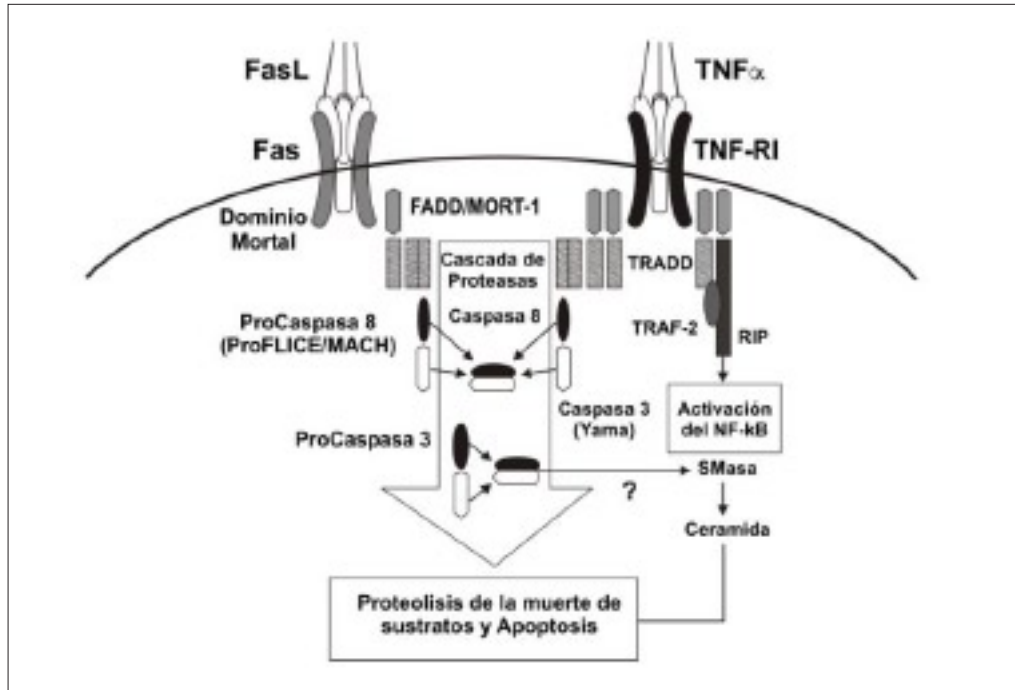
ligando-receptor, y por ende la acción del TNF- $\alpha$ , cuando las concentraciones de éste son muy bajas (3, 25-27).

La actividad *in vivo* e *in vitro* del TNF-RI se ha asociado primordialmente con la respuesta inflamatoria por intermedio del TNF- $\alpha$  soluble (sTNF- $\alpha$ ), bastante mayor que la que se presenta por intermedio del TNF-RII; además, el receptor de p60 participa de forma importante en los procesos apoptóticos, mediados por las señales de dominio mortal, y por la vía de las moléculas Fas-FasL. De otra parte, los dominios intracelulares del TNF-RI se unen a proteínas de interacción con receptores (RIP), que con la ayuda de las proteínas de dominio mortal asociadas al receptor TNF-RI (TRADD) pueden generar una bifurcación en las vías de acción, bien sea hacia apoptosis o hacia la vía de señales proinflamatorias por intermedio del factor NF- $\kappa$ B; asimismo, el TNF-RII también está involucrado en los procesos apoptóticos del TNF- $\alpha$ , aunque por una vía diferente a la del p60, ya que en este caso participan las moléculas TRAF (3).

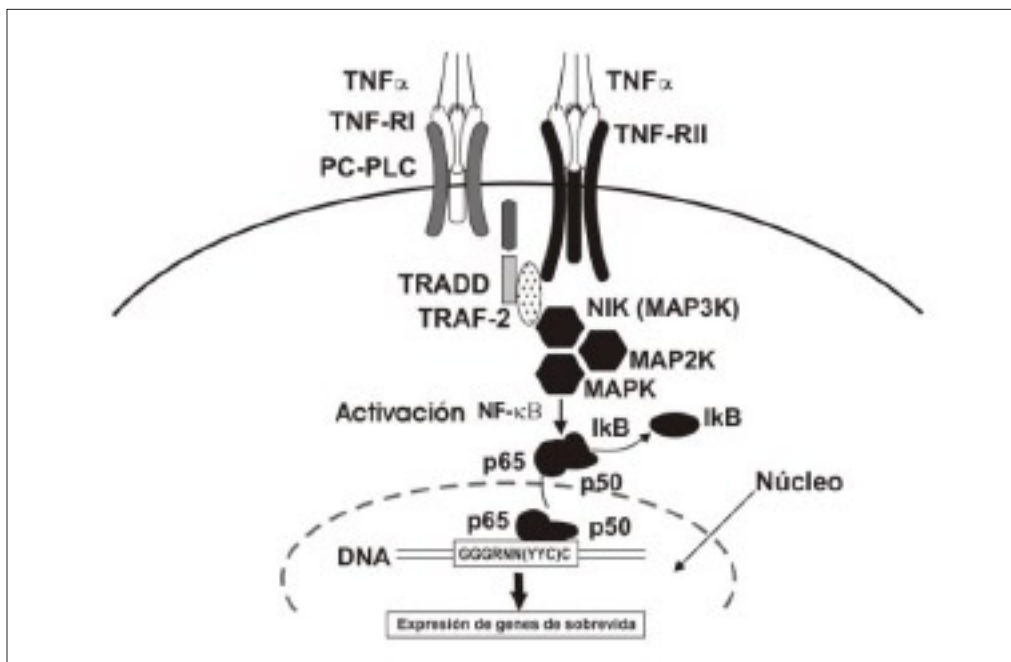
En resumen, la función principal del TNF-RI es la de interactuar con la forma soluble de 17 kD del TNF- $\alpha$  y regular los procesos proinflamatorios y apoptóticos de esta citoquina. El TNF-RII, en cambio, tiene su interacción principal con la forma de membrana del TNF- $\alpha$  (26 kD), cumpliendo un papel clave en la respuesta tisular local, como es el caso de la hepatitis y la artritis reumatoidea; además, este receptor tiene también participación en la unión del sTNF- $\alpha$ , aunque de forma menos significativa, y es el encargado de generar un intercambio de ligando para potenciar la acción del TNF-RI.



**Figura 3. Procesamiento del TNF- $\alpha$  y esquema de sus receptores.** El TNF- $\alpha$  humano es sintetizado como una proteína de 233 aminoácidos, con un peso de 26 kD, la cual está asociada a la membrana celular y presenta actividad biológica. La proteína de membrana es enzimáticamente cortada por la enzima convertasa de TNF- $\alpha$  (TACE), y desintegrada a una proteína soluble de 57 aminoácidos, con un peso de 17 kD, que conforma homotrímeros.



**Figura 4. Cascada de señales intracelulares para el receptor tipo I del TNF- $\alpha$ .** La cascada de señales intracelulares para el TNF-RI es compartida con el complejo Fas/Apo1. La unión del TNF- $\alpha$  homotrímérico al TNF-RI genera el reclutamiento de algunas proteínas de señal intracelular, tales como el TRADD y el TRAF-2. Estas proteínas representan la bifurcación de las señales del TNF-RI: la generación de señales apoptóticas a través de la caspasa-8 y la liberación de las propiedades proinflamatorias de los factores NIK y NF- $\kappa$ b.



**Figura 5. Cascada de señales intracelulares para el receptor tipo II del TNF.** Contrario al TNF-RI, las señales para el TNF-RII no parecen involucrar dominios mortales, ni activación de apoptosis por la vía de las caspasas. Sin embargo, la unión del TNF- $\alpha$  al TNF-RII conduce a la activación de señales dependientes de los factores NIK y NF- $\kappa$ b.

## INTERES DEL ESTUDIO DEL POLIMORFISMO DEL TNF $\alpha$ Y SU RELACION CON EL SISTEMA HLA

Cerca del 60% de las variaciones en los niveles del TNF- $\alpha$  están genéticamente determinadas (1, 2, 4). Dada la ubicación del gen TNF- $\alpha$  dentro del complejo mayor de histocompatibilidad (CMH), el alto polimorfismo de los genes que allí existen y su marcada proximidad a los genes HLA-B y HLA-DR (Figura 2) se ha investigado la posible existencia de haplotipos relevantes que influyan en la expresión del TNF- $\alpha$  (4). El CMH muestra un alto grado de desequilibrio de enlace (ver glosario) entre algunos de sus genes. Tal es el caso del haplotipo ancestral 8.1 (HLA-A1-B8-DR3-DQ2, TNF $\alpha$  A) (28). Este haplotipo está asociado a la predisposición de enfermedades autoinmunes e infecciosas (29). La interacción entre los diferentes genes de este haplotipo puede resultar en una potenciación o epistasis, responsable de las anomalías inmunológicas asociadas a éste, tales como una disminución en la función de linfocitos T, aumento en la síntesis de autoanticuerpos y en la producción de citoquinas proinflamatorias (28-30).

De otra parte, y tal como se ha señalado anteriormente, existen microsátelites dentro del locus TNF- $\alpha$ , segregados de manera independiente y cuyo polimorfismo se ha encontrado asociado a enfermedades autoinmunes, tales como la AR (31). Por lo tanto, el estudio del polimorfismo del TNF- $\alpha$  es importante tanto en enfermedades autoinmunes, infecciosas y crónicas en donde esta citoquina es responsable de la patología.

## FUNCIONES BIOLÓGICAS DEL TNF- $\alpha$

El TNF- $\alpha$  es una citoquina clave por su papel mediador en la respuesta inflamatoria y la respuesta a la injuria o invasión de tejidos por parte de microorganismos como parásitos o microbios; igualmente, es de gran importancia en el control de procesos neoplásicos. Sin embargo, la acción del TNF- $\alpha$  sobre muchos tejidos algunas veces puede generar confusión, dados sus efectos.

Normalmente esta citoquina puede actuar sobre muchos tejidos, como el endotelio vascular, el sistema nervioso central, hígado, pulmón, tejido muscular, sistema cardiovascular, los adipositos, y asimismo generar efectos sobre el sistema endocrino, hematopoyético y tener acción tumoricida.

A nivel del endotelio vascular, el TNF- $\alpha$  presenta una actividad procoagulante que estimula la expresión de factores tisulares y suprime cofactores importantes para la actividad de la proteína C anticoagulante. Además, el TNF- $\alpha$  activa células endoteliales para que produzcan IL-1; asimismo, puede inducir la expresión de moléculas

las HLA-A, B y activa antígenos que participan en la adherencia de leucocitos y plaquetas a la superficie del endotelio. La acción del TNF- $\alpha$  a nivel vascular causa una serie de manifestaciones de toxicidad, generando coagulación difusa, necrosis de órganos vitales, deshidratación y falla pulmonar.

En el sistema nervioso central se han encontrado sólo pequeñas cantidades de TNF- $\alpha$ , que ha podido cruzar la barrera hematoencefálica; sin embargo, es suficiente para que se produzca fiebre, anorexia, ya que actúa sobre la región hipotalámica que regula la temperatura corporal y el apetito; igualmente, durante procesos infecciosos como la meningitis los niveles de TNF- $\alpha$  en el líquido cefalorraquídeo aumentan y se asocian con un mal pronóstico de la enfermedad. De otra parte, la acción inflamatoria del TNF- $\alpha$  parece estar implicada en la formación de placas típicas en los pacientes con esclerosis múltiple. Además, hay producción de esta citoquina a nivel neuronal, principalmente en la región hipotalámica, donde el TNF- $\alpha$  parece funcionar como un neurotransmisor.

De otra parte, el TNF- $\alpha$  sobreexpone la expresión de proteínas de fase aguda en los hepatocitos, generando un incremento de estas proteínas en el suero y suprimiendo la síntesis de albúmina; además, produce las células de Kuffer por sí solo, aunque también induce la producción de algunas citoquinas, como la IL-1 e IL-6, que pueden aumentar la respuesta de fase aguda. El TNF- $\alpha$  actúa como un estimulador directo de la síntesis de lípidos circulantes, favorece la lipogénesis y aumenta la trigliceridemia, además apresura el transporte de aminoácidos en los hepatocitos, acelerando la pérdida de nitrógeno, lo cual puede generar enfermedad.

Al igual que la IL-1, el TNF- $\alpha$  es un poderoso inductor de respuesta inflamatoria, la cual puede mediar directamente o por intermedio de la IL-1 y otras citoquinas proinflamatorias. Así, el TNF- $\alpha$  puede inducir la producción de IL-2, IL4, IL-6, IL-10, IL-1, IL-18 IFN- $\gamma$ , factor de crecimiento y transformación beta (TGF- $\beta$ ), factor inhibidor de la migración (MIF), entre otros. Igualmente, esta citoquina puede estimular la producción de hormonas como el cortisol, la epinefrina, el glucagón, la insulina y la norepinefrina (2, 3).

Los procesos de muerte celular programada o apoptosis también cuentan con la acción del TNF- $\alpha$ ; ese fenómeno ocurre durante la producción sistémica o local del TNF- $\alpha$  en procesos de crecimiento y desarrollo normales; sin embargo, en algunos momentos puede convertirse en una reacción celular patológica inducida por esta citoquina. Igualmente, el proceso de apoptosis mediado por TNF- $\alpha$  tiene un papel importante en la actividad tumoricida que ejerce la citoquina (3)

## PAPEL PATOGENICO DEL TNF- $\alpha$ EN LA AR

Hay suficiente evidencia que sustenta que el TNF es un elemento clave en la patogénesis de AR (32). El tejido sinovial normal no expresa antígenos del TNF- $\alpha$ , pero sí se ha detectado en el suero y líquido sinovial de pacientes con AR. Se ha encontrado expresado en los macrófagos, células endoteliales y en la interfase panus-cartílago. Es el principal factor de crecimiento de los fibroblastos, liberado espontáneamente por las células mononucleares sinoviales encontradas en la sinovial reumatoídea. En las articulaciones inflamadas, el TNF- $\alpha$  tiene una variedad de efectos, que incluyen la activación de los osteoclastos y la estimulación de la adhesión de los neutrófilos a las células endoteliales. Además, induce la producción desde los fibroblastos sinoviales de la IL-6, IL-8, MCP-1, proteína inflamatoria de macrófagos-1a (MIP-1a) y proteína activadora de neutrófilos derivada del epitelio (ENA-78), así como otras citoquinas, IL-1 e IL-18, a través de las cuales ejerce un papel destructor a nivel del cartílago y hueso (33, 34) (Figura 6).

La artritis inducida por colágeno en ratones es acelerada por la inyección de TNF- $\alpha$ , y se caracteriza por la destrucción ósea y del cartílago y por la infiltración de leucocitos. Esto es confirmado por las observaciones de Neidel *et al.* (35), quienes reportaron que los pacientes con AR que presentan destrucción ósea tienen niveles más altos de TNF- $\alpha$  en el líquido sinovial que los pacientes sin destrucción ósea.

La TACE actúa no sólo en la molécula precursora del TNF, sino que también cliva el dominio extracelular del ligando complementario, formando receptores solubles de TNF (sTNFR). Estos sTNFR se pueden unir a los complejos trimoleculares de TNF, dejándolos biológicamente inactivos. Así, los sTNFR actúan como inhibidores naturales de los procesos inflamatorios mediados por TNF. Los dos receptores solubles para el TNF $\alpha$  se encuentran incrementados en el líquido sinovial y en el suero de AR, comparado con pacientes OA; sin embargo, no neutralizan completamente el TNF- $\alpha$  producido por los cultivos de células de las articulaciones de los pacientes AR (36, 37). Estos receptores solubles tienen una media vida extremadamente corta, sólo de segundos o minutos.

Debido a su papel proinflamatorio, se ha considerado que el TNF- $\alpha$  desempeña un papel importante en muchos trastornos inflamatorios crónicos, incluyendo AR, esclerosis múltiple, enfermedad de Crohn, vasculitis sistémica, rechazos a los injertos y la enfermedad de injerto contra huésped, entre otros. Los avances en tecnología de ADN recombinante han permitido el desarrollo de agentes inhibidores del TNF- $\alpha$ , no sólo en modelos de artritis animal, sino en pacientes con AR activa. El éxito de estos agentes en humanos (38) ha dado soporte inequívoco del papel de esta citoquina en la mediación de la inflamación en la AR.

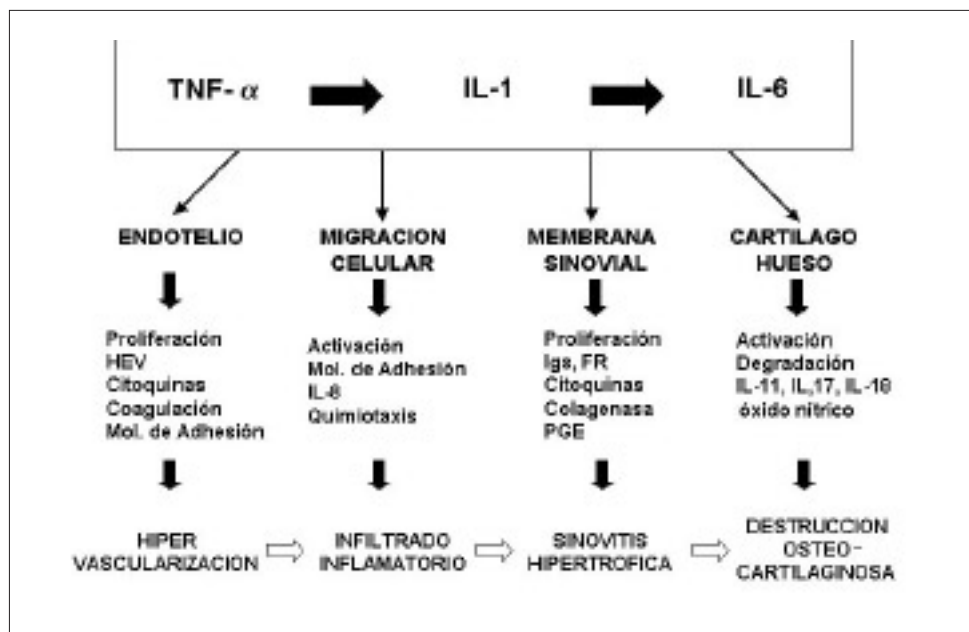


Figura 6. Papel patogénico del TNF $\alpha$  en la AR.



REFERENCIAS

1. Ibelgauts H. Dictionary of cytokines. Ed. 5ª. New York, NY: Editorial VCH, 1995, p. 777.
2. Tracey KJ. Tumor necrosis factor-alpha. En: Thomson A. The cytokine handbook, Ed. 2ª, San Diego C. A. Academic Press; 1994, pp. 289-300.
3. Dinarello CA y Moldawer LL. Proinflammatory and anti-inflammatory cytokines in rheumatoid arthritis. A primer for clinicians. Amgen, Thousand Oaks, CA, USA, 1999.
4. Callard RE y Gearing AJ. The cytokine factsbook. Ed 1ª. New York, NY, Editorial Academic Press Inc., 1994, p. 265.
5. Cornelis LV. Tumor necrosis factor gene polymorphisms as severity markers in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 1999; 58 (Suppl I):120-126.
6. Nedospasov SA, Udalova IA, Kuprash DV, Turetskaya RL. DNA sequence polymorphism at the human tumor necrosis factor (TNF) locus. Numerous TNF/lymphotoxin alleles tagged by two closely linked microsatellites in the upstream region of the lymphotoxin (TNF-beta) gene. *J Immunol* 1991; 147:1053-1059.
7. Udalova IA, Nedospasov SA, Webb GC, Chaplin DD, Turetskaya RL. Highly informative typing of the human TNF locus using six adjacent polymorphic markers. *Genomics* 1993; 16:180-186.
8. Jongeneel CV, Briani L, Udalova IA, Sevin A, Nedospasov SA, Cambon-Thomsen AA. Extensive genetic polymorphism in the human tumor necrosis factor region and relation to extended HLA haplotypes. *Proc Natl Acad Sci* 1991; 88:9717-9721.
9. Gallagher G, Eskadale J, oh HH, Richards S, Campbell DA, Field M. Polymorphism in the TNF gene cluster and MHC serotypes in the West of Scotland. *Immunogenetic* 1997; 45:188-194.
10. Verweij CI. Tumor necrosis factor gene polymorphism as severity markers in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 1999; 58:120-126.
11. D'Alfonso S y Richard PM. An intragenic polymorphism in the human tumor necrosis factor alpha (TNFA) chain-encoding gene. *Immunogenetics* 1996; 44:321-322.
12. Van Krugten MV, Huizinga TWJ, Kaijzel EL et al. Association of the TNF +489 polymorphism with susceptibility and radiographic damage in rheumatoid arthritis. *Genes and Immunity* 1999; 1:91-96.
13. Wilson AG, de Vries N, Pociot F, di Giovine FS, Van der Putte LB, Duff GW. An allelic polymorphism within the human tumor necrosis factor alpha promoter region is strongly associated with HLA-A1, B8 and DR3 alleles. *J Exp Med* 1993; 177:557-560.
14. Herrmann SM, Ricard S, Nicaud V et al. Polymorphism of the tumor necrosis factor-alpha gene, coronary heart disease and obesity. *Eur J Clin Invest* 1998; 28:59-66.
15. Wilson AG, Symons JA, McDowell TL, Mc Devitt HO, Duff GW. Effects of polymorphism in the human tumor necrosis factor alpha promoter on transcriptional activation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94:3195-3199.
16. D'Alfonso S y Ricciardi PM. A polymorphic variation in a putative regulation box of the TNFA promoter region. *Immunogenetics* 1994; 39:150-154.
17. Higuchi T, Seki N, Kamizono S et al. Polymorphism of the 5' flanking region of the human tumor necrosis factor (TNF)-alpha gene in Japanese. *Tissue Antigens* 1998; 51:605-612.
18. Uglialoro AM, Turbay D, Pasavento PA et al. Identification of three new single nucleotide polymorphisms in the human tumor necrosis factor-alpha gene promoter. *Tissue Antigens* 1998; 52:359-365.
19. Wu WS y McClain KL. DNA polymorphism and mutation of the tumor necrosis factor alpha (TNFalpha) promoter in Langerhans cell histiocytosis (LCH). *J Interferon Cytokine Res* 1997; 17:631-635.
20. Hamann A, Mantzoros C, Vidal-Puig A, Filier JS. Genetic variability in the TNF-alpha promoter is not associated with type II diabetes mellitus (NIDDM). *Biochem Biophys Res Comm* 1995; 211:833-839.
21. Zimmerman PA, Guderian RH, Nutman TB. A new TNFA promoter alleles identified in South American Blacks. *Immunogenetics* 1996; 44:485-486.
22. Rigby WF. Introduction to TNF gene regulation, *Memorias del "ACR Basic Science Symposium"*. Octubre 30, 2000: pp. 173-183.
23. Anderson P. Regulation of TNF-alpha expression by mRNA binding proteins. *Memorias del "ACR Basic Science Symposium"*. Octubre 30, 2000: pp. 192-198.
24. Darnay BG y Aggarwal BB. Signal transduction by tumor necrosis factor and tumor necrosis factor related ligands and their receptors. *Ann Rheum Dis* 1999; 58 (Suppl I):12-113.
25. Kollias G, Douni E, Kassiootis G, Kontoyiannis D. The function of tumor necrosis factor and receptors in models of multi-organs inflammation, rheumatoid arthritis, multiple sclerosis and inflammatory bowel disease. *Ann Rheum Dis* 1999; 58 (Suppl I):132-139.
26. Grell M, Douni E, Wajant H et al. The transmembrane form of tumor necrosis factor is the prime activating ligand of the 880 kDa tumor necrosis factor receptor. *Cell* 1995; 83:793-802.
27. Grell M, Wajant H, Zimmermann G, Scheurich P. The type 1 receptor (CD120a) is the high-affinity receptor for soluble tumor necrosis factor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95:570-575.
28. Price P, Witt C, Allcock R et al. The genetic basis for the association of the 8.1 ancestral haplotype (A1, B8, DR3) with multiple immunopathological disease. *Immunological Reviews* 1999; 167:257-274.
29. Lio D, Candore G, Colombo A et al. A genetically determined high setting of TNF-alpha influences immunologic parameters of HLA-B8,DR3 positive subjects: implications for autoimmunity. *Hum Immunol* 2001; 62:705-13.
30. Frankel WN y Schork NJ. Who's afraid of epistasis? *Nature Gen* 1996; 14:371-373.
31. Hajeer AH y Hutchinson IV. Influence of TNFalpha gene polymorphisms on TNFalpha production and disease. *Hum Immunol* 2001; 62:1191-9.
32. Choy EHS y Panayi GS. Cytokine pathways and joint inflammation in rheumatoid arthritis. *New Engl J Med* 2001; 344:907-916.
33. Girasole G, Passeri G, Jilka RL, Manolagas SC. Interleukin-11: a new cytokine critical for osteoclast development. *J Clin Invest* 1994; 93:1516-1524.
34. Gracie JA, Forsey RJ, Chan WL et al. A proinflammatory role for IL-18 in rheumatoid arthritis. *J Clin Invest* 1999; 104:1393-1401.
35. Neidel J, Schulze M, Lindschau J. Association between degree of bone erosion and synovial fluid-levels of tumor necrosis factor a in the knees patients with rheumatoid arthritis. *Inflamm Res* 1995; 44:217-221.
36. Barrera P, Boerbooms AM, Janssen EM et al. Circulating, soluble tumor necrosis factor receptors, interleukin-2 receptors, tumor necrosis factor alpha, and interleukin-6 levels in rheumatoid arthritis. Longitudinal evaluation during methotrexate and azathioprine therapy. *Arthritis Rheum* 1993; 36:1070-1079.
37. Cope AP y Maini NM. Soluble tumor necrosis factor receptors in arthritis. *J Rheumatol* 1995; 22:382-384.
38. Feldmann M y Maini RN. Anti-TNFalpha therapy of rheumatoid arthritis: what have we learned?. *Annu Rev Immunol* 2001; 19:163-196.